

1. O efeito da progesterona na expressão e desenvolvimento da dor neuropática em um modelo experimental em rato

A dor neuropática é acarretada por algum tipo de lesão no sistema somatossensorial e frequentemente o seu tratamento é limitado, visto que a maioria dos pacientes que sofrem deste mal não têm a resposta adequada a analgésicos. Nesta patologia, os esteroides neuroativos parecem ter papel modulador importante. Por exemplo, a progesterona e seus derivados promovem a antinocicepção, além de participarem das diferenças na sensação dolorosa relacionadas ao gênero. Além disso, a progesterona parece reduzir os danos e melhorar a função em modelos animais de doenças neurológicas. O presente estudo buscou saber o efeito da administração sistêmica de progesterona na expressão e desenvolvimento da hiperalgesia e alodinia no modelo animal de dor neuropática CCI (*chronic constriction injury*). Os experimentos foram conduzidos com ratos *Sprague-Dawley* (230-280g), seguindo os guias de ética para a investigação de dor experimental nos animais. O teste para avaliar a nocicepção térmica utilizou calor radiante. Além disso, foram utilizadas também estímulos frios e mecânicos, através da acetona e filamentos de Von Frey, respectivamente. Os testes comportamentais foram feitos nos animais antes da cirurgia e 14 dias após a cirurgia CCI. Para a investigação do efeito da progesterona no desenvolvimento da dor neuropática experimental, foi administrada a progesterona diariamente (10 mg/kg, via intraperitoneal) do primeiro ao 13º dia após a cirurgia. Entretanto, para investigar o efeito deste esteroide na expressão da dor neuropática, a progesterona foi injetada na mesma dose citada anteriormente apenas no 14º dia após a cirurgia. O modelo animal experimental de dor neuropática foi escolhido por apresentar significativo aumento dos escores comportamentais bem definidos de hiperalgesia térmica e também de alodinia mecânica e ao frio. A administração crônica de progesterona reduziu significativamente esses escores, enquanto a administração apenas no 14º dia após a cirurgia não acarretou nenhuma modificação nos escores comportamentais. Por isso, os resultados sugerem que a progesterona parece estar relacionada ao desenvolvimento da dor neuropática experimental e não na expressão, podendo ser um alvo terapêutico para esta patologia futuramente.

Fonte: Hamid Reza Banafshe, Phd of Pharmacology, Pharmacology Department, Kashan University of Medical Sciences; Rasool Mokhtari, Kashan University of Medical Sciences; Azam Mesdaghinia, Kashan University of Medical Sciences; Javad Verdi, Kashan University of Medical Sciences.

2. Rápida atenuação de receptores alfa-2-adrenérgicos: antinocicepção induzida pelo estrógeno em ratos

Diferenças relacionadas ao gênero em dor são bem estabelecidas: as mulheres geralmente sofrem mais de dor e ter uma maior prevalência de vários distúrbios de dor, como disfunção da articulação temporomandibular, fibromialgia e enxaquecas. Os autores deste trabalho já demonstraram que antinocicepção produzida pela ativação seletiva de receptores alfa-2-adrenérgicos é gênero-específica e atenuada por estrógeno em ratos. O uso intratecal de estrógeno, bem como E2BSA, um derivado de estrógeno impermeável à membrana, tem demonstrado atenuar rapidamente a antinocicepção induzida por clonidina (um agonista alfa 2-adrenérgico). Este efeito do estrógeno é provavelmente mediado por receptores de membrana de estrógeno (mER) e pode não requerer alterações genômicas, devido ao seu rápido início. Existem quatro receptores de estrógeno conhecidos – Receptor de estrógeno (ER) nuclear clássico alfa e beta, que atuam como fatores de transcrição, mas também podem ser encontradas na membrana celular produzindo alterações rápidas e não

genômicas, e o recém-descoberto receptor acoplado à proteína G 30 (GPR30) e Gq-coupled Mer (Gq-Mer), ambos receptores de membrana ligados à proteína G, porém a contribuição de cada um destes receptores de estrógeno para o efeito observado ainda não é conhecido. Este estudo investigou se a ativação seletiva de ER alfa, beta, GPR30 ou Gq-Mer atenuou a antinocicepção produzida pela clonidina na medula espinhal de ratos. Clonidina foi aplicada por uma cânula PE10 intratecal em ratos ovariectomizados e os efeitos de PPT, DPN, G1 e STX (ER alfa, beta, GPR30 e Gq-mer agonistas, respectivamente) foram testados na antinocicepção induzida por clonidina pelo teste *tail-flick* (TFL). A clonidina aumentou o tempo de latência TFL e pode-se observar que PPT, DPN e G1 individualmente ou em combinação de PPT + DPN, PPT + DPN + G1 não conseguiram alterar significativamente o efeito induzido por clonidina no TFL. Curiosamente, a administração intratecal de STX, rapidamente, de forma significativa e dose-dependente, conseguiu atenuar este efeito. ICI 182780, um antagonista de receptor de estrógeno que bloqueia todos os ERs conhecidos, atenuou significativamente o efeito de E2BSA bem como o STX e restaurou o aumento induzido por clonidina em TFL. Anisomicina intratecal (um inibidor da biossíntese de proteínas) não conseguiu alterar o efeito de STX, o que confirmou que as alterações genômicas não fundamentam este efeito. Os resultados sugerem que Gq-mer mediado por estrógeno, induz rápida atenuação de antinocicepção mediada por clonidina e que ER alfa, beta e G1 podem não contribuir para este efeito. Estas descobertas permitirão uma melhor compreensão dos mecanismos subjacentes à modulação estrogênica de receptores alfa-2-adrenérgicos mediando antinocicepção e pode ajudar na descoberta de melhores analgésicos para cada gênero.

Fonte: Rapid attenuation of alpha-2-adrenoceptor-induced antinociception by estrogen in the rat: A Gq-coupled membrane estrogen receptor mediates this effect. Subodh Nag, Sukhbir S. Mokha, Meharry Medical Coll., Nashville, USA

[3. NCX 1404 reverte o desenvolvimento da alodínia mecânica em camundongos diabéticos tratados com estreptozotocina](#)

A via de sinalização do óxido nítrico aumenta a atividade anti-alodínica da pregabalina, uma droga anti-alodínica bem conhecida, em modelos de neuropatia experimental. NCX 1404 é um novo composto que consiste em uma pregabalina doadora de óxido nítrico, facilmente absorvido e metabolizado *in vivo* liberando pregabalina e NO. Logo, o presente estudo teve como objetivo, comparar a atividade anti-alodínica de NCX 1404 com o de pregabalina seguido do esquema de tratamento agudo e tratamentos repetidos em modelo de neuropatia diabética induzida pela injeção de estreptozotocina (STZ - 200 mg/kg i.p.) em camundongos. A avaliação do limiar nociceptivo foi determinada pelo monitoramento do limiar de retirada da pata (PWT) durante 180 minutos após o tratamento com veículo ou droga por via oral. As medidas também foram realizadas 1, 2 e 3 semanas após dose diária repetida por via oral imediatamente antes do respectivo desafio diário (condição livre de droga) para dissecar os efeitos potenciais dos compostos em teste sobre o desenvolvimento e manutenção do comportamento alodínico. NCX 1404 apresentou efeitos dose-dependente similar à pregabalina seguido de um desafio agudo. Entretanto, NCX 1404 quando administrado uma vez ao dia durante três semanas consecutivas em animais tratados com STZ, a alodinia mecânica foi significativamente revertida, indicado pelo aumento do limiar 1, 2 e 3 semanas após o tratamento inicial (PWT 3ª semana - 1.2±0.1 g, 1.4±0.1 g, 2.7±0.2 g, respectivamente para veículo, pregabalina e NCX 1404).

Por fim, NCX 1404 representa um novo protótipo interessante que, em virtude de suas propriedades doadoras de óxido nítrico, dificulta o desenvolvimento e manutenção da alodinia mecânica induzida pela STZ. Contudo, estudos adicionais são necessários para avaliar se esses efeitos são mantidos em outros modelos experimentais, assim como em humanos.

Fontes: Francesco Impagnatiello, Nicox Research Institute; Fabrizio Vincenzi, Department of Clinical and Experimental Medicine, University of Ferrara; Marina Targa, Department of Clinical and Experimental Medicine, University of Ferrara; Nicoletta Almirante, Nicox Research Institute; Katia Varani, Department of Clinical and Experimental Medicine, University of Ferrara; Ennio Ongini, Nicox Research Institute; Pier Andrea Borea, Department of Clinical and Experimental Medicine, University of Ferrara.

4. Controle sensorio de mecanorreceptores A β de baixo limiar por neurônios da medula espinal através de receptores opioides delta

Os neurônios sensoriais do gânglio da raiz dorsal (DRG) são heterogêneos, a fim de responder a uma variedade de estímulos ambientais (por exemplo, o calor nocivo ou leve toque) e transmitir a informação somatossensorial aos neurônios da coluna vertebral. Os opioides aliviam a dor, em parte, ao atuar sobre os neurônios do DRG, mas a identidade exata das células em que a atividade é regulada por opioides permanece obscura. Determinou-se a identidade molecular de neurônios do DRG que expressam receptores opioides e testou-se a hipótese de que o receptor opioide delta (DOR) controla os dados sensoriais de mecanorreceptores A β de baixo limiar para os neurônios da espinal medula.

Uma combinação de manipulação genética, abordagens neuroanatômicas e eletrofisiológicas foi utilizada. Primeiro camundongos sofreram knockout de um receptor DOR^{GFP} e uma panóplia de marcadores de populações distintas de neurônios do DRG para localizar DOR no DRG e na pele por imuno-histoquímica. A seguir, foi realizada *whole cell patch clamp recording* em fatias de medula espinal para investigar o efeito de agonistas opioides na transmissão sináptica entre DRG e de neurônios medulares do corno dorsal.

DOR's são expressos por diversas populações de mecanonociceptores, bem como em por mecanorreceptores A β de baixo limiar coexpressando Ret e TrkC que inervam órgãos da sensação de toque na pele. Em contraste, o receptor opioide μ (MOR) é predominantemente expresso por termonociceptores, bem como por uma pequena população de mecanonociceptores putativos AM em que MOR e DOR são colocalizados na membrana plasmática. Fatias de medula espinal de camundongos selvagens apresentaram depressão da entrada sináptica em neurônios A β das lâminas III-V da coluna vertebral induzida pelo agonista DOR deltorfina, de acordo com os achados anatômicos.

Em conjunto os resultados indicam que a função do sistema opioide no sistema somatossensorio não se restringe à regulação de estímulos nociceptivos para a medula espinal, mas também inclui o controle da informação táctil, proporcionando assim uma base racional para a terapêutica focada em DOR em situações clínicas de dor resultante de disfunção em mecanorreceptores de baixo limiar A β .

Fonte: Grégory Scherrer, da Universidade de Columbia; Rita Bardoni, da Universidade de Modena e Reggio Emilia; Papiya Choudhury, Columbia University; Brigitte L. Kieffer, IGBMC / CNRS / Inserm / UDS; Allan I. Basbaum, da Universidade da Califórnia em San Francisco; Amy B. MacDermott, Universidade de Columbia.

5. Caracterização da neuralgia pós-herpética em camundongos com mutação para o receptor NMDA

A neuralgia pós-herpética é uma dor que persiste após o desaparecimento de lesões cutâneas oriundas do Herpes Zoster. Estudos tem demonstrado o envolvimento de receptores NMDA na dor pós-herpética, entretanto, o mecanismo neural e de indução e manutenção permanecem não esclarecidos. A fosforilação da tirosina presente na subunidade NR2B do receptor NMDA é uma das mais abundantes no cérebro. Animais que receberam o vírus de Herpes Zoster em patas apresentaram dor prolongada. Desse modo, para elucidar o papel da tirosina (Tyr1472) fosforilada da subunidade NR2B na dor pós-herpética foram utilizados animais onde o domínio Tyr1472 foi alterado para fenilalanina

(Y1472F-KI). Um dia após a inoculação, a dor herpética aguda foi observada em mais de 80% dos animais selvagens e Y1472F-KI. Porém, após 35 dias a intensidade da dor foi reduzida nos animais Y1472F-KI quando comparados aos animais selvagens. O aparecimento de neurite foi menos estimulado e a toxicidade por glutamato foi menor em células de cultura de gânglio da raiz dorsal de Y1472F-KI quando comparado aos animais selvagens. Diante disso, o presente estudo sugere que a subunidade NR2B do receptor NMDA está envolvida no desenvolvimento da dor pós-herpética e que o dano no nervo está correlacionado com a incidência da dor durante a fase aguda dessa doença.

Fonte: Seiji Ito, MD & PhD, Medical Chemistry, Kansai Medical University; Atsushi Sasaki, PhD, Applied Pharmacology, University of Toyama, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences; Sawako Unezaki, PhD, Medical Chemistry, Kansai Medical University; Tsugunobu Andoh, PhD, Applied Pharmacology, University of Toyama, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences; Shinji Matsumura, PhD, Medical Chemistry, Kansai Medical University; Tayo Katano, PhD, Medical Chemistry, Kansai Medical University; Naoko Nishio, Pain Research Center, Kansai University of Health Sciences; Terumasa Nakatsuka, MD & PhD, Pain Research Center, Kansai University of Health Sciences; Yasushi Kuraishi, PhD, Applied Pharmacology, University of Toyama, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences; Toshiaki Minami, MD & PhD, Anesthesiology, Osaka Medical College

6. Caracterização tempo-dependente da reatividade de micróglia no modelo de dor neuropática por lesão

A micróglia é um tipo de célula da glia que representa os macrófagos do sistema nervoso central e da medula espinal, isto é, estão relacionadas a resposta imunológica. Após uma lesão em um nervo periférico, tais células reagem na medula e participam do desencadeamento da dor neuropática. Pesquisadores do *Centro Hospitalar Universitário Vaudois* investigaram a regulação transicional de um grupo determinado de genes depois de uma lesão limitada de nervo. Tal seleção de genes foi baseada em biomarcadores fenotípicos potenciais (de macrófagos pró-inflamatórios, anti-inflamatórios ou de cicatrização) na tentativa de relacionar teorias sobre o diferencial de macrófagos. O método utilizado inclui a quantificação da transcrição de dois marcadores comuns de reatividade de micróglia – Iba1 e CD11b – em períodos distintos e determinados de tempo após a lesão limitada do nervo no corno dorsal da medula espinal de ratos. Os resultados obtidos demonstraram, em todos os dias avaliados após a lesão, um aumento na expressão dos marcadores avaliados, observando diferentes manifestações ao longo do período determinado. Uma importante manifestação foi a regulação positiva – elevada e mantida – de componentes do complemento após a lesão e ao longo de todo tempo de estudo. Dentre os TLRs (*toll like receptors*), a maior expressão foi do TLR1, contrariamente a estudos prévios que, nesse modelo de dor, demonstraram expressão aumentada de TLR2 e TLR4. As constatações podem refletir a existência de uma mudança fenotípica dependente do tempo, como a indução de citocinas e quimionas pró-inflamatórias no início e interleucinas anti-inflamatórias (IL-10, por exemplo) ao final. O aumento da expressão de TLR1, já descrita após a lesão de um nervo, nunca havia sido demonstrado no sistema nervoso central.

Fonte: Nicolas Piller, physician, Pain Center, Department of Anesthesiology, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois; Isabelle Decosterd, MD, Pain Center, Department of Anesthesiology, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois; Marc R. Suter, MD, Pain Center, Department of Anesthesiology, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois.

7. Prostaglandinas contribuem para mecanismos operados por receptor de cinina B2 durante neuropatia induzida por ligadura do nervo espinal em ratos

Werner e outros pesquisadores das Universidades Federais do Paraná, do Rio Grande do Norte e de Santa Catarina e da Universidade de Ferrara, em recente estudo, analisaram em ratos com ligadura de nervo espinal (LNE), 1) a localização de receptores de cinina B2 (B2R) em gânglios da raiz dorsal (GRDs) de nervos L4 e L5L6 de ratos por coloração imunohistoquímica e 2) as respostas funcionais à bradicinina de células L4 e L5L6 nos GRDs, em cultura, utilizando indicador de cálcio (Fura-2AM).

Demonstrou-se por microscopia de fluorescência confocal que receptores B2 imunorreativos (B2R-IR) foram comarcados com fibras C não peptidérgicas, e fibras mielinizadas do tipo A, nos GRDs de nervos L4 e L5L6 de ratos controles (sham operados) e nos GRDs de nervos L4 intactos nos ratos com LNE. No entanto, em GRDs de L5L6 de ratos com LNE, B2R-IR em fibras C IB4 (isolectina B4) imunorreativas foram significativamente diminuídos, enquanto B2R-IR foram predominantemente co-localizados com os neurônios do GRDs NF-200 (neurofilamento 200) imunorreativos. Além disso, nenhum B2R-IR foi observado em células gliais dos GRDs GFAP (proteína glial fibrilar ácida) imunorreativos de qualquer um dos grupos estudados. Em neurônios nos GRDs de L5L6, em cultura, a bradicinina induziu aumento da concentração de cálcio intracelular ($[Ca^{2+}]_i$) tanto de ratos controles, quanto de ratos com SNL, sendo que nestes últimos tal aumento foi duas vezes maior que nos primeiros. O uso de antagonista seletivo de B2R atenuou o aumento de $[Ca^{2+}]_i$, mas o uso de antagonista seletivo de B1R não provocou mudanças. Além disso, o aumento de $[Ca^{2+}]_i$ evocado pela bradicinina, em ratos com SNL em GRDs de L5L6, foi insensível a antagonistas de canais TRP, inclusive à capsazepina, antagonista de canais TRPV1. Ainda, incubação prévia com indometacina (inibidor não seletivo de COX) reduziu o aumento de $[Ca^{2+}]_i$ pela bradicinina em neurônios nos GRDs de L5L6 em ratos com SNL.

Segundo os autores, os resultados demonstram que LNE modifica a expressão e a funcionalidade de B2R em neurônios lesionados dos GRD L5L6, de modo que eles são expressos em maior grau em fibras A e mais responsivos a bradicinina, através de um mecanismo que envolve sensibilidade seletiva por prostaglandinas, mas não exige a ativação de B1R ou membros da família de receptores de TRP, supondo que tal mecanismo pode ser a base de mecanismos operados por B2R que sustentam os estados de hipersensibilidade associados à neuropatia induzida por LNE.

Fonte: Maria Fernanda P. Werner¹; Célia R. Franco¹; Eunice Andre²; Barbara Campi³; Pierangelo Geppetti³; Giles A. Rae⁴. 1. Universidade Federal do Paraná; 2. Universidade Federal do Rio Grande do Norte; 3. Universidade de Ferrara; 4. Universidade Federal de Santa Catarina.

8. NADPH 4 oxidase contribui essencialmente para processamento da dor neuropática após lesão de nervo periférico

Evidências indicam que as espécies reativas de oxigênio (ROS), tais como íon superóxido ou peróxido de hidrogênio contribuem para processamento nociceptivo durante a dor persistente. Por exemplo, a administração de agentes de depleção de ROS reduz de maneira eficaz o comportamento nociceptivo em diferentes modelos animais de dor. No entanto, as fontes primárias de produção de ROS e como ROS contribuem para processamento nociceptivo ainda são mal compreendidos. A família de NADPH oxidases é uma fonte importante da produção de ROS em diferentes tecidos, incluindo o sistema nervoso central. Este trabalho investigou se a isoforma Nox4 está envolvida no processamento nociceptivo.

Camundongos deficientes para Nox4 e camundongos onde esta deficiência pode ser induzida por tamoxifeno foram usados. Imuno-histoquímica foi utilizada para investigar a expressão Nox4 em modelos de hiperalgesia induzida por zimosan e comportamento nociceptivo neuropático induzido por lesão de nervo periférico foram utilizados.



Nox4 é expresso em um subconjunto de neurônios do gânglio da raiz dorsal. O comportamento nociceptivo neuropático induzido por lesão de nervo periférico foi atenuada em camundongos deficientes para Nox4. Além disso, o comportamento da dor neuropática persistente foi reduzido após a indução por tamoxifeno da exclusão de Nox4 em camundongos transgênicos adultos, indicando que Nox4 contribui essencialmente para a dor de sinalização após a lesão do nervo periférico.

Estes resultados sugerem que Nox4 pode ser uma opção para o tratamento da dor.

Fonte: Wiebke Kallenborn-Gerhardt, Goethe-University, Instituto de Farmacologia Clínica; Katrin Schroeder, Goethe-University, Instituto de Fisiologia Cardiovascular; Domenico Del Turco, Goethe-University, Instituto de Neuroanatomia Clínica; Ruirui Lu, Goethe-University, Instituto de Farmacologia Clínica, Katharina Kynast, Goethe-University, Instituto de Farmacologia Clínica; Ellen Niederberger, Goethe-University, Instituto de Farmacologia Clínica; Ralf P. Brandes, Goethe-University, Instituto de Fisiologia Cardiovascular; Gerd Geisslinger, Goethe-University, Instituto de Farmacologia Clínica, Achim Schmidtke, Instituto de Farmacologia Clínica