

Trabalhos apresentados no 51º Congresso Brasileiro de Farmacologia e Terapêutica Experimental - SBFTE, realizado em Maceió, Alagoas, no período de 24 a 27 de setembro de 2019

1. Substâncias analgésicas clássicas induzem efeitos antinociceptivos térmicos em larvas de *Drosophila Melanogaster*

Um dos trabalhos apresentados no congresso foi de grande valia, pois, existe um compromisso da comunidade científica mundial em seguir os Princípios de Russell-Burch (1959) de "redução, substituição e refinamento" no uso de animais (3R's). No caso dos dados obtidos a ideia é de Replacement, ou seja, substituição.

O pesquisador mostrou dados sobre o uso da larva da mosca da fruta *Drosophila Melanogaster* substituindo o uso de vertebrados na pesquisa da dor farmacológica, dados mostram que foi possível detectar e responder a estímulos nocivos.

O teste utilizado foi o de Hargreaves, observando-se que larvas expostas a estímulo térmico, tem um comportamento de escape e rolamento de 360º ao longo do eixo do corpo.

Avaliou-se os efeitos antinociceptivos térmicos da Morfina, Anandamida, Dipirona, AAS e Dexametasona. Os fármacos foram administrados no hemocoel de larvas usando um aparelho de microinjeção. A sensibilização foi induzida pela estimulação de 97 unidades de Infravermelho por 32 segundos. A latência do comportamento ao rolamento da larva foi aumentada após administração da morfina e revertida pela Naloxona, antagonista opióide.

Houve antinocicepção na administração de Anandamida onde o efeito não foi revertido pelos antagonistas dos receptores CB1 e CB2 e houve antinocicepção com a administração de Dipirona e Dexametasona.

Conclui-se que, foi possível, através da administração de analgésicos clássicos propor um novo modelo experimental de avaliação de dor, utilizando larvas de *D. Melanogaster*.

Deve sempre haver reflexão para tentar reduzir e substituir o uso de animais sempre que possível e aprimorar métodos já descritos.

Referência: 05.006 Classical analgesic substances induce thermal antinociceptive effects in *Drosophila melanogaster* larvae. Silva TS1, Lopes C2, Guimarães JDS3, Kuhn GCS3, Romero T3, Naves LA3, Duarte IDG3 1FMRP-USP, 2USP, 3UFMG. 51st Brazilian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics, Brazil, Maceió, 24 a 27 de setembro de 2019.

Alerta submetido em 16/12/2019 e aceito em 16/12/2019.

2. Antagonista do canal TRPA1 reduz a nocicepção e a inflamação em um modelo de queimadura induzida por radiação ultravioleta B em camundongos

Este estudo avaliou a participação periférica do TRPA1 no processo nociceptivo e

inflamatório em camundongos submetidos ao modelo de queimadura induzida por radiação UVB e tratados com uma preparação tópica contendo HC030031 (um antagonista seletivo para TRPA1). Os camundongos foram anestesiados e apenas a pata traseira direita foi exposta à radiação UVB (0,75 J/cm²). Os tratamentos tópicos com diferentes formulações de géis foram realizados consecutivamente uma vez ao dia durante 8 dias. Os parâmetros nociceptivos e inflamatórios foram avaliados 24 horas após o tratamento tópico a cada dia. Os níveis de H₂O₂ (um agonista de TRPA1) no tecido da pata irradiada e o influxo de Ca²⁺ nos sinaptossomas da medula espinhal foram determinados para avaliar um possível mecanismo de ativação dos canais TRPA1 pela radiação UVB.

A radiação UVB aumentou os níveis de H₂O₂ e o influxo de Ca²⁺ nos sinaptossomas da medula espinhal de camundongos. O gel apresentou efeito terapêutico. O HC030031 0,05% reverteu a alodinia mecânica e a ao frio induzida por UVB irradiação e também reduziu o edema da pata e a atividade de MPO (mieloperoxidase). Esses achados confirmam a ativação do canal TRPA1 pela radiação UVB, sugerindo que os antagonistas tópicos do TRPA1 podem ser uma nova estratégia para o tratamento adjuvante da dor e inflamação associadas a queimaduras solares.

Referência: The transient receptor potential ankyrin 1 antagonism reduces the nociception and inflammation in an ultraviolet B radiation-induced burn model in mice. Fialho MFP, Brum ES, Pegoraro NS, Oliveira SM UFSM. 51st Brazilian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics, Brazil, Maceió, 24 a 27 de setembro de 2019.

Alerta submetido em 06/12/2019 e aceito em 06/12/2019.

3. HUF-101, um análogo do canabidiol, previne a alodinia mecânica e térmica no modelo de dor neuropática periférica induzida por quimioterapia

Este trabalho investigou os efeitos antinociceptivos do HUF-101, um análogo sintético fluoretado do canabidiol (CBD), em um modelo de dor neuropática periférica induzida por quimioterápico e seus possíveis mecanismos de ação. Camundongos C57BL/6 foram tratados com HUF-101 ou veículo por 7 dias. Para induzir a neuropatia periférica induzida por quimioterapia (NPIQ), os animais foram tratados com paclitaxel (PCX; 8 mg/kg; i.p.) ou solução salina após o HUF. Para avaliar a alodinia mecânica e térmica induzida pelo PCX, os filamentos de Von Frey e o teste de acetona foram aplicados na superfície plantar direita da pata do animal.

O tratamento com PCX (8 mg/kg) induziu alodinia mecânica e térmica em todos os protocolos. Este efeito foi prevenido pelo tratamento com HUF (1, 3, 10 e 30 mg/kg) por 7 dias. No entanto, essas mesmas doses não foram eficazes para reverter a alodinia já instalada induzida pelo PCX. Os efeitos antinociceptivos do HUF foram bloqueados pelo pré-tratamento com o antagonista para PPAR γ .

Além disso, o HUF diminuiu a expressão do RNAm de Iba1, Tnf e Il6 em gânglios da raiz dorsal induzida por PCX. Além disso, o HUF não interferiu no efeito antineoplásico do paclitaxel. Esses resultados mostram que o HUF evita a alodinia mecânica e térmica induzida pelo paclitaxel. Os efeitos antinociceptivos do HUF parecem ser mediados pela ativação dos receptores PPAR γ e pela diminuição da expressão de marcadores inflamatórios nos gânglios da raiz dorsal induzida por PCX. Assim, este novo composto pode ser uma alternativa terapêutica para o tratamento da dor neuropática periférica induzida por quimioterápicos usados no tratamento do câncer.

Referência: HUF-101, a cannabidiol analog, prevents mechanical and thermal allodynia in a chemotherapy-induced peripheral neuropathic pain model. Silva N1, Gomes FI1, Lopes A1, Mechoulam R2, Gomes F1, Cunha TM1, Guimaraes FS1 1FMRP-USP, 2Hebrew University. 51st Brazilian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics, Brazil, Maceió, 24 a 27 de setembro de 2019.

Alerta submetido em 06/12/2019 e aceito em 06/12/2019.

4. Neurotoxicidade induzida pela cisplatina em gânglios da raiz dorsal: efeitos neuroprotetores da rosiglitazona

A neurotoxicidade é o principal efeito colateral limitador das terapias antitumorais, como cisplatina e paclitaxel, essas drogas podem afetar o sistema nervoso periférico, causando a conhecida neuropatia periférica induzida por quimioterapia (NPIQ). Existem muitas vias que podem induzir a neuroproteção, sendo uma delas a ativação do Receptor Ativado por Proliferador de Peroxissomo (PPAR), que já demonstrou ser neuroprotetor em muitas doenças neurodegenerativas, incluindo a doença de Alzheimer.

Para investigar o papel do PPAR na NPIQ, culturas primárias de gânglios da raiz dorsal (GRDs) de ratos wistar adultos, foram cultivadas e tratadas por 24 horas com cisplatina (3, 10 ou 30 μ M), rosiglitazona (um agonista PPAR) e/ou T0070907 (antagonista do PPAR). Efeitos dependentes e independentes da ativação do PPAR induzido pela rosiglitazona na neurotoxicidade da cisplatina foram observados. Assim, o tratamento com rosiglitazona pode ser benéfico nos efeitos neurotóxicos da cisplatina.

Referência: Cisplatin-induced neurotoxicity in dorsal root ganglia: The rosiglitazone neuroprotective effects. Oliveira HR, Neves FAR, Duarte DB UnB. 51st Brazilian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics, Brazil, Maceió, 24 a 27 de setembro de 2019.

Alerta submetido em 06/12/2019 e aceito em 06/12/2019.

5. A ativação de receptores canabinoides inibe o desenvolvimento de neurotoxicidade associada à oxaliplatina em camundongos

A oxaliplatina é um composto de platina de terceira geração usado como tratamento de primeira linha para o câncer colorretal metastático. No entanto, tem um importante efeito colateral limitante da dose: uma neurotoxicidade que leva a

neuropatia sensorial periférica (NSP). O objetivo do estudo foi avaliar o papel do sistema endocanabinoide no desenvolvimento da NSP induzida por oxaliplatina.

Camundongos machos suíços receberam injeções de oxaliplatina, duas vezes por semana, totalizando nove administrações. Antes de cada administração de oxaliplatina, canabidiol, um agonista não seletivo de canabinóide (WIN 55) ou antagonistas seletivos de receptores de canabinoides, AM251 (antagonista CB1) e AM630 (Antagonista CB2) foram administrados. Durante 56 dias, foram realizados testes nociceptivos mecânicos e térmicos uma vez por semana. Além disso, outros testes comportamentais, como testes de rota rod, catalepsia e placa quente, foram realizados para avaliar possíveis efeitos canabimiméticos. Os dados mostraram que a oxaliplatina aumentou as respostas nociceptivas mecânicas e térmicas, levando ao aumento da expressão neuronal de c-Fos e ATF3. Além disso, a oxaliplatina aumentou as expressões de CB1 e CB2 em diferentes áreas do sistema nervoso periférico e central. Além disso, o canabidiol e o WIN 55, 212-2 atenuaram a resposta nociceptiva relacionada à oxaliplatina. O antagonista CB1, AM251, antecipou a resposta térmica nociceptiva durante o tratamento em mais de 7 dias. Os receptores canabinoides estão envolvidos no desenvolvimento da NSP induzida por oxaliplatina. Isso sugere um papel protetor exercido pelo sistema endocanabinoide na fisiopatologia da neurotoxicidade associada à oxaliplatina e deve ser considerado como um alvo terapêutico.

Referência: The activation of cannabinoid receptors inhibits the development of oxaliplatin-associated neurotoxicity in mice. Pereira AF, Lisboa MRP, Alves BWF, Silva CMP, Dias DBS, Menezes KLS, Cesario FRAS, França JC, Oliveira AR, Alencar NMN, Lima-Júnior RCP, Vale ML UFC. 51st Brazilian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics, Brazil, Maceió, 24 a 27 de setembro de 2019.

Alerta submetido em 06/12/2019 e aceito em 06/12/2019.

6. Aumento de quinurenina 3-monooxigenase nos astrócitos da medula espinhal medeia a manutenção da dor neuropática

Após lesão de nervos periféricos há um aumento de quinurenina no plasma, o que parece estar envolvido na manutenção da dor neuropática. No entanto, os mecanismos que envolvem a quinurenina periférica (Kyn) na dor neuropática são desconhecidos. O objetivo do presente estudo foi avaliar se a Kyn periférica atinge a medula espinhal e mantém a dor neuropática através do metabolismo da enzima KMO, que produz os metabólitos nociceptivos precursores da Kyn.

Para induzir a dor neuropática foi usado o modelo de injúria parcial do nervo (SNI) em camundongos C57BL/6 e os seguintes testes e métodos foram utilizados: teste nociceptivo dos filamentos de von Frey, PCR em tempo real, western blotting, inibição da atividade da KMO e culturas primárias de astrócitos.

A alodinia mecânica induzida por SNI foi associada a um aumento na expressão de KMO na medula espinhal, principalmente nos dias 10 e 14 após a lesão. A expressão de KMO foi restrita aos astrócitos da medula espinhal. Funcionalmente, o inibidor farmacológico da KMO injetado intratecalmente após SNI reduziu a alodinia

mecânica. Além disso, a kyn administrada sistemicamente (i.v) promoveu alodinia mecânica, que foi diminuída quando a KMO foi inibida farmacologicamente. Cultura primária de astrócitos estimulados com TNF, mostraram maior expressão de marcadores de ativação glial, GFAP, e também de KMO.

Os resultados indicaram que, após lesão de nervos periféricos, a KMO expressa em astrócitos espinais desempenha um papel crítico no desenvolvimento da dor neuropática. Esses dados revelam um papel anteriormente não mencionado da via metabólica da quinurenina, como um elo crítico entre lesão nervosa periférica, células gliais da medula espinhal (astrócitos) e manutenção da dor neuropática.

Referência: Increase of kynurenine 3-monooxygenase in the spinal cord astrocytes mediates the maintenance of neuropathic pain. Maganin A, Souza GS, Lopes AHP, Silva RL, Gomes FIF, Alves-Filho JCF, Cunha FQ, Cunha TM FMRP-USP. 51st Brazilian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics, Brazil, Maceió, 24 a 27 de setembro de 2019.

Alerta submetido em 06/12/2019 e aceito em 06/12/2019.

7. O canabidiol é um tratamento promissor para a dor crônica: efeitos ansiolíticos e analgésicos em modelo animal de lesão por constrição crônica (ICC), modulação via receptores CB1 e TRPV1

O canabidiol (CBD) é considerado uma estratégia promissora para o tratamento da dor neuropática. O objetivo deste trabalho foi avaliar a possível modulação do efeito do canabidiol via receptores CB1 e TRPV1, utilizando um tratamento sistêmico de CBD (3 dias) em ratos submetidos à constrição do nervo ciático (ICC) e avaliados no teste de campo aberto (OP) e testes nociceptivos (NT). Para este estudo, foram utilizados ratos Wistar machos. Os ratos foram submetidos ao procedimento cirúrgico para indução da dor neuropática no dia zero, e o desenvolvimento de neuropatia foi acompanhado por três semanas por testes nociceptivos (von Frey, placa quente e acetona). No 23º dia, os ratos foram submetidos ao teste de campo aberto. Os resultados demonstraram que o CBD tem efeitos antinociceptivos e ansiolíticos no modelo de dor neuropática.

Referência: Cannabidiol is a promising treatment for chronic pain: anxiolytic-like and analgesic effects in animal model of chronic constriction injury (CCI), modulation via CB1 and TRPV1 receptors. Cardoso GKRS1, Zuardi AW2, Crippa JA2, Hallak J, Leite-Panissi CRA3 1USP, 2FMRP-USP, 3FFCLRP-USP. 51st Brazilian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics, Brazil, Maceió, 24 a 27 de setembro de 2019.

Alerta submetido em 16/12/2019 e aceito em 16/12/2019.

8. Os receptores dopamina D1 e D2 medeiam a antinocicepção induzida por neuropeptídeo S no teste de formalina de camundongo

O neuropeptídeo S (NPS) é o ligante endógeno do receptor NPSR e esse sistema NPS / NPSR controla uma infinidade de ações biológicas, incluindo ansiolise, vigília, ingestão de alimentos e analgesia. Evidências vem apoiando um efeito facilitador do

NPS na neurotransmissão dopaminérgica. O estudo teve como objetivo investigar o papel da sinalização de receptores de dopamina nos efeitos antinociceptivos do NPS no teste da formalina em camundongos. Para isso, foram utilizados os antagonistas dos receptores da dopamina: SCH 23390 (antagonista D1 seletivo), haloperidol (antagonista D2 não seletivo) e sulpirida (antagonista D2 seletivo). Os animais foram pré-tratados com antagonistas da dopamina antes da administração central do NPS (0,1 nmol, icv).

O NPS central reduziu significativamente a nocicepção induzida por formalina durante as duas fases. A administração sistêmica do SCH 23390 bloqueou parcialmente os efeitos do NPS apenas durante a fase 2. O haloperidol impediu os efeitos antinociceptivos induzidos pelo NPS. Semelhante ao haloperidol, o sulpirida também neutralizou os efeitos antinociceptivos do NPS nas fases 1 e 2 do teste da formalina. Os efeitos analgésicos do NPS dependem da neurotransmissão dopaminérgica, principalmente por meio da sinalização do receptor D2. Por outro lado, um envolvimento discreto dos receptores D1 nos efeitos antinociceptivos do NPS foi observado apenas durante a fase 2 do teste da formalina.

Referência: Dopamine D1 and D2 receptors mediate the neuropeptide s-induced antinociception in the mouse formalin test. Oliveira MC1, Holanda VA1, Souza LS1, Soares BL1, André E2, Silva Júnior ED1, Guerrini R3, Calo G3, Ruzza C3, Gavioli EC1 1UFRN, 2UFPR, 3Universidade de Ferrara. 51st Brazilian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics, Brazil, Maceió, 24 a 27 de setembro de 2019.

Alerta submetido em 16/12/2019 e aceito em 16/12/2019.

9. Papel dos receptores das cininas na dor e depressão induzida por reserpina

A fibromialgia é uma doença caracterizada por dor crônica primária generalizada e morbidades como depressão, que causa uma redução da funcionalidade e qualidade de vida dos pacientes, uma vez que não possui fisiopatologia específica, diagnóstico ou tratamento adequado. Evidências mostraram a contribuição das cininas e seus receptores, B1 e B2, em condições de dor aguda e crônica, assim, o objetivo deste estudo foi investigar o envolvimento dos receptores B1 e B2 em um modelo de dor/depressão induzida por reserpina em camundongos.

O modelo de fibromialgia foi induzido pela administração subcutânea de reserpina (1 mg/kg) uma vez ao dia por três dias consecutivos. Parâmetros nociceptivos (filamentos von Frey, alodinia ao frio [método da acetona] e nocicepção espontânea) e comportamentos de escavação e natação forçada foram avaliadas após a administração de reserpina em camundongos Swiss machos. A via dos receptores das cininas B1 e B2 foi investigada a partir desses parâmetros usando antagonistas farmacológicos.

Baixas doses de agonistas dos receptores de cinina B1 e B2 causaram nocicepção espontânea em animais previamente tratados com reserpina, e esse efeito foi revertido impedidos por antagonistas de receptores B. A deleção dos genes dos

receptores de cinina B1 e B2 também reduziu a alodinia mecânica induzida pela reserpina.

Os receptores das cininas B1 e B2 estão envolvidos na nocicepção induzida no modelo experimental usado. Os resultados sugerem que estes receptores podem representar um alvo potencial para o alívio dos sintomas de dor associados à fibromialgia.

Referência: Role of kinin receptors in the reserpine-induced pain/depression dyad. Becker G1, Brusco I1, Silva CR2, Cunha TM3, Oliveira SM1 1UFMS, 2UFU, 3FMRP-USP. 51st Brazilian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics, Brazil, Maceió, 24 a 27 de setembro de 2019.

Alerta submetido em 16/12/2019 e aceito em 16/12/2019.

10. Envolvimento da Cav2.3 espinal na hiperalgesia secundária induzida por capsaicina

O tratamento da dor neuropática é um desafio clínico porque os pacientes apresentam maior sensibilização de nociceptores na medula espinal (sensibilização central). Apesar de expresso em nociceptores, o papel da Cav2.3 (a principal subunidade do VGCC do tipo R) na sensibilização central é pouco conhecido. Assim, o objetivo deste estudo foi verificar se o bloqueio ou depleção da Cav2.3 espinal reduz a hiperalgesia secundária induzida por capsaicina em camundongos, um modelo de sensibilização central preditivo de drogas eficazes no tratamento da dor neuropática.

Foram utilizados camundongos C57BL/6, machos e fêmeas e para inibir os canais Cav2.3, os animais foram tratados com seu bloqueador seletivo SNX-482 (30-300 pmol/local) por via intratecal, 10 minutos antes ou 60 minutos após a injeção de capsaicina. Para depletar os canais Cav2.3, os animais foram tratados com um oligonucleotídico de sentido único (ASO) contra o Cav2.3 ou com um oligonucleotídico incompatível (MM). Os efeitos adversos foram avaliados por testes neurológicos após esses tratamentos. Os camundongos foram avaliados pelos testes de von Frey para detectar os limiares mecânicos das patas antes (basal) e após a injeção de capsaicina. A redução significativa nos limiares mecânicos (na parte distal da pata traseira direita, isto é, hiperalgesia mecânica secundária) foi detectada de 0,5 a 5 horas após o tratamento com capsaicina. A administração de capsaicina causou nocicepção espontânea nos primeiros 5 minutos e hiperalgesia secundária (avaliada por filamentos de von Frey) de 1 a 5 horas após a injeção, e da mesma forma em machos e fêmeas. Apenas o pós-tratamento com SNX-482 parcialmente impediu a hiperalgesia secundária induzida por capsaicina em doses elevadas (300 pmol/local,) que não causam efeitos adversos, e apenas em camundongos fêmeas. Por outro lado, o pré-tratamento ou pós-tratamento com MVII reduziu significativamente a hiperalgesia secundária induzida pela capsaicina, porém apenas em doses elevadas (30 pmol/local), que causaram efeitos adversos. Os resultados demonstram que o Cav2.3 tem um papel crítico na manutenção do processo de sensibilização central em camundongos fêmeas. Como a dor

neuropática é mais comum em mulheres, o Cav2.3 é um alvo potencial para o desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento da dor neuropática.

Referência: Involvement of spinal CAV2.3 in the secondary hyperalgesia induced by capsaicin. Ferreira MA1, Lückmeyer DD1, Macedo SJ1, Prudente AS2, Ferreira J1 1UFSC, 2Unila. 51st Brazilian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics, Brazil, Maceió, 24 a 27 de setembro de 2019.

Alerta submetido em 16/12/2019 e aceito em 16/12/2019.

11. Efeito antinociceptivo de antioxidantes em modelo animal de neuropatia periférica induzido por oxaliplatina está associado com redução do estresse oxidativo e inflamação espinal

O tratamento do câncer com quimioterápicos induz efeitos citotóxicos e diversos efeitos colaterais. A neuropatia periférica induzida por quimioterapia (CIPN) é a principal condição neurológica relacionados aos derivados de platina, taxanos e bortezomibe. Existem estudos que demonstram que as Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) são aumentadas durante tratamento com quimioterapêuticos, causando danos oxidativos e assim contribuem para a CIPN. Neste estudo, foi avaliado o efeito antinociceptivo de antioxidantes, N-acetilcisteína (NAC), ácido lipóico (AL) e vitamina E (VE), em modelo animal de neuropatia periférica induzida por OXA, bem como seu impacto no dano oxidativo e na inflamação na medula espinal. O tratamento com OXA (5 mg / kg I.P) foi administrado a cada 48 horas durante um total de 14 dias; NAC, LA e VE administrados diariamente na dose 50 mg / kg por via oral por gavagem. Von Frey (nocicepção mecânica) e placa quente e fria (nocicepção térmica) foram utilizados para avaliar comportamentos nociceptivos associados à NPIQ. Ao final dos tratamentos, os tumores e a medula espinal foram coletados e quantificados a lipoperoxidação (ensaio TBARS) e as citocinas (por ELISA). Resultados: Observamos que os tratamentos antioxidantes reduziram significativamente as alterações nociceptivas resultantes da NPIQ e ao dano oxidativo induzido por OXA (TBARS), bem como promoveram a modulação anti-inflamatória em camundongos tratados com OXA, conforme inferido por meio da redução de IL-1 β e TNF- α e aumento do conteúdo de IL-10 nos lisados da medula espinal. Conclusão: Os antioxidantes podem exercer efeitos antinociceptivos na CIPN induzida por OXA por diminuírem o dano oxidativo e inflamação no nível da medula espinal.

Referência: Antioxidants antinociceptive effect in animal model of oxaliplatin-induced peripheral neuropathy is associated with decreasing oxidative damage and inflammation in the spinal cord. Agnes JP, Gonçalves RM, Delgobo M, Macedo SJ, Ferreira J, Zanotto-Filho A UFSC. 51st Brazilian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics, Brazil, Maceió, 24 a 27 de setembro de 2019.

Alerta submetido em 12/12/2019 e aceito em 12/12/2019.