

Divulgação Científica

1. Atenção corredores: dores na sola dos pés, alerta ligado para Fascite Plantar

A síndrome dolorosa subcalcânea, mais conhecida como fascite plantar ou esporão do calcâneo, constitui um problema ortopédico bastante comum e afeta principalmente homens entre 40 e 70 anos. A fascite plantar acomete também atletas, especialmente corredores.

A causa exata dessa síndrome é desconhecida. Entretanto, vários fatores podem estar envolvidos: inflamação da fásia plantar provocada por evento traumático que envolva forças de tração ou cisalhamento, avulsão da fásia plantar, fratura de estresse do calcâneo, neuropatia compressiva dos nervos plantares, esporão plantar do calcâneo e atrofia senil do coxim gorduroso plantar (o "amortecedor" localizado nas solas dos pés entre a pele e os ossos).

Com certeza uma das lesões mais difíceis de tratar, a fascite plantar pode ser evitada com um treinamento adequado à capacidade física do atleta, ou seja, com baixo impacto e com frequência equilibrada na corrida – evitando aumentos bruscos de velocidade. Segundo tratamentos fisioterapêuticos é possível o tratamento evitando impacto e monitorando o ritmo do exercício.

A recomendação é de que se a lesão já aconteceu, o primeiro e mais importante passo é o repouso. Segundo o fisioterapeuta André Nogueira, sócio fundador da Club fisio, "retirar o fator que agride a fásia, gerando dor, é essencial". É preciso verificar, também, o fator causal. Se a causa for o alto impacto, é preciso diminuí-lo, já se for treinamento inadequado, é necessário corrigir o treinamento. "O tratamento é individual. Cada caso é um caso e é preciso identificar a causa para poder atacar de uma forma mais efetiva o problema.

Dicas úteis para o tratamento da fascite plantar podem ser:

- Aplicar uma compressa de gelo por 15 minutos na sola dos pés, cerca de 2 vezes ao dia;
- Utilizar uma palmilha indicada pelo ortopedista ou fisioterapeuta;
- Fazer um alongamento da planta do pé e do músculo da "batata da perna", permanecendo sob uma superfície levemente inclinada, como a subida de uma rampa, por exemplo. O alongamento é bem feito quando se sente a "batata" da perna esticando. Deve-se manter este posicionamento por pelo menos 1 minuto, por 3 a 4 vezes seguidas;
- Utilizar calçados confortáveis que apoiem adequadamente os pés, evitando o uso de tênis e chinelos. Em caso de atletas maratonistas esta lesão é muito comum e durante o tratamento é preciso parar os treinos para uma abordagem mais assertiva.

Referência e fonte:

- Ferreira Ricardo Cardenuto. Talalgias: fascite plantar. Rev. bras. ortop. [Internet]. 2014; 49(3): 213-217;
- <http://gorunning.com.br/fascite-plantar-corra-desse-problema/>

Alerta submetido em 14/03/2016 e aceito em 22/03/2016.

2. Lei proíbe prescrições manuscritas para combater o abuso e dependência de opioides

O tratamento da dor crônica com opioides é um assunto de muitos debates e controvérsias, principalmente por levantar questões sobre abuso e dependência. Os americanos estão entre os maiores usuários mundiais de opioides e de acordo com o Departamento de Saúde do Estado de New York, o número de prescrições emitidas para substâncias controladas entre 2013 e 2014 (27 milhões) foi maior do que o número de residentes no estado (20 milhões), e as mortes relacionadas com opioides subiram acentuadamente na última década. Já no

Brasil, segundo o último Levantamento Domiciliar sobre o Uso de Drogas Psicotrópicas (2005), realizado pelo Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas, demonstrou que 1,3% da população faz uso de opioides. Estudos como o de Baltieri (2004) evidencia que o uso problemático de opioides no Brasil tem a prevalência relativamente baixa e chega a ser considerada nula, porém é importante que essa questão seja melhor elucidada.

A fim de combater a problemática levantada pelo Departamento de Saúde do Estado de Nova Iorque, uma lei estadual que proíbe as prescrições manuscritas e obriga os médicos do referido estado a emitir prescrições digitais entrou em vigor em 27 de março de 2013. Um dos resultados esperados foi a redução de erros e fraudes, já que os pacientes não poderão modificar as notas do médico antes de ir a uma farmácia. Além da proibição da prescrição manuscrita, houve também a criação de um registro digital do paciente que os médicos devem consultar antes de prescrever substâncias controladas.

Embora a iniciativa tenha sido inovadora, nem todos os médicos estavam preparados para emitir prescrições eletrônicas, caracterizando assim uma transição dificultada. Mesmo diante das dificuldades de transição, estratégias para combater o abuso e a dependência de opioides são essenciais. Cabe ressaltar que o cenário brasileiro sobre a prescrição de opioides é bem diferente da realidade americana, visto que em alguns casos a própria dor é negligenciada e subtratada.

Referências:

- Associação Brasileira de Psiquiatria. Sociedade Brasileira de Patologia Clínica e Medicina Laboratorial. Sociedade Brasileira de Medicina de Família e Comunidade. Abuso e Dependência dos Opioides e Opiáceo. Projeto Diretriz, 2012. Acesso em: 13 de abril de 2016;
- Baltieri Danilo Antonio, Strain Eric C, Dias João Carlos, Scivoletto Sandra, Malbergier André, Nicastrí Sérgio et al . Diretrizes para o tratamento de pacientes com síndrome de dependência de opióides no Brasil. Rev. Bras. Psiquiatr. [Internet]. 2004; 26(4): 259-269;
- Galduróz José Carlos F., Noto Ana Regina, Nappo Solange A., Carlini E.A. Uso de drogas psicotrópicas no Brasil: pesquisa domiciliar envolvendo as 107 maiores cidades do país - 2001. Rev. Latino-Am. Enfermagem [Internet]. 2005; 13(spe): 888-895;
- Toor, A. New York turns to digital prescriptions to combat opioid abuse. The Verge, 2016. [Internet] Disponível em: <http://www.theverge.com/2016/3/16/11243904/new-york-digital-prescriptions-opioid-abuse> . Acesso em: 13 de abril de 2016.

Alerta submetido em 17/03/2016 e aceito em 22/03/2016.

3. Dor crônica nos cuidados primários de HIV

A combinação de antirretrovirais tem proporcionado aos pacientes com HIV uma maior sobrevida, evidenciando que esta doença crônica que necessita de uma abordagem médica de equipe para fins de se obter uma redução na morbidade e mortalidade.

Visando essa redução na morbidade e observando o aumento de diagnósticos de dor crônica em pacientes com HIV, nota-se a necessidade de se ter um serviço de saúde relacionado à dor, já que este ainda não foi integrado aos cuidados primários. Neste sentido, foi realizado um estudo com o objetivo de caracterizar a dor crônica e os serviços de saúde relacionados a ela. Os resultados definem patologias degenerativas músculo-esqueléticas como as mais prevalentes, descrevem o contexto biopsicosocial em que ocorrem e demonstra a associação com os recursos de cuidados de saúde quando eles ocorrem.

Estes resultados apoiariam e orientariam a inclusão de serviços de gestão de dor como parte do modelo abrangente de cuidados ao HIV.

Essa integração poderia reduzir os custos com internações, emergências, radiologias, e diversos outros serviços hospitalares.

Referência: Jocelyn M. Jiao, Eric So, Jebakaran Jebakumar, Mary Catherine George, David M. Simpson, Jessica Robinson-Papp. Chronic pain disorders in HIV primary care: clinical characteristics and association with healthcare utilization. *Pain*. 2016, 157, p. 931-937.

Alerta submetido em 05/04/2016 e aceito em 05/04/2016.

4. Dispositivos sem fio implantados em animais podem ser ativados e bloquear os sinais de dor

Pesquisadores da Universidade de Washington (Gereau Lab/Washington University) desenvolveram dispositivos sem fio, que quando implantados em animais são ativados e acendem (MICROLED), ativando células nervosas periféricas em camundongos. Estes dispositivos estão sendo desenvolvidos e estudados por pesquisadores da *Washington University School of Medicine de St. Louis (USA)* e também por pesquisadores da *University of Illinois, de Urbana-Champaign (USA)*, como um tratamento potencial para a dor, em casos que não respondem a outras terapias.

Com base na tecnologia sem fio (wireless), que tem o potencial de interferir com a dor, os cientistas desenvolveram dispositivos de implantes flexíveis que podem ser ativados e, em teoria, bloquear os sinais de dor no corpo e na medula espinal, antes que estes sinais atinjam o cérebro.

Os pesquisadores realizaram experimentos com camundongos geneticamente modificados para expressarem proteínas sensíveis à luz em algumas de suas células nervosas. Para demonstrar que os implantes poderiam influenciar a via da dor em células nervosas, os investigadores associaram uma resposta de dor com luz. Quando os camundongos atravessavam uma área específica de um labirinto, os dispositivos implantados "acendiam" e faziam com que os camundongos sentissem desconforto/dor. Ao deixar essa parte do labirinto, os dispositivos eram desligados, e o desconforto/dor desaparecia. Como resultado, os animais aprenderam rapidamente a evitar a referida parte do labirinto.

Uma vez que os novos dispositivos são macios e flexíveis, podem ser implantados em partes do corpo que se movem e são mantidos no lugar com suturas. Os dispositivos anteriormente desenvolvidos pelos cientistas eram ancorados aos ossos. Entretanto, quando se estuda neurônios da medula espinal ou de outras áreas fora do sistema nervoso central, há necessidade de implantes flexíveis que não necessitem de ancoragem. Como os modelos anteriores, eles contêm luzes MICROLED que podem ativar células nervosas específicas.

Os pesquisadores das universidades citadas acima disseram que os implantes poderão ser usados em diferentes partes do corpo para combater à dor em situações em que outras terapias não foram efetivas.

Referência: Park SI, Brenner DS, Shin G, Morgan CD, Copits BA, Chung HU2, Pullen MY, Noh KN, Davidson S, Oh SJ4, Yoon J, Jang KI, Saminen VK, Norman M, Grajales-Reyes JG, Vogt SK, Sundaram SS, Wilson KM, Ha JS, Xu R, Pan T, Kim TI, Huang Y, Montana MC, Golden JP, Bruchas MR, Gereau RW 4th, Rogers JA. Soft, stretchable, fully implantable miniaturized optoelectronic systems for wireless optogenetics. *Nat Biotechnol*. 2015; 33(12):1280-1286.

Alerta submetido em 07/04/2016 e aceito em 12/04/2016.

5. Anti-inflamatórios não esteroidais podem estar relacionados com ataque cardíaco e risco de derrame

Uma preocupação no mundo inteiro é a venda livre de alguns medicamentos que com uso indevido podem provocar efeitos adversos graves. O FDA, agência americana de controle de drogas, tem sido incisivo nos alertas nos problemas que podem ser causados pelo uso indevido de medicamentos de venda livre, os chamados de *over-the-counter* (OTC), aqueles de acesso livre, comprados sem prescrição médica.

Grande parte dos OTCs são utilizados para alívio da dor e febre, como os da classe dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), também utilizados para alívio da artrite, osteoartrite, dor de cabeça, dores musculares, dor nas costas, dor de dente, tendinite, cólicas menstruais, gota e outras condições dolorosas. Além disso, os AINEs estão presentes em combinações de medicamentos, como em antigripais.

Altas doses desses medicamentos, por exemplo, naproxeno e ibuprofeno, têm sido relacionadas ao aumento da incidência de ataque cardíaco e acidente vascular cerebral (AVC), podendo levar até ao óbito. Esse risco parece aumentar já nos primeiros dias de uso dos AINEs e aumenta o risco diretamente proporcional ao tempo de uso dessa classe de medicamentos. Esses riscos parecem não estar associados ao uso do ácido acetilsalicílico, o princípio ativo da Aspirina, o mais antigo AINE. O FDA tem solicitado às indústrias desses medicamentos que insira esse risco na bula desses medicamentos.

Assim, particularmente aqueles pacientes que possuem doenças cardiovasculares, aqueles que tiveram recentemente um ataque cardíaco ou passaram por cirurgia de implantação de marcapasso necessitam de cuidado ainda maior quanto ao uso de AINEs. Lembrando que o risco de eventos cardiovasculares e morte não são apenas para esses pacientes, mas também aqueles que não têm histórico de doença cardiovascular. Conseqüentemente, o uso de AINEs deve ser restrito, no menor tempo de tratamento possível.

O ideal é que pessoas com doenças cardiovasculares consultem um profissional de saúde antes do uso de um AINE, para que sejam avaliados os riscos e benefícios. É importante ressaltar que os fatores de risco para doenças cardiovasculares devem ser reduzidos, como cigarro, taxas altas de colesterol, pressão arterial elevada, diabetes, obesidade.

O uso de qualquer medicamento oferece riscos. Por isso, devem ser utilizados de maneira racional, sempre consultando profissional de saúde indicado e adequado.

Referência: Rosen E, Tsesis I, Vered M. U.S. Food and Drug Administration (FDA) strengthens warning that non-aspirin non steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) can cause myocardial infarctions or strokes: the dentists perspective. Refuat Hapeh Vehashinayim (1993). 2015; 32(4):6-10, 25.

Alerta submetido em 21/03/2016 e aceito em 22/03/2016.

Ciência e Tecnologia

6. A neuropatia do trigêmeo é mediada pela ativação de receptores TRPA1

Este estudo demonstra pela primeira vez o envolvimento do receptor TRPA1 em um modelo de dor do trigêmeo, identificando como seus possíveis ativadores endógenos o peróxido de hidrogênio e 4-hidroxinonenal.

É um estudo pré-clínico, com a parte experimental desenvolvida em camundongos expostos a um modelo de constrição do nervo infraorbital. O nervo infraorbital é uma continuação do nervo maxilar, um ramo do trigêmeo. A neuropatia do trigêmeo diz respeito à dor crônica resultante de uma lesão que atinge um dos ramos do trigêmeo. Neste sentido, a constrição do nervo infraorbital é um modelo animal de neuropatia do trigêmeo padronizado para ratos e camundongos, bem aceito e utilizado na literatura, e permite a avaliação de parâmetros nociceptivos.

Trevisan et al. demonstram que, após a lesão do nervo infraorbital, macrófagos e monócitos migram até o sítio da lesão, liberando subprodutos decorrentes de estresse oxidativo como peróxido de hidrogênio e 4-hidroxinonenal. Estes subprodutos levariam à ativação dos receptores TRPA1, processo já bem descrito como importante para o desenvolvimento de alguns tipos de dores. O trabalho utiliza animais com deleção gênica do receptor TRPA1, além de ferramentas farmacológicas, como antagonistas do receptor, para testar sua hipótese. A avaliação de nocicepção é feita pela utilização de diferentes testes, e abrange o uso de estímulos térmicos, químicos e mecânicos. Os níveis de peróxido de hidrogênio, assim

como a atividade da enzima superóxido dismutase foram observados nos diferentes grupos experimentais. A presença de monócitos e macrófagos foi confirmada por imunofluorescência, através do uso de anticorpos específicos. Ainda, foi realizada a depleção de macrófagos facilitando a análise do papel destas células na produção dos subprodutos do estresse oxidativo e desenvolvimento de dor decorrentes da neuropatia do trigêmeo.

Para os mais interessados vale a pena a leitura do trabalho na íntegra...

Referência: Trevisan G, Benemei S, Materazzi S, De Logu F, De Siena G, Fusi C, Fortes Rossato M, Coppi E, Marone IM, Ferreira J, Geppetti P, Nassini R. TRPA1 mediates trigeminal neuropathic pain in mice downstream of monocytes/macrophages and oxidative stress. *Brain*. 2016. pii: aww038. [Epub ahead of print]

Alerta submetido em 07/04/2016 e aceito em 12/04/2016.

[7. Análise de transcriptoma de alta resolução revela expressão de genes característicos da dor neuropática na microglia espinal após lesão nervosa](#)

A dor neuropática é um problema de saúde global, caracterizada por alta hipersensibilidade à dor e dores espontâneas, influenciando consideravelmente a qualidade de vida de seus portadores.

Acredita-se que a dor neuropática seja regulada por reações imunes de células residentes da medula espinal, principalmente pela micróglia e astrócitos residentes. Destaca-se que a ativação da micróglia após lesão periférica nervosa contribui para a sensibilização central, o principal mecanismo que ocasiona a dor neuropática; logo, a análise de alterações na expressão gênica utilizando microarranjo no 1^o. dia e 7^o. dias após a lesão nervosa em camundongos pode possibilitar a identificação de genes responsáveis para ativação da micróglia e consequente desenvolvimento da dor neuropática, bem como prover possibilidades terapêuticas, considerando-se a ineficiência das vertentes terapêuticas atuais na dor neuropática.

Após analisar alterações na expressão gênica, os autores destacam a importância de dois genes: miR- 29c e Gria1. A regulação negativa de miR- 29c contribuiria para o desenvolvimento da dor neuropática, enquanto Gria1 atuaria em sua manutenção, propiciando insight para futuras novas abordagens terapêuticas. No entanto, destaca-se que a análise da expressão gênica foi realizada a partir de amostras compostas por 10 células microgliais, impossibilitando a análise de alterações na expressão celular individualmente.

Referências: High-resolution transcriptome analysis reveals neuropathic pain gene-expression signatures in spinal microglia after nerve injury.

Alerta submetido em 05/04/2016 e aceito em 05/04/2016.

[8. Presença de auto anticorpos durante artrite reumatoide contribui para manutenção da dor](#)

A dor é um sintoma comum e persistente em pacientes diagnosticados com artrite reumatoide (AR), sendo seus mecanismos de indução e manutenção amplamente investigados na busca de novos alvos terapêuticos para o tratamento da dor articular. Uma característica importante da dor crônica na AR é que em geral esta não está associada com inflamação, ou seja, mesmo após um tratamento bem-sucedido com anti-inflamatórios a dor persiste e, até mesmo antes da inflamação aparecer nas articulações, a dor já está presente. Assim surge a pergunta: o que pode estar contribuindo para indução/ manutenção da dor? Neste sentido, um grupo de pesquisadores da Suécia foi investigar o papel na dor de auto anticorpos contra proteínas citrulinadas (ACPA). Os ACPA, ou anti-CCP (auto anticorpos contra peptídeo citrulinado cíclico), estão presentes na maioria dos pacientes com AR, sendo utilizados clinicamente como marcadores sorológicos para o diagnóstico de AR. Interessantemente, os níveis de anti-CCP permanecem elevados mesmo após o tratamento com anti-inflamatórios. Entre os auto-antígenos citrulinados encontrados em pacientes com AR estão o fibrinogênio, a vimentina, colágeno tipo 2, entre outros. No estudo publicado na

revista *Annals of the Rheumatic Diseases*, anticorpos purificados de pacientes com AR e doadores saudáveis foram injetados pela via intravenosa em camundongos. Os autores observaram que a administração de anticorpos anti-CCP induziu uma dor persistente (28 dias) e pronunciada em camundongos, na ausência de inflamação. Importante ressaltar que camundongos que receberam a injeção de IgG controle ou mesmo de IgG não anti-CCP de pacientes com AR, não apresentaram qualquer efeito pró-nociceptivo. Além disso, foi demonstrado que o efeito mediado por anti-CCP foi acompanhado pela ativação de osteoclastos e liberação da quimiocina pró-nociceptiva CXCL1. Para confirmar a participação desta quimiocina no efeito hipernociceptivo induzido por ACPA, os animais foram tratados diariamente com reparexina, um antagonista dos receptores CXCR1/2 (receptor de CXCL1). Foi observado que o tratamento com reparexina reverteu a hipersensibilidade mecânica induzida por anticorpos anti-CCP. Deste modo, este estudo sugere que os osteoclastos induzem a liberação de CXCL1, de maneira dependente de auto anticorpos, contribuindo para manutenção da dor articular através da ativação de neurônios nociceptivos que inervam a articulação. A descoberta deste mecanismo indica novos alvos potenciais para a prevenção do desenvolvimento da dor articular bem como de outras condições dolorosas associadas com produção de auto anticorpos e/ ou ativação de osteoclastos.

Referência: Wigerblad G, Bas DB, Fernandes-Cerqueira C, Krishnamurthy A, Nandakumar KS, Rogoz K, Kato J, Sandor K1, Su J, Jimenez-Andrade JM4, Finn A, Bersellini Farinotti A, Amara K, Lundberg K, Holmdahl R, Jakobsson PJ, Malmström V, Catrina AI, Klareskog L, Svensson CI. Autoantibodies to citrullinated proteins induce joint pain independent of inflammation via a chemokine-dependent mechanism. *Ann Rheum Dis*. 2016; 75(4):730-8

Alerta submetido em 07/03/2016 e aceito em 22/03/2016.

9. Neuropatia induz aumento da expressão de CXCL13 e CXCR5 na medula espinhal

Nos últimos anos vários trabalhos têm sugerido que quimiocinas são importantes para ativação de células da glia durante a neuropatia. Neste sentido, um estudo publicado recentemente no periódico *The Journal of Clinical Investigation* (JCI) demonstrou que após indução do modelo de dor neuropática *Spinal Nerve Ligation* (SNL- ligação do nervo espinhal), a quimiocina CXCL13, um quimioatrativo de linfócitos B o qual ativa o receptor CXCR5, foi suprarregulada em neurônios da medula espinhal. O aumento na expressão de CXCL13 induziu a ativação de astrócitos espinhais, por um mecanismo dependente do receptor CXCR5 em camundongos. Os autores observaram que a dor mecânica e térmica presente após a indução da neuropatia foi reduzida pelo tratamento com um inibidor de CXCL13. Além disso, uma vez que se sabe que microRNAs (miRNAs) inibem a tradução de genes específicos, Jiang e colaboradores foram determinar potenciais miRNAs que poderiam ter como alvo CXCL13 e se estes estariam relacionados com o desenvolvimento da dor neuropática. Os autores descobriram que o microRNA: miR-186-5p, suprime a expressão de CXCL13 na medula espinhal e, interessantemente, que este miRNA foi infrarregulado após a neuropatia. Além disso, foi observado que a expressão de miR-186-5p na medula espinhal foi co-localizada com a do marcador de células neuronais, mas não com o de células da glia. Ainda, o aumento de miR-186-5p através de infusão intra-espinhal, ocasionou a diminuição da expressão de CXCL13 na medula espinhal, com conseqüente redução da dor neuropática. Já a administração de um inibidor deste miRNA, induziu hiperalgesia mecânica e térmica e levou a um aumento nos níveis de CXCL13 espinhais. Por outro lado, o tratamento com anticorpo anti-CXCL13 atenuou a alodinia mecânica e térmica induzida pelo inibidor de miR-186-5p. Estes dados sugerem que CXCL13 possui um papel crucial na patogênese da dor neuropática e que o microRNA miR-186-5p atua como um inibidor endógeno da dor. Na última parte do trabalho, os autores observaram que a neuropatia induz um aumento na expressão de CXCR5 em astrócitos espinhais e que a hiperalgesia mecânica e térmica induzida pelo modelo SNL foi significativamente reduzida em animais com deleção do gene (animais

nocaute - KO) para o receptor CXCR5. Com o intuito de verificar se CXCL13 por si só é capaz de induzir dor, os autores injetaram pela via intratecal a proteína CXCL13 em animais normais e CXCR5 KO. De fato, CXCL13 induziu dor mecânica e térmica em animais WT, mas foi significativamente reduzida em animais CXCR5 KO. Além disso, CXCL13 induziu um aumento na expressão de GFAP (marcador de astrócitos) e ERK na medula espinal. Assim, o conjunto de dados do presente estudo sugere que a quimiocina CXCL13 presente nos neurônios, induz ativação de astrócitos e hipersensibilidade à dor, por um mecanismo dependente da sinalização CXCR5/ERK. Este estudo revela uma interação neuronal-astrocítica na medula espinal levando à facilitação da dor neuropática. A inibição desta via pode ser uma ferramenta terapêutica para o tratamento da dor neuropática.

Referência: Jiang BC, Cao DL, Zhang X, Zhang ZJ, He LN, Li CH, Zhang WW, Wu XB, Berta T, Ji RR, Gao YJ. CXCL13 drives spinal astrocyte activation and neuropathic pain via CXCR5. *J Clin Invest.* 2016;126(2):745-61. doi: 10.1172/JCI81950.

Alerta submetido em 11/03/2016 e aceito em 22/03/2016.

10. Biossíntese completa de opioides em levedura

Atualmente os opioides possuem uma única fonte de produção comercialmente competitiva, o cultivo da papoula, que por sua vez, pode ter o rendimento prejudicado por fatores ambientais como, pragas, mudanças climáticas e doenças. Dessa forma, a necessidade de diversificar as fontes de opioides é evidente e, com base nessa situação, um grupo de pesquisa da Universidade de Stanford promoveu e avaliou a biossíntese de opioides a partir de leveduras, levando em consideração que esse meio de produção poderia resolver uma série de problemas no fornecimento.

Engajados pelos prováveis benefícios e com base em estudos realizados anteriormente, os pesquisadores buscaram realizar a biossíntese completa de opioides, a partir de carbono simples e fontes de nitrogênio em leveduras geneticamente modificadas. Entretanto, para que a pesquisa pudesse ser autorizada e desenvolvida, uma série de critérios tiveram de ser atendidos como, limitação dos volumes de fermentação e concentrações de compostos, além da destruição e eliminação dos produtos imediatamente após experiências. Todos esses cuidados eram necessários para evitar o abuso das substâncias geradas na pesquisa, ou a utilização das cepas para uma fabricação "caseira".

Após a aprovação do estudo, a primeira etapa desenvolvida foi a produção de uma cepa de levedura capaz de produzir (S) - reticulina. Isso foi possível a partir da expressão de 17 enzimas biossintéticas, que desviavam o fluxo de carbono através tirosina para (S) - reticulina. Entretanto, para prosseguir com a biossíntese de opióides era preciso catalisar a epimerização da reticulina de (S) para (R). Até o momento, a papoula tinha a capacidade única de catalisar essa síntese, por meio das enzimas *1,2-dehydroreticuline synthase* (DRS) e *1,2-dehydroreticuline reductase* (DRR), que não haviam sido isoladas no início do estudo. Entretanto, durante o desenvolvimento da pesquisa outros dois trabalhos demonstraram que o silenciamento dos genes que codificavam a enzima codeinona reductase (COR) levava ao acúmulo de reticulina na forma (S), o que levantou a hipótese de que a COR poderia catalisar a redução estereoespecífica da molécula. Com ajuda de um banco de dados, identificaram as enzimas DRS-DRR a partir da sequência de DNA que possuía um domínio para oxidase do citocromo P450 (CYP) e um domínio para COR. Considerou-se então, que esta proteína de fusão natural poderia catalisar a epimerização da reticulina. Verificou-se o quão difundido na natureza era essa sequência, identificaram uma de interesse e, então, testaram sua atividade de epimerase.

Em seguida, foram testadas as variantes das enzimas DRS-DRR para a produção de tebaína, primeiro alcalóide morfina na biossíntese de opioides. Nessa etapa também foram realizadas modificações genéticas para aperfeiçoar a síntese dessa molécula. Ao final, a produção de tebaína foi de $6,4 \pm 0,3 \mu\text{g/L}$. Além disso, nesse mesmo trabalho a biossíntese



Dor On Line

www.dol.inf.br

de hidrocodona foi desenvolvida; contudo, os níveis de produção da mesma foi de apenas $\sim 0,3 \mu\text{g/L}$, sendo inviável nesse momento a produção em prol do fornecimento de mercados, pois nesse caso seria necessária no mínimo a produção de 5g/L , ou seja, um aumento de rendimento de mais de cinco ordens de magnitude.

Dessa forma, para que as leveduras se tornem uma fonte de opioides competitiva no mercado, seriam necessárias melhorias não só no aumento da escala de fermentação, mas também nas vias biossintéticas. Importante ressaltar que essa via de produção possui um desvio reduzido para mercados ilícitos, devido a passos adicionais e custo de conversão química desses compostos específicos em heroína.

Referência: Galanie S, Thodey K, Trenchard, IJ, Interrante MF, Smolke CD. Complete biosynthesis of opioids in yeast. *Science*. 2015; 349:1095-100.

Alerta submetido em 08/03/2016 e aceito em 22/03/2016.