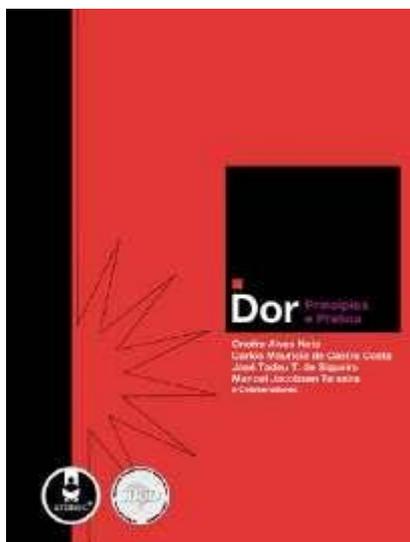


"Dor: Princípios e Prática"**"Capítulo 19: Dor Inflamatória"**

Referendado pela Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor, apresentamos um capítulo do livro "Dor - Princípios e Prática"* (Editora ArtMed), que reúne profissionais renomados tanto do Brasil como do exterior e oferece ao leitor um amplo panorama da dor. Além da descrição dos diversos tipos de dor e das diferentes formas de tratá-los, são também contemplados, entre outros, os aspectos éticos, legais e psicossociais relativos ao tema. O capítulo "Dor Inflamatória" produzido pelo grupo de pesquisa do Prof. Dr. Sérgio Henrique Ferreira, traz o resultado de mais de 30 anos de pesquisa do Laboratório de Dor e Inflamação da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP.

* Conteúdo reproduzido integralmente, sob autorização da Editora ArtMed

Autores: Sérgio Henrique Ferreira, Luiz Fernando Ferrari, Thiago Mattar Cunha, Paulo Gustavo Barboni Dantas Nascimento, Waldiceu Aparecido Verri Junior, Fernando de Queiróz Cunha

Tópico 01 - Introdução

Durante o processo de seleção natural, os animais desenvolveram vários mecanismos fisiológicos que permitiram sua sobrevivência. Entre os mais importantes, certamente a dor ocupa um lugar de destaque, já que é o sintoma que mais freqüentemente faz com que o indivíduo tenha consciência de que sua integridade está sendo ameaçada ou que ocorre alguma disfunção em seu organismo.

A dor pode ser definida como *a percepção desagradável de uma sensação nociceptiva*. Da mesma forma que a visão e a audição, a dor tem um sistema neuronal próprio, denominado *sistema nociceptivo*. De maneira simplista, poderíamos dizer que há dois tipos de dor: a primeira informa rapidamente que os estímulos do meio ambiente agredem ou colocam em perigo a integridade física do animal, e a segunda informa a presença de alguma disfunção orgânica, ou seja, uma inflamação ou uma neuropatia.

A dor de origem inflamatória resulta basicamente da interação entre o tecido danificado e os neurônios sensoriais nociceptivos periféricos por meio da participação

de mediadores inflamatórios; alguns mediadores apenas sensibilizam a resposta nociceptiva. A dor inflamatória aguda (declarada) resulta da ação de um estímulo desencadeante (mecânico, químico ou térmico) ou de um mediador, como a bradicinina, por exemplo, que ativa esses neurônios periféricos sensibilizados. Já a hiperalgesia/hipernocicepção inflamatória é o resultado de modificações funcionais nos neurônios aferentes primários nociceptivos. Essas modificações ocorrem por meio de uma ativação metabotrópica em todo neurônio sensitivo, ou seja, mudanças metabólicas nessas células neuronais facilitam a sua ativação (Hardy; Wolff; Goodell, 1950). Essas modificações funcionais da excitabilidade neuronal são induzidas por mediadores inflamatórios liberados diretamente pelas células danificadas pelo trauma tecidual ou pelo reconhecimento de um elemento estranho ao organismo por células residentes, como, por exemplo, os macrófagos (Ferreira, 1993; Ribeiro et al., 2000). Dessa forma, quando nos referimos atualmente aos nociceptores, não estamos apenas nos referindo às suas extremidades periféricas, mas sim à fibra neuronal inteira, pois a hipernocicepção é um fenômeno que envolve todo o neurônio sensorial.

Para que possamos chamar a dor de *sensação*, é necessária a presença de uma parte do sistema nervoso que seja especializada nesse processo. Esse sistema é denominado nociceptivo e possui fibras nervosas características distribuídas nos tecidos. As fibras nociceptivas conhecidas como A-delta e C estão associadas à inflamação e são, quando sensibilizadas, capazes de transduzir estímulos mecânicos, térmicos ou químicos em impulsos elétricos, que serão transmitidos ao sistema nervoso central (SNC). As fibras A-delta são mielinizadas, enquanto as fibras C não o são. Assim, devido à presença da bainha de mielina, as primeiras transmitem estímulos mais rapidamente (cerca de 12 a 30 m/s), enquanto as últimas são neurônios de transmissão lenta (cerca de 0,5 a 2 m/s) (Rang; Bevan; Dray, 1991). Atualmente, tem-se grande atenção voltada a um grupo de fibras C, denominadas *nociceptores silenciosos*, que seriam "acordados" durante o processo inflamatório, passando a participar da condução da dor inflamatória (Schaible; Schmidt, 1988; Mc Mahon; Koltzenburg, 1990).

As fibras sensoriais periféricas se dirigem para o SNC de forma organizada, e o centro metabólico de cada célula neuronal está localizado em seu corpo celular, presente no gânglio da raiz dorsal (GRD). De cada GRD sai um prolongamento axônico que se divide em dois troncos, sendo que um deles se dirige para os tecidos periféricos e o outro para a medula espinal – no caso dos nervos espinais – ou para o tronco encefálico – no caso dos nervos cranianos (Devor, 1999). Dessa forma, a informação sensorial percorre um longo caminho desde a estimulação periférica, passando pelo GRD e chegando à medula espinal, por onde terá acesso aos centros superiores de processamento. As fibras sensoriais entram na medula espinal pelo lado dorsal e se comunicam com neurônios secundários (ou de segunda ordem) em regiões medulares bem definidas, conhecidas como lâminas de Rexed (Wall, 1967; Besson; Chaouch, 1987; Dubner; Bennett, 1983; Rexed, 1952; 1954; Willis; Coggeshall, 1991). Além disso, os diferentes tipos de neurônios (fibras A-delta e C) terminam em diferentes locais da medula. Dependendo da

camada medular, são ativadas distintas vias secundárias de transmissão. Por exemplo, grande parte dos neurônios nociceptores associados à inflamação termina nas lâminas mais superficiais (camadas I e II – área conhecida como *substância gelatinosa*). Os neurônios secundários pertencentes a essas camadas são especializados em transmitir informações provenientes de estímulos nocivos, sendo chamados, portanto, de *neurônios nociceptores específicos*. Já as outras camadas medulares possuem neurônios secundários que transmitem informações de diferentes tipos, ou seja, conduzem eventos nocivos, mas também conduzem a informação sensorial normal, como o tato e a temperatura. A essas camadas mais profundas também chegam fibras de grosso calibre envolvidas por grande quantidade de mielina, que conduzem a informação a velocidades rápidas (cerca de 30 a 70 m/s). Elas são especializadas em detectar estímulos de baixa intensidade – embora também possam detectar estímulos nociceptivos. Tais fibras, chamadas A-beta, desencadeiam respostas rápidas e são importantes para a manutenção da integridade do animal. A informação sensorial que chega a essas camadas é transmitida para os centros superiores de processamento por neurônios secundários, conhecidos como *neurônios de ampla faixa dinâmica* (WDR – *wide dynamic range neurons*), os quais são capazes de conduzir informações geradas por estímulos de diferentes naturezas (Dubner et al., 1989; Millan, 1999; Bonica, 1990). Essas características anatômicas são importantes para explicar certos fenômenos dolorosos associados às dores neuropáticas. Além disso, a presença de interneurônios na medula espinal auxilia na modulação (tanto positiva quanto negativa) da informação proveniente da estimulação periférica.

No corno dorsal da medula, os neurônios aferentes primários fazem sinapse com os neurônios secundários nas lâminas de Rexed, referidas anteriormente. Tal comunicação sináptica se dá por meio da liberação de neurotransmissores, como o aminoácido excitatório glutamato (GLU) ou a substância P (Battaglia; Rustioni, 1988; Tracey et al., 1991; Ju et al., 1987; Smith et al., 1993), ou, ainda, por mecanismos não identificados até o momento (p. ex., eletrogênicos). A ativação dos neurônios subseqüentes conduz a informação até o sistema nervoso central supra-espinal, onde será analisada e interpretada em locais específicos no córtex (Besson; Chaouch, 1987; Millan, 1999; Prado, 1999; Milne et al., 1981). Essa informação poderá ser processada e relacionada com vias nervosas neurovegetativas (relacionadas aos órgãos) e outros núcleos centrais (sistema límbico, amígdala, etc.), que definirão a tonalidade afetiva da dor (Noback; Strominger; Demarest, 1996). Atualmente, a interpretação (consciência) da experiência de sensação da dor é entendida como função cortical, que analisa a informação recebida em áreas especializadas em detectar, localizar e determinar a intensidade do estímulo (como o parietal anterior) e em áreas corticais responsáveis pela interpretação (consciência) do processo doloroso (parietal posterior). Existe um retardo dos sinais entre as áreas de detecção do estímulo doloroso e aquelas relacionadas à sua percepção (consciência). É provável que tal retardo se deva a uma reação reflexa imediata protetora da integridade do organismo,

permitindo que a percepção, com toda a sua história cognitiva, construa mais lentamente comportamentos mais elaborados.

Um agente estranho ao organismo (ou mesmo restos teciduais resultantes de danos) é reconhecido pelas células fagocíticas locais, principalmente macrófagos, dando início à resposta inflamatória e constituindo um componente importante da resposta imune inata. Os primeiros sinais dessa resposta inflamatória são o calor, o rubor e o tumor/ edema, decorrentes da arteriolodilatação, do recrutamento de territórios vasculares adicionais e do extravasamento de plasma pelo território venular. Esses eventos iniciais podem facilitar a remoção do agente injuriante (p. ex., toxinas e bactérias), aumentando o fluxo de líquido intersticial e a migração de células de defesa para o local da lesão. Há também ativação endotelial, que organiza a migração inicial de neutrófilos, constituindo uma das características da resposta inflamatória aguda. A ativação dos sistemas plasmáticos da calicreína e do complemento leva à formação, no líquido intersticial, de bradicinina e de fatores do complemento (C5a e C3a). Além disso, esses mediadores levam ao desenvolvimento concomitante de um denominador comum aos processos inflamatórios: o *aumento da sensibilidade neuronal* a estímulos que normalmente não produzem ou produzem pouca dor. Essa sensibilização é uma característica importante da dor inflamatória e é nesse fenômeno que a maioria dos analgésicos antiinflamatórios atua.

A nomenclatura introduzida em 1982 pela Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP) redefiniu a sensibilização dos nociceptores em duas categorias: *alodinia* – resposta dolorosa a um estímulo que antes não era doloroso – e *hiperalgesia* – resposta dolorosa aumentada a um estímulo previamente doloroso. Essas definições foram elaboradas para serem usadas em humanos, pois a alodinia possui uma característica fundamental que é induzir também uma *mudança qualitativa* na *percepção* da sensação esperada com base nas características do estímulo aplicado, ou seja, ocorre uma perda da especificidade da modalidade sensorial.

É interessante notar que a alodinia é uma característica das neuropatias, nas quais ocorrem lesões neuronais, fazendo com que estímulos de pouca intensidade e pequena duração passem a causar dores lancinantes ou sensações de queimação contínua ou mesmo dores espontâneas intensas sem qualquer estimulação. Obviamente, essas características de alteração patológica das vias de sensação dolorosa não podem ser avaliadas nos modelos experimentais usuais de nocicepção animal, embora o uso impróprio desse termo tenha-se generalizado nas descrições do modo de ação e nas pesquisas para o desenvolvimento de novos fármacos. O uso do termo *hipernocicepção neuropática* seria mais apropriado para descrever a intensidade de nocicepção em modelos animais de neuropatia experimental. Nesse sentido, a *sensibilização neuronal* que ocorre durante a inflamação será referida, neste texto, como *hipernocicepção inflamatória* ou simplesmente *hipernocicepção*, quando houver referências a experimentos de nocicepção animal, e como *hiperalgesia*, quando existir sintoma paralelo no homem.

Um ponto importante em relação à indução da hiperalgesia inflamatória é que a liberação dos mediadores respeita uma hierarquia temporal de liberação e de ação. Se realizarmos uma análise do exsudato inflamatório colhido em uma fase tardia de um processo inflamatório agudo, é possível detectarmos uma “sopa” de mediadores intermediários e finais. Porém, se for realizada uma análise temporal cuidadosa desse exsudato, observaremos uma seqüência definida de liberação. É por essa razão que podemos, ao bloquearmos um passo dessa seqüência, inibir o desenvolvimento de determinados eventos, sinais e sintomas do processo inflamatório, inclusive a dor (Fig. 19.1) (Cunha et al., 1992, Ferreira et al., 1993; Watkins et al., 1995; Sachs et al., 2002; Lorenzetti et al., 2002).

A Figura 19.1 ilustra as principais vias biológicas ativadas pelo estímulo inflamatório, culminando na hiperalgesia inflamatória. No que se refere à dor, os mediadores inflamatórios liberados durante a resposta imune inata podem ser divididos em dois grupos: os *mediadores hiperalgésicos intermediários* e os *mediadores hiperalgésicos finais*. Os primeiros são liberados no início e durante a inflamação, sendo responsáveis pela liberação de outros mediadores intermediários. Já os *mediadores hiperalgésicos finais* interagem com seus receptores específicos nos neurônios aferentes primários, promovendo as modificações moleculares responsáveis por sua sensibilização. Estes (entre os quais se encontram as prostaglandinas – PGs – e as aminas simpáticas) atuam em determinados receptores, presentes na membrana dos neurônios nociceptivos, e sua ativação estimulará vias de sinalização intracelular (como a da adenosina monofosfato cíclico – AMPc – e das proteínas quinases A – PKA – e C

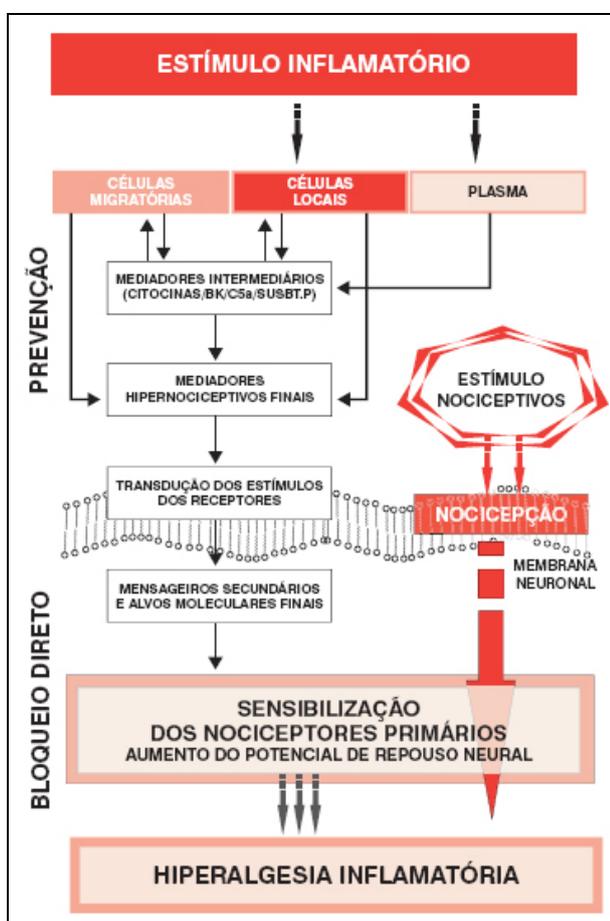


Fig. 19.1: Mecanismos da dor inflamatória. As estratégias farmacológicas que previnem a sensibilização dos nociceptores atuam impedindo a sinalização intercelular de mediadores intermediários e finais; as estratégias que bloqueiam a sensibilização instaurada atuam no metabolismo dos neurônios nociceptivos.

– PKC), levando ao desenvolvimento da sensibilização neuronal (Ferreira; Nakamura, 1979; Taiwo et al., 1989; Aley et al., 2000; Aley; Levine, 1999). A ativação dessas proteínas quinases altera características elétricas da membrana neuronal por modificar o limiar de ativação de vários canais iônicos, como os de sódio (Na^+), de potássio (K^+) e de cálcio (Ca^{+2}), presentes na membrana e nas organelas citosólicas. Tais modificações induzem uma alteração nos potenciais de repouso e uma diminuição do limiar de ativação da membrana, facilitando a ação de estímulos anteriormente inócuos ou muito pouco efetivos.

Entre os mediadores intermediários, podemos destacar as citocinas e as quimiocinas como os mediadores mais característicos da dor inflamatória, ou seja, sua presença é de extrema importância para o fenômeno. A família das citocinas basicamente consiste em pequenas proteínas e glicoproteínas (de peso molecular entre 8 e 30 kDa) que permitem a comunicação intercelular. Esses mediadores, que a princípio pareciam ser importantes apenas no recrutamento de leucócitos (neutrófilos) para o foco inflamatório, foram reconhecidos posteriormente como relevantes na gênese da sensibilização nociceptiva. As citocinas mais importantes no que se refere à hipernocicepção são o fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), a interleucina (IL)-1 e a IL-8 (Cunha et al., 1992; Watkins et al., 1995; Ferreira; Lorenzetti; Poole, 1993; Ferreira et al., 1988). A IL-1 e a IL-8 liberam, respectivamente, os mediadores finais PGs e as aminas simpatomiméticas. É interessante notar que, dependendo do cenário experimental ou inflamatório, mediadores intermediários também podem comportar-se como mediadores finais.

Uma das características das respostas imunológicas inatas é “abrir caminho” para uma resposta imunológica adaptativa quando ela não for efetiva no seu propósito devido às características do agente etiológico. Devemos notar que, durante o desenrolar dos processos imunológicos adaptativos, há o envolvimento de citocinas hipernociceptivas que atuam como mediadores intermediários da imunidade inata, ou seja, dependendo da duração e da intensidade, bem como das lesões provocadas por uma resposta imunológica adaptativa, há o desencadeamento de uma resposta tecidual com dor característica de uma resposta inflamatória aguda (p. ex., artrite reumatóide). Entretanto, a dor periférica que se cronifica devido a características peculiares de um processo patológico (persistência ou renitência) pode ocasionar a sensibilização de neurônios centrais do circuito nociceptivo e mesmo de centros associados à percepção da nocicepção, causando a amplificação do estímulo periférico. Esses eventos complementares sempre dificultam a terapêutica da dor inflamatória crônica.

A seguir, analisaremos em detalhes alguns eventos associados à sensibilização nociceptiva periférica durante o processo inflamatório, assim como as duas principais estratégias consideradas no controle farmacológico periférico da dor inflamatória: os fármacos que previnem e os fármacos que revertem a sensibilização já instalada dos nociceptores.

Tópico 02 - Descrição dos eventos associados à sensibilização nociceptiva periférica na inflamação

Mecanismos não-neuronais

Mediadores hiperalgésicos intermediários, liberados pelas células residentes e pelas células do sistema imune, que migram para o local da inflamação.

Existem evidências apresentadas por diferentes laboratórios de pesquisa que mostram a existência de duas classes de mediadores hiperalgésicos (ou hipernociceptivos): os mediadores finais e os mediadores intermediários. Os *mediadores hipernociceptivos finais* são aqueles que atuam diretamente em receptores nas membranas dos neurônios periféricos nociceptivos e induzem os mecanismos moleculares responsáveis pela sua sensibilização (Figs. 19.1 e 19.2). Entre os mais importantes estão os eicosanóides (prostaglandinas e prostaciclina), as aminas simpáticas, os leucotrienos, o fator de agregação de plaquetas (PAF), a histamina e a serotonina.

Geralmente os mediadores hipernociceptivos finais não são liberados diretamente a partir do reconhecimento do estímulo inflamatório, mas sim após a estimulação por outros mediadores liberados previamente, os denominados *mediadores hiperalgésicos intermediários*. Entre eles, os mais importantes são as citocinas/quimiocinas, de origem celular, e a bradicinina e os fatores do complemento C3a e C5a, de origem peptídica e provenientes do plasma (Verri et al., 2006). O reconhecimento de resíduos tissulares de vírus, de bactérias ou seus produtos por células fagocitárias locais, principalmente pelos macrófagos, inicia a resposta imune inata (com presença de calor rubor e tumor/edema), com a subsequente chegada de neutrófilos e desencadeamento da dor inflamatória. A persistência dessa resposta inflamatória serve, em geral, de gatilho para o desenvolvimento de respostas de defesa e de ataque mais elaboradas, as respostas imunoadaptativas.

As citocinas e as quimiocinas induzem diferentes eventos relacionados à inflamação, como migração celular, febre e dor. Quanto à dor inflamatória periférica, a primeira evidência da participação de uma citocina foi realizada em 1988 por Ferreira e colaboradores, em que mostraram a indução de hiperalgesia mecânica em ratos pela IL-1 β de maneira dependente da produção de prostanoídes (PGs) durante a inflamação.

Estudos posteriores demonstraram, ainda, que o efeito das citocinas poderia depender da liberação prévia de outras citocinas ou quimiocinas, conforme o gatilho da resposta inflamatória e a espécie investigada, criando um panorama de sinalização celular específico para cada patologia ou modelo experimental, mas com elementos comuns às respostas inata e imune. Nesse sentido, as quimiocinas, uma classe especial de citocinas, possuem papel importante devido à sua grande capacidade quimioatraente para leucócitos.

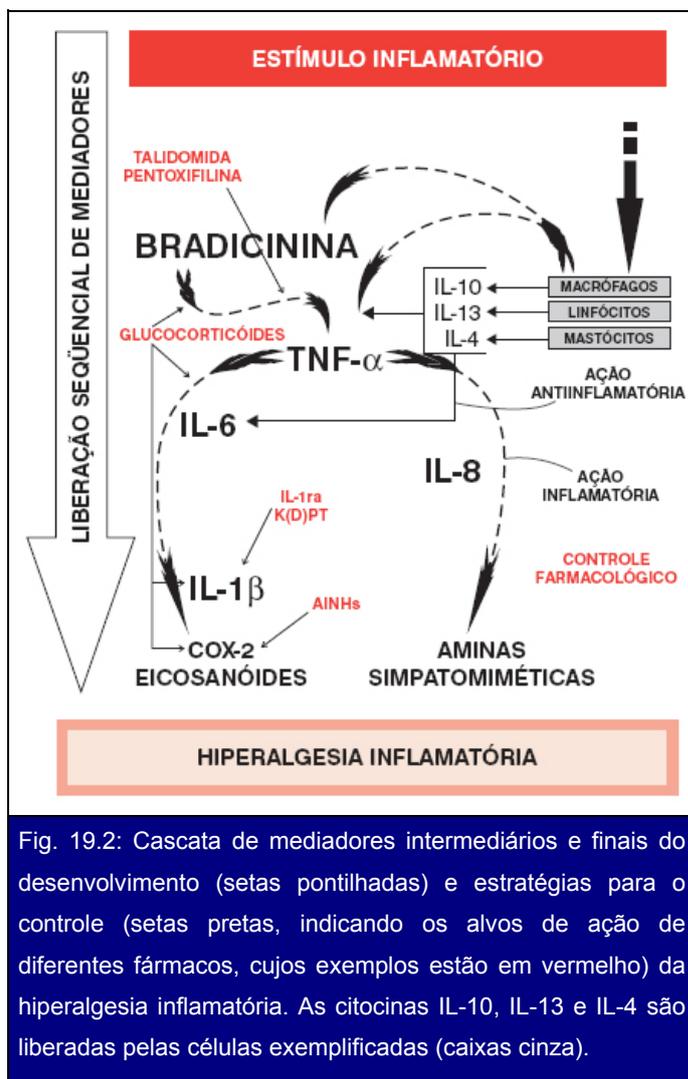


Fig. 19.2: Cascata de mediadores intermediários e finais do desenvolvimento (setas pontilhadas) e estratégias para o controle (setas pretas, indicando os alvos de ação de diferentes fármacos, cujos exemplos estão em vermelho) da hiperalgisia inflamatória. As citocinas IL-10, IL-13 e IL-4 são liberadas pelas células exemplificadas (caixas cinza).

Para exemplificar as possíveis diferenças com relação aos efeitos produzidos pelas citocinas e quimiocinas, hoje se sabe que, após a indução de uma inflamação por endotoxina, o TNF- α é a primeira citocina a ser liberada, de modo que é considerada a citocina-chave do processo inflamatório (Cunha et al., 1992). Após sua liberação, o TNF- α induz a secreção de IL-1 β pelas células presentes e, conseqüentemente, de prostaglandinas (PGs), que são elementos importantes para a produção de hiperalgisia. Além disso, o TNF- α também estimula uma outra via biológica dependente da liberação das quimiocinas CINC-1/CXCL1 (em ratos, experimentalmente) ou IL-8/CXCL8 (Cunha et al., 1991) (em humanos), as quais são responsáveis pela ativação do componente simpático da

hiperalgesia inflamatória, ou seja, promovem a liberação de aminas simpáticas (Fig. 19.2).

Existem certas nuances nos componentes dessa cascata hierárquica de mediadores liberados que devem ser levadas em consideração, como no caso de camundongos, nos quais tanto o TNF- α quanto a quimiocina KC/CXCL1 induzem a liberação de IL-1 β e de prostanoídes (Cunha et al., 2005), além de a KC/CXCL1 também estimular a liberação de aminas simpáticas. O ponto importante a se salientar é que, embora as citocinas possam variar, existe uma hierarquia tempo-funcional da participação de mediadores intermediários e finais no processo inflamatório.

Apesar de essa explicação parecer uma simplificação do processo inflamatório e, conseqüentemente, da hipernocicepção/ hiperalgisia, tais evidências permitem a compreensão desse processo biológico que é, em essência, hierárquico, afastando a idéia inicial de que os sintomas inflamatórios resultam de uma "sopa de mediadores" liberados de maneira desordenada durante o processo inflamatório. Tais conceitos nos permitem entender por que a inibição de uma (IL-1 β ou TNF- α) ou várias

citocinas (pelo uso de drogas glicocorticóides) causa analgesia (Verri et al., 2006). Assim, o sucesso clínico das terapias anti-TNF- α na artrite reumatóide resume bem esse conceito e, além disso, permite que novos alvos terapêuticos para o controle da dor inflamatória sejam propostos.

Deve-se também enfatizar que a maioria dos modelos experimentais inflamatórios apresentados na literatura baseia-se em respostas imunes inatas induzidas por substâncias capazes de gerar inflamação ou de ativar processos imunológicos específicos. Grande parte das doenças inflamatórias que são acompanhadas de dor apresenta componentes da imunidade adaptativa. As respostas inflamatórias decorrentes da ativação do sistema imunoadaptativo devem ser descritas basicamente em três tipos: respostas imunes celulares do tipo Th1, respostas imunes do tipo Th2 e respostas humorais, principalmente pela produção de anticorpos pelos linfócitos B.

As reações inflamatórias do tipo Th1 são respostas celulares com produção de interferon-gama (IFN- γ) e conseqüente ativação de fagócitos (macrófagos), sendo muito importantes no controle de infecções bacterianas intracelulares. Esses linfócitos também são importantes na produção de citocinas pró-inflamatórias (como o TNF- α , a IL-6, a IL-12), que amplificam a resposta imune adaptativa e são responsáveis pelo recrutamento de outras células, como os neutrófilos. Esse tipo de resposta está associado a doenças inflamatórias auto-imunes, como a artrite reumatóide, por exemplo.

As respostas do tipo Th2 são caracterizadas principalmente pela produção de IL-4 e IL-5, que, além de induzirem a produção de imunoglobulina E (IgE), ligam-se e induzem a degranulação de mastócitos e a ativação/migração de eosinófilos, que reconhecem e destroem helmintos sem fagocitá-los. Essas atividades estão relacionadas a doenças inflamatórias como asma e outros tipos de alergia. A degranulação de eosinófilos libera proteínas e fatores que induzem respostas inflamatórias semelhantes à resposta inata produzida por sílica. Não existem evidências sobre um papel anti ou pró-hipernociceptivo de citocinas de padrão Th2 em respostas inflamatórias Th2, porém tais citocinas são anti-hipernociceptivas em modelos de resposta inata (ver seção Citocinas antiinflamatórias).

Vários são os modelos utilizados para estudo dos mecanismos envolvidos na gênese da dor inflamatória que acompanha as respostas inflamatórias do tipo Th1. A inoculação de antígenos em animais previamente imunizados tem sido utilizada para se entender a fisiopatologia de várias doenças inflamatórias e, mais recentemente, para se compreender os processos que levam à dor causada por tais doenças.

Assim, foi possível verificar que, além das citocinas citadas anteriormente, outro grupo de citocinas parece ser importante para a gênese da hiperalgisia inflamatória de origem imune. As citocinas como a IL-15 e a IL-18 se mostraram cruciais para o desenvolvimento da hiperalgisia em modelos de inflamação do tipo Th1. Mais ainda: elas também induzem a liberação de uma cascata de mediadores inflamatórios seguida da liberação de IFN- γ , endotelina-1 (ET-1) e prostaglandina E2 (PGE2) (Verri et al., 2006; Verri et al., 2007).

Esses estudos abriram um outro caminho para a compreensão e o desenvolvimento de tratamentos para a dor inflamatória, principalmente naqueles casos em que a resposta inflamatória apresenta componentes da resposta imunoadaptativa. Porém, e mais importante conceitualmente, os estudos sugerem uma explicação para a eficácia de medicamentos antiinflamatórios não-hormonais (AINHs), tanto em respostas inatas quanto adaptativas, pois, como mencionado, a PGE2 medeia ambas as situações.

Leucócitos e dor inflamatória

Os neutrófilos são as primeiras células do sistema imunológico a chegarem ao local do dano e são responsáveis pela eliminação do agente infeccioso. Entretanto, em certas ocasiões, ocorre perda do controle do recrutamento dessas células, tornando-as responsáveis também pela formação de lesões teciduais, como as observadas em certas doenças inflamatórias (artrite reumatóide, gota, vasculites, etc.). Isso acontece porque, uma vez no local da inflamação, são ativadas pelos mediadores produzidos localmente e começam a produzir substâncias como radicais livres, enzimas proteolíticas e prótons, que são tóxicas para os tecidos.

Apesar de estarem implicados na fisiopatologia de várias doenças inflamatórias, até pouco tempo atrás, havia poucos trabalhos que estudavam a participação dos neutrófilos na gênese da dor inflamatória.

As primeiras sugestões experimentais de que essas células poderiam participar da dor inflamatória foram feitas no final da década de 1970 e começo da década de 1980 (Castro; Ferreira, 1979). Esses trabalhos mostram que o aumento do número de neutrófilos na articulação de cães criava um ambiente muito favorável ao aparecimento da dor inflamatória (Castro; Ferreira, 1979). Além disso, a eliminação dessas células (com a utilização de anticorpos ou drogas quimioterápicas) abolia a capacidade de certos mediadores inflamatórios causarem hiperalgesia (Levine et al., 1984; Levine et al., 1985).

Mesmo assim, até o presente momento, ainda não há certeza sobre qual é o papel principal dos neutrófilos no estabelecimento da hiperalgesia inflamatória, embora algumas hipóteses tenham sido levantadas:

- Os neutrófilos podem ser a fonte dos mediadores finais da hiperalgesia, como, por exemplo, as PGs.
- Os neutrófilos podem liberar algum outro mediador com papel-chave que, ao atuar em sinergismo com outros mediadores, como as PGs, por exemplo, promoveriam a hiperalgesia inflamatória.

De qualquer forma, os neutrófilos desempenham papel fundamental para a hiperalgesia, que, sem essas células, não se desenvolve.

Pode-se sugerir, então, que a utilização de drogas que inibem a migração de neutrófilos para o foco inflamatório provavelmente seria uma alternativa para o controle

da dor, já que tais substâncias também são potencialmente capazes de modificar o processo fundamental de certas doenças inflamatórias que levam à lesão dos tecidos.

Nesse sentido, alguns grupos de pesquisadores têm estudado qual é o efeito das drogas que inibem a síntese ou que antagonizam os receptores de leucotrieno B₄ (LTB₄), um dos mediadores responsáveis pela migração de neutrófilos para o foco inflamatório. Foi demonstrado que essas drogas, além de inibirem efetivamente a migração de neutrófilos, previnem o desenvolvimento da hiperalgisia inflamatória observada em processos inflamatórios que apresentam características de imunidade adaptativa, bem como em alguns modelos experimentais de artrite reumatóide (Cunha et al., 2003). Todavia, ensaios com um antagonista de receptores para LTB₄ em pacientes com artrite reumatóide apresentaram apenas resultados modestos (Díaz- González et al., 2007).

A importância da presença dos neutrófilos na resposta inflamatória inata intensa ou na que acompanha as respostas adaptativas (p. ex., artrite reumatóide) mostra a necessidade do desenvolvimento de drogas de ação imediata de curta duração (para não bloquear totalmente a defesa imunológica inata) para o controle dos sintomas e das lesões de várias doenças crônicas de origem imune.

Mecanismos neuronais

Mediadores hiperalgésicos finais

Durante um longo tempo, a sensibilização dos nociceptores foi creditada à ação excitatória causada pela liberação de uma "sopa" com vários mediadores inflamatórios no local do tecido inflamado ou lesado. No entanto, essa hipótese foi desafiada pela descoberta do mecanismo de ação das drogas AINHS e pela demonstração, em humanos e em animais, de que os eicosanóides (como a PGE₂) não causavam dor espontânea, mas sensibilizavam os nociceptores à estimulação posterior (Ferreira, 1972).

Produzidos pela ação das enzimas ciclooxigenases (COX), que utilizam o ácido araquidônico como substrato, esses mediadores exercem funções fisiológicas importantes, além de terem papel bastante relevante em processos inflamatórios. Em condições normais, o ácido araquidônico encontra-se esterificado nos fosfolípidos da membrana celular, os quais são mobilizados durante o processo inflamatório pela ação da enzima fosfolipase A₂ (PLA₂), ativada por estímulos químicos, mecânicos e produtos microbianos.

Na visão atual, as PGs são consideradas mediadores finais da dor inflamatória, uma vez que são capazes de sensibilizar diretamente os nociceptores. Isso significa que as células neuronais expressam receptores específicos para as PGs, os quais, uma vez ativados, desencadeiam a sensibilização sem depender da liberação de outros mediadores.

Além das PGs, inúmeros estudos experimentais também mostraram a existência de um componente simpático na sensibilização dos nociceptores durante o processo inflamatório (Nakamura; Ferreira, 1987). Substâncias como as aminas simpáticas (p. ex., noradrenalina, adrenalina e dopamina) se mostraram capazes de induzir hiperalgisia mecânica de forma semelhante às PGs, o que adicionou uma nova vertente aos estudos dos mecanismos biológicos envolvidos na dor de origem inflamatória. Além disso, experimentos que demonstravam a inibição parcial da hiperalgisia inflamatória mecânica por drogas inibidoras da liberação das aminas simpáticas ou por antagonistas de receptores adrenérgicos indicaram uma via alternativa para a indução de hiperalgisia, que poderia, inclusive, ser explorada pela indústria farmacêutica.

Contudo, embora as PGs e as aminas simpáticas sejam os mediadores hiperalgésicos diretos mais estudados, foi verificado que outras substâncias também são capazes de sensibilizar diretamente os nociceptores, sendo implicadas na gênese da dor inflamatória. Entre elas, destacam-se as endotelinas e a substância P. As endotelinas, primeiramente identificadas como substâncias com potente atividade vasoconstritora e envolvidas no controle do tônus vascular, passaram a ser estudadas pelo seu importante papel na gênese da dor inflamatória, em processos isquêmicos e em doenças vasculares.

Já a substância P foi considerada inicialmente uma molécula neurotransmissora da informação nociceptiva entre os sistemas nervosos periférico e central. Essa hipótese, porém, foi substituída pela idéia de que a substância P é, na verdade, um modulador da transmissão nociceptiva, atuando principalmente na medula espinal, controlando o fluxo de informações transmitidas pelos neurônios primários aos centrais. Com relação ao sistema nervoso periférico, existem evidências de que ela pode ser liberada durante o processo inflamatório, principalmente pelas terminações nervosas livres dos tecidos inflamados, contribuindo para o aparecimento do processo denominado *inflamação neurogênica* e atuando autocrinamente nessas terminações, sensibilizando-as (Snijdelaar et al., 2000).

Outro mediador importante para a gênese da dor inflamatória é a bradicinina. Ela tem efeito direto sobre os nociceptores, causando tanto sua ativação quanto sua sensibilização. Existem evidências de que o efeito hiperalgésico da bradicinina seja também indireto e, aparentemente, dependente da liberação de PGs e de aminas simpáticas. Além disso, existem também evidências de que o efeito hiperalgésico da bradicinina seria dependente da produção de citocinas, como o TNF- α , e, conseqüentemente, da cascata de mediadores que se segue, como já descrito (Ferreira; Lorenzetti; Poole, 1993) (Fig. 19.2).

Tópico 03 - Bases moleculares da hipernociceção inflamatória

Após a ativação dos receptores presentes nos nociceptores pelos mediadores inflamatórios finais (p. ex., PGs e aminas simpáticas), iniciam-se os mecanismos

periféricos neuronais da dor inflamatória. Esses mecanismos são representados principalmente por vias metabólicas de sinalização intracelular, com a participação de enzimas e de segundos-mensageiros intracelulares, culminando na modulação da atividade de canais iônicos (Coutaux et al., 2005).

Os receptores tanto para as prostaglandinas (receptores do tipo EP) quanto para as aminas simpáticas (receptores simpáticos β_1/β_2), expressos nos neurônios nociceptivos primários, fazem parte de uma família de receptores celulares acoplados à proteína G. Esses receptores são chamados receptores metabotrópicos, uma vez que não estão ligados diretamente a canais iônicos, mas sim às vias metabólicas de transmissão intracelular de sinal. A expressão desses receptores está mais associada a fibras nociceptivas não-mielinizadas, ou seja, fibras do tipo C. A ligação dessas substâncias nos seus respectivos receptores ativa a proteína G, levando à estimulação de várias vias de sinalização diferentes (Fig. 19.3).

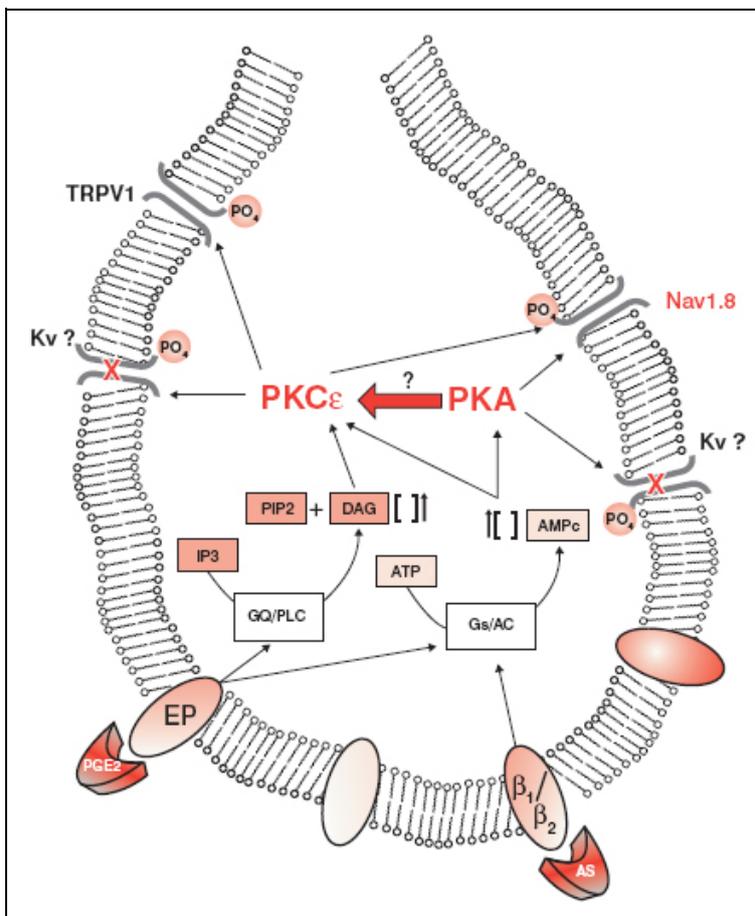


Fig. 19.3 Representação esquemática das vias sinalizadoras secundárias (intracelulares) ativadas pelos estímulos inflamatórios prostaglandina E2 (PGE2) e aminas simpatomiméticas (AS).

O primeiro segundo-mensageiro a ser implicado na dor inflamatória foi a adenosina 3',5'-monofosfato cíclico (AMPc). Essa molécula é produzida pela adenilato ciclase (AC), uma enzima intracelular importante presente na membrana plasmática dos neurônios, que é ativada pelas subunidades α_s da proteína G. A produção do AMPc é necessária para que ocorra amplificação do processo que se iniciou na membrana da célula neuronal. O aumento da concentração intracelular de AMPc regula diversas repostas biológicas por modular diretamente a atividade de uma classe de enzimas, as proteínas quinases. Na maior parte

das células, o AMPc exerce seus efeitos por ativar a proteína quinase dependente de AMPc

(PKA). Isso é válido também para os neurônios nociceptivos cuja sensibilização envolve a ativação da PKA.

Também existem evidências de que o AMPc possa ativar uma outra proteína quinase, a Cε (PKCε). No entanto, a ativação dessa quinase está mais associada a estímulos que aumentam as concentrações intracelulares de cálcio, de trifosfato inositol (IP3) e de diacilgliceróis (DAG). As proteínas quinases são assim denominadas devido à sua capacidade de incluir um grupo fosfato em outras proteínas, modificando sua funcionalidade. Nesse sentido, a PKA e a PKCε têm sido implicadas na modulação da atividade de canais iônicos que apresentam resíduos de aminoácidos passíveis de fosforilação por essas enzimas. Uma vez fosforilados, a atividade desses canais é alterada, de forma que podem se tornar mais ou menos ativos (Fig. 19.3).

Ao serem estimulados, os receptores de membrana (EP e $\beta 1/\beta 2$) de um neurônio ativam vias de sinalização intracelular que levarão, em última instância, à diminuição do limiar de disparo de potenciais de ação dos neurônios, facilitando a ativação neuronal. As vias bioquímicas envolvem a ação de proteínas quinases (PKCε e PKA) e a fosforilação/ fechamento/abertura de canais iônicos permeáveis aos íons sódio (Nav1.8), potássio (Kv – voltagem-sensíveis) ou cálcio (TRPV1). Esses principais mecanismos se iniciam com a ativação das proteínas Gq e Gs. A ativação da proteína Gq libera uma unidade catalítica capaz de decompor o trifosfato inositol (IP3) em difosfato inositol (PIP2) e diacilglicerol (DAG), cujo aumento de concentração no citosol estimula a proteína quinase Cε (PKCε), levando à fosforilação e ao fechamento de canais Kv e à abertura de canais tipo TRPV1 e Nav1.8. A ativação da proteína Gs libera uma unidade catalítica capaz de converter o trifosfato de adenosina (ATP) em monofosfato de adenosina cíclico (AMPc), cujo aumento de concentração no citosol ativa a PKCε e a proteína quinase dependente de AMPc (PKA). A PKA fosforila canais de sódio (Nav1.8) e de potássio (Kv), facilitando o disparo de atividade elétrica da membrana neuronal, que é uma característica da hiperalgesia/hipernocicepção. Apesar de os papéis das proteínas quinases Cε e A na sensibilização neuronal serem bastante conhecidos, a inter-relação entre essas duas proteínas ainda está por ser determinada.

Ainda em relação à modulação de canais iônicos por receptores que levam à hiperalgesia, cabe lembrar o fenômeno denominado *sensibilização retrógrada*, no qual receptores do tipo N-metil-D-aspartato (NMDA) parecem ter papel importante para a manutenção da hiperalgesia. Esses receptores são ativados pelo GLU, liberado pelos neurônios na sinapse. As demonstrações experimentais indicaram que os neurônios nociceptores periféricos possuem uma espécie de mecanismo de *feedback*, pelo qual o próprio neurônio mantém seu estado sensibilizado por causa da liberação de GLU, que, atuando de maneira autócrina em receptores NMDA pré-sinápticos (como em um processo de retroalimentação), manteria o neurônio em estado sensibilizado (Parada et al., 2003). Tal fenômeno seria importante para a duração da dor aguda, podendo também ser relevante para a cronicidade da dor, embora os mecanismos moleculares ainda sejam desconhecidos.

Canais iônicos

A excitabilidade neuronal é controlada por canais iônicos presentes em sua membrana plasmática, ou seja, sua modulação provavelmente é a etapa final na sensibilização dos nociceptores. Como mencionado anteriormente, a ativação das vias intracelulares neuronais leva, em última instância, à fosforilação de canais iônicos, alterando a sua atividade, o que, por consequência, diminui o limiar de ativação da célula neuronal, aumentando sua excitabilidade. Periféricamente, os principais canais iônicos até o momento implicados na sensibilização dos nociceptores são os canais catiônicos. De uma forma simplista, poderíamos dizer que os canais de potássio (K^+) e de cálcio (Ca^{+2}) são mais relacionados à alteração do potencial de repouso neuronal, enquanto os canais de sódio (Na^+) são associados à diminuição do limiar de ativação do nociceptor.

Canais de sódio

O canal de sódio NaV1.8 é um canal dependente de voltagem e resistente à tetrodotoxina, uma toxina presente em alguns peixes e bastante utilizada em estudos eletrofisiológicos. É um dos canais iônicos mais estudados, principalmente devido ao seu papel no aumento da excitabilidade neuronal durante um processo inflamatório.

Esse canal foi apontado como um importante alvo terapêutico no controle da dor, pois tem sua expressão estritamente relacionada a fibras sensitivas de pequeno diâmetro, ou seja, é expresso apenas em fibras nociceptivas. De fato, tanto a deleção genética definitiva (animais *knockout*) quanto a provisória (utilizando ODN *antisenses*) do NaV1.8 revelaram que esse canal está envolvido na sensibilização dos nociceptores pelos mediadores inflamatórios e, conseqüentemente, na gênese da hiperalgesia inflamatória. Observou-se, por exemplo, que mediadores como a PGE₂, aumentam a condutância desse canal e que esse efeito parece depender da fosforilação do NaV1.8 pelas PKA e PKCε (Lai et al., 2004).

Em relação à dor inflamatória crônica, parece que, além de mudanças pós-translacionais (p. ex., fosforilação) no NaV1.8, ocorre também aumento na expressão desse canal, o que também poderia alterar a excitabilidade neuronal.

Nesse sentido, a indústria farmacêutica tem intensificado a busca por drogas seletivas para esse canal. Alguns candidatos têm sido testados em estudos pré-clínicos, os quais se mostram bastante efetivos no controle da dor inflamatória. Ferramentas genéticas, como RNA de interferência, por exemplo, também têm sido testadas pré-clinicamente com efeitos promissores. Essa última abordagem terapêutica inibe seletiva e transitoriamente a expressão do canal.

Cabe salientar que outros canais de sódio ativados por voltagem, como o NaV1.9 e o NaV1.7, também parecem estar implicados no estabelecimento da hiperalgesia inflamatória.

Canais de potássio

Além dos canais de sódio, os canais de potássio também são extremamente importantes no controle da excitabilidade neuronal. Eles não só controlam o potencial de repouso das células neuronais, mas também estão envolvidos na recuperação da voltagem após o disparo de potenciais de ação.

Como os canais de sódio, os canais de potássio também podem ter sua atividade modulada pelas mesmas vias de sinalização descritas.

Embora não se saiba até o presente momento qual é o papel da modulação desses canais para o aumento da excitabilidade neuronal, existem evidências de que os mediadores inflamatórios são capazes de modulá-los, acarretando o seu fechamento e a alteração do potencial de repouso das células neuronais, com conseqüente aumento da excitabilidade.

TRPV1

A identificação e a clonagem do receptor responsável pelos efeitos nociceptivos da capsaicina, conhecido como receptor vanilóide, foi realizada no final da década de 1990. Hoje esse receptor é chamado de TRPV1 (*transient receptor potential vanilloid 1*) e pertence a uma família de receptores ionotrópicos, ou seja, ele é um canal iônico propriamente dito, envolvido na interação das células com os diferentes estímulos extracelulares. O TRPV1 é um canal catiônico não-seletivo, isto é, por ele passam diferentes íons, mas com uma certa seletividade pelo Ca^{+2} (Szallasi et al., 2007).

Esse canal é expresso exclusivamente em fibras nociceptivas, principalmente fibras não-mielinizadas, o que aumenta sua importância no que se refere à dor.

Fisiologicamente, o TRPV1 tem sido apontado como responsável pela transdução de estímulos térmicos em potenciais elétricos de ação pelas células nervosas. Além disso, também pode ser ativado por estímulos químicos, como mencionado (ativado pela capsaicina), e também por estímulos endógenos, como mediadores produzidos durante a inflamação (mediadores lipídicos e prótons).

Outra característica desse canal é que sua sensibilidade pode também ser modulada. Da mesma forma que os canais de sódio e de potássio, a ativação de vias intracelulares pelos mediadores inflamatórios também é capaz de sensibilizar o TRPV1, tornando-o suscetível a estímulos térmicos e químicos de menor intensidade. Esse dado levou à hipótese da participação do TRPV1 na gênese da hiperalgesia inflamatória.

De fato, animais deficientes para esse canal apresentam hiperalgesia inflamatória térmica diminuída. A indústria farmacêutica também tem investido muito no desenvolvimento de drogas que atuem no TRPV1, sendo que mais de 900 patentes mundiais

já foram registradas. Resta agora saber se o conceito experimental terá importância clínica relevante.

Tópico 04 - Persistência da dor inflamatória

Na maioria das vezes, com a resolução do processo inflamatório, a sensibilidade aumentada do tecido inflamado também desaparece. No entanto, em certas ocasiões, mesmo após a resolução do processo inflamatório, ou seja, quando não se observa lesão aparente no local, a dor continua ou mesmo reaparece após algum tempo. É como se existisse uma *memória* da dor. Contudo, os mecanismos envolvidos nessa persistência ou memória da dor ainda não foram elucidados.

Uma das dificuldades de se entender esse processo se dá pela falta de modelos experimentais que mimetizem ao menos parcialmente esses quadros. Nesse sentido, dois modelos experimentais têm sido utilizados por pesquisadores para auxiliar na compreensão dos mecanismos participantes da dor persistente de origem inflamatória.

O primeiro deles, desenvolvido por Ferreira, Lorenzetti e Campos (1990), baseia-se na administração diária de PGE2 ou de dopamina durante 14 dias consecutivos na pata de ratos. Após a interrupção dessas sucessivas administrações, os animais desenvolvem um quadro hiperalgésico persistente que dura mais de 30 dias (Fig. 19.4), possibilitando o estudo do efeito de drogas nessa condição.

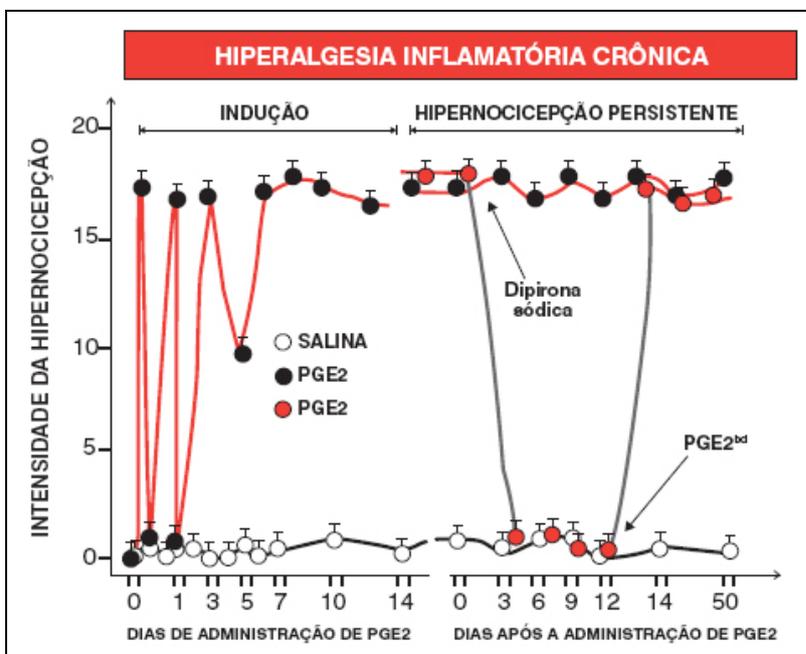


Fig. 19.4: Hipernocicepção persistente (crônica) induzida pela administração repetida de estímulo inflamatório: resultados experimentais obtidos *in vivo*.

A sensibilidade à aplicação de um estímulo mecânico (intensidade de hipernocicepção) na pata traseira de ratos foi avaliada durante 50 dias. A administração diária de PGE2 (100 ng/pata) induziu a instalação de um processo permanente de sensibilização, que pôde ser revertido pelo tratamento com dipirona sódica, a qual bloqueia diretamente a hipernocicepção, levando-a ao estado

quiescente. Nesse estado, um pequeno estímulo (PGE₂^{bd} – 10 ng/pata), incapaz de causar hipernocicepção em animais normais, foi capaz de restaurar a hipernocicepção inflamatória crônica.

Os fármacos que atuam diretamente nos neurônios, como a dipirona sódica, por exemplo, são capazes de reverter essa hiperalgisia persistente a um estado quiescente, no qual uma dose baixa de PGE₂, antes incapaz de causar sensibilização, torna-se capaz de induzir o retorno da hiperalgisia.

A hiperalgisia persistente também pode ser alcançada pela administração diária de citocinas, como TNF- α , IL-1, e quimiocinas, já mencionadas como potentes indutoras de hiperalgisia. Esse efeito das citocinas aparenta ser indireto, sendo também mediado pelas prostaglandinas e pelas aminas simpáticas.

Ainda não são bem compreendidos os mecanismos envolvidos na gênese e na manutenção desse processo persistente; no entanto, foram observadas algumas evidências de ativação contínua das vias intracelulares dependentes de PKA e PKC ϵ , além de aumento na expressão dos canais de sódio NaV1.8, o que poderia contribuir para esse estado de persistência.

Outro modelo experimental mimetiza aqueles casos nos quais se desenvolve aumento na sensibilidade mesmo algum tempo após a resolução do processo inflamatório. Nesse modelo, uma inflamação aguda de poucas horas provoca alteração na sensibilidade dos nociceptores e uma pequena dose de PGE₂, incapaz de induzir hiperalgisia em um tecido normal, passa agora a promover um quadro de hiperalgisia bastante intensa, que pode durar até mesmo várias semanas. Esse fenômeno é chamado de *priming* hiperalgésico (Aley et al., 2000).

Em um primeiro momento, esse fenômeno parece depender de uma atuação do TNF- α como mediador final em seu receptor, presente nos neurônios aferentes primários, e parece não depender dos mediadores finais clássicos da hiperalgisia, como as PGs. Além disso, um aumento na disponibilidade da PKC ϵ nos nociceptores também parece ser fundamental para a instalação desse quadro e estaria envolvido em um aumento na modulação positiva dos canais de sódio NaV1.8, promovido pela administração de baixas doses de PGE₂.

Tópico 05 - Controle farmacológico periférico da dor inflamatória

Com base nos eventos celulares e moleculares envolvidos na sensibilização dos nociceptores durante um processo inflamatório e, conseqüentemente, no aparecimento da hiperalgisia inflamatória, podemos classificar os fármacos de ação periférica em dois tipos principais:

- Fármacos que previnem a sensibilização dos nociceptores (antálgicos):
 - a. Inibidores da síntese de mediadores hiperalgésicos finais (AINHs);

-
- b. Fármacos antagonistas de receptores dos mediadores finais, simpatolíticos e antagonistas dos receptores de bradicinina;
 - c. Fármacos que bloqueiam a liberação ou a ação de citocinas (corticóides).
 - Fármacos que atuam diretamente, bloqueando o curso da sensibilização dos nociceptores já instalada (analgésicos):
 - a. Estimuladores da enzima óxido nítrico (NO) sintase neuronal (morfina de ação periférica: codeína, dipirona);
 - b. Mistos (AINHs e estimuladores da NO sintase neuronal): dipirona e alguns antiinflamatórios não-esteroidais (diclofenaco ou ketorolaco) e opióides periféricos (Fig. 19.5);
 - c. Fármacos que bloqueiam a excitabilidade dos neurônios primários (antagonistas de canais de sódio TTX-r).

Essas classes de fármacos serão discutidas no decorrer desta seção.

Drogas que previnem a sensibilização dos nociceptores

Conforme já mencionado, a sensibilização dos nociceptores se deve à ação de mediadores inflamatórios liberados no tecido inflamado sobre os nociceptores. Dessa forma, não é de se estranhar que drogas que inibam a síntese ou a produção desses mediadores sejam capazes de prevenir a sensibilização, inibindo o estabelecimento da hiperalgesia. As drogas apresentadas a seguir são exemplos desse grupo.

AINHs

Os AINHs são provavelmente a classe de drogas mais utilizada no mundo. Embora já fossem utilizadas há bastante tempo, apenas em 1971 (Vane, 1971) foi proposto que o mecanismo de ação dessas drogas (conhecidas como *aspirin-like*, ou do tipo da aspirina) estava ligado à inibição da síntese de PGs por inibição da enzima responsável por sua produção, a ciclooxigenase (COX). Dessa forma, por bloquearem a formação de mediadores hiperalgésicos finais, essas drogas previnem a sensibilização dos nociceptores e, conseqüentemente, bloqueiam a hiperalgesia inflamatória (Vane, 1971).

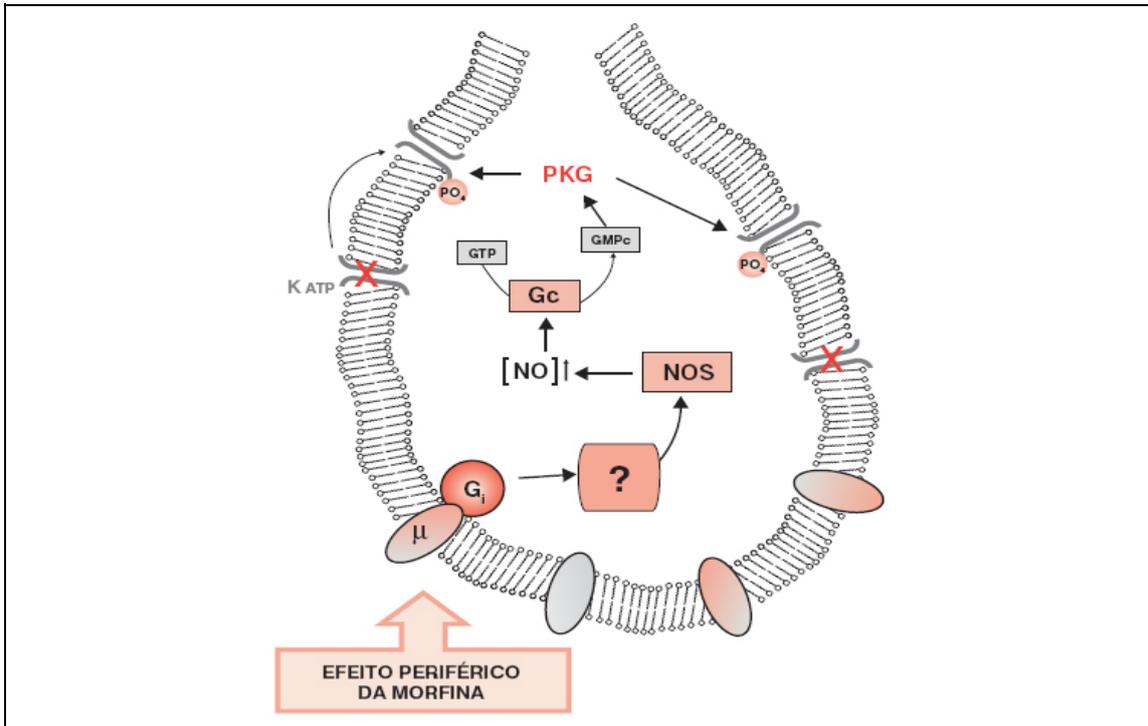


Fig. 19.5: Esquema proposto para o mecanismo de ação molecular da morfina, que possui ação bloqueadora direta sobre os nociceptores sensibilizados. A ação da morfina em receptores opióides do tipo μ estimula a ativação da proteína G inibitória (G_i), cuja unidade catalítica leva ao aumento de atividade de outras quinases ainda não determinadas, culminando na ativação da enzima sintase do óxido nítrico (NO sintase – NOS). A concentração aumentada do óxido nítrico (NO) no citosol neuronal ativa a enzima guanilato ciclase solúvel (Gc), elevando a concentração de guanosina monofosfato cíclico (GMPc) e, conseqüentemente, estimulando a proteína quinase G (PKG). O evento final é a abertura (fosforilação) de canais de potássio (K^+ATP), o que contrabalança o aumento do potencial de membrana, evitando a despolarização e o disparo de potenciais de ação, ou seja, causando anti-hipernocicepção – em outras palavras, analgesia.

Apesar de os AINHS serem os medicamentos mais usados no tratamento de dores inflamatórias, sua utilização prolongada está associada a graves efeitos adversos, que limitam seu uso. Isso se deve à inibição da COX, que participa do processo inflamatório, porém também desempenha um papel importante na fisiologia de certos sistemas fisiológicos.

Os principais efeitos colaterais observados são lesões gástricas e intestinais, devido ao importante papel fisiológico que as PGs desempenham no controle da liberação de suco gástrico e de muco. Com a descoberta da existência de duas isoformas de COX (COX-1, mais relacionada a processos fisiológicos, e COX-2, cuja expressão está vinculada aos processos inflamatórios), houve uma corrida intensa da indústria farmacêutica na busca por moléculas que inibissem seletivamente a COX-2, o que poderia,

potencialmente, prevenir os efeitos colaterais dos AINHS. Assim, no final da década de 1990, uma nova classe de drogas foi introduzida no mercado, os inibidores seletivos de COX-2.

Os inibidores seletivos da COX-2 emergiram como uma milagrosa classe de drogas para controlar a dor durante doenças inflamatórias crônicas, como a artrite reumatóide, por exemplo, substituindo os AINHS convencionais. No entanto, essas drogas também apresentaram efeitos colaterais, o que levou, inclusive, à recente retirada de um importante membro dessa classe de medicamentos do mercado, por aparentemente aumentar a incidência de ataques cardíacos e outros eventos cardiovasculares, como facilitar a formação de trombos, por exemplo. Conseqüentemente, hoje essa classe de drogas, antes considerada insubstituível, tem sido duramente questionada, e o controle da dor inflamatória continua um grande desafio.

Glicocorticóides e outros inibidores da síntese e da ação das citocinas

Os glicocorticóides são hormônios esteróides responsáveis pela regulação de diferentes processos fisiológicos, como o metabolismo lipídico e a resposta inflamatória.

A retirada dos glicocorticóides endógenos pela extirpação da glândula adrenal demonstra a sua participação na modulação endógena da severidade do processo inflamatório. Com base nisso, os glicocorticóides são utilizados constantemente na terapia antiinflamatória.

Vários são os mecanismos antiinflamatórios propostos para os glicocorticóides: quando o glicocorticóide (GC) adentra uma célula e se liga aos seus receptores citoplasmáticos (GR), o complexo glicocorticóide-receptor de glicocorticóide (GC-GR) pode migrar para o núcleo celular e ligar-se a elementos responsivos aos glicocorticóides no DNA, podendo induzir, por exemplo, a expressão de diferentes moléculas antiinflamatórias, como a IL-10, o I κ B e a anexina-1.

O I κ B é um inibidor endógeno de um importante fator de transcrição nuclear, o NF κ B, o qual é peça-chave na produção de moléculas pró-nociceptivas/inflamatórias, como citocinas, e enzimas, como a COX-2 e a lipooxigenase (responsável pela produção de leucotrienos).

Além da inibição do NF κ B via aumento na produção de I κ B, o complexo GC-GR pode atuar diretamente sobre esse fator, inibindo-o ou, ainda que indiretamente, inibindo enzimas como as histona acetiltransferases e histona deacetilases, as quais medeiam o aumento da produção dos mediadores inflamatórios pelo NF κ B.

Considerando os mecanismos descritos, o tratamento com glicocorticóides apresenta efeito analgésico dependente da inibição da produção de citocinas antiinflamatórias, embora pareça também estar bastante relacionado com a produção de anexina-1, a qual tem um efeito inibitório muito potente sobre a produção de prostaglandinas (Ferreira et al., 1997).

No entanto, em processos agudos, os glicocorticóides não apresentam efeitos sobre as vias de sinalização neuronais responsáveis pela sensibilização dos nociceptores, uma vez que não são capazes de inibir a hiperalgesia induzida pelos mediadores finais da dor inflamatória, como as PGs.

Como antiinflamatórios/analgésicos, os glicocorticóides, embora eficazes, apresentam muitos efeitos colaterais relacionados principalmente com sua função hormonal endógena, o que limita seu uso crônico. Nesse sentido, existem novas perspectivas farmacológicas para o controle da dor inflamatória, as quais se baseiam na utilização de drogas que podem inibir seletivamente a síntese ou a ação das citocinas. A exemplo disso, existem medicamentos disponíveis no mercado, como os anticorpos e os receptores solúveis para TNF- α (p. ex., infliximab e etanercept) e antagonistas de receptores de IL-1 (p. ex., anakinra). Estas drogas, além de serem capazes de inibir o processo fundamental responsável pela lesão tecidual observado nas doenças inflamatórias, ainda são capazes de causar analgesia.

O tratamento das doenças inflamatórias com essas drogas seletivas contra citocinas, como TNF- α e IL-1, tem levado ao aparecimento de doenças infecciosas oportunistas, o que também limita sua utilização. Além disso, outro fator negativo dessa drogas é seu custo, tornando-a praticamente inacessível para a maioria da população em países como o Brasil.

Uma alternativa para esse problema seria a utilização de um outro antagonista de receptores para IL-1, o K(D) PT. Esse tripeptídeo, gerado a partir da estrutura da IL-1 com substituição do aminoácido central por seu estereoisômero, poderia ser sintetizado facilmente com um custo bem menor (Ferreira et al., 1988). Mais ainda, seria bastante útil para uso endovenoso na dor pós-cirúrgica, pois não induziria problemas gástricos nem de coagulação sangüínea.

Além desses antagonistas de receptor e receptores solúveis, também existem outras drogas que podem interferir na liberação de citocinas pró-inflamatórias, como a talidomida e a pentoxifilina, por exemplo. Ambas alteram a meia-vida do RNAm para TNF- α , resultando na redução de sua produção. A talidomida foi desenvolvida primeiramente como antiemético; porém seu efeito teratogênico limitou seu uso, quase o extinguindo. Entretanto, recentemente, pela observação de sua atividade inibidora da produção de TNF- α em diferentes doenças como a hanseníase e a dor do câncer, retornou novamente ao cenário farmacológico.

Já a pentoxifilina foi desenvolvida para o tratamento de doenças vasculares e apresenta perfis farmacológico e farmacocinético seguros. Clinicamente tem sido demonstrado que o tratamento com pentoxifilina diminui a necessidade do uso de opióides, o que é interessante, principalmente ao se considerar o alto grau de efeitos adversos apresentados por essas drogas.

Citocinas antiinflamatórias

A importância das citocinas hiperalgésicas no desencadeamento da dor inflamatória levou à compreensão de outro mecanismo indireto da analgesia periférica: a produção de citocinas antiinflamatórias.

Assim, observou-se que, durante um processo inflamatório, além das citocinas pró-nociceptivas, ocorria também a liberação de outras citocinas, que modulavam negativamente o processo inflamatório e, conseqüentemente, a dor inflamatória, sendo consideradas, então, antinociceptivas.

As principais citocinas antinociceptivas caracterizadas até o momento são a IL-4, a IL-10, a IL-13 e também o antagonista endógeno da IL-1, a IL-1ra, capaz de formar um complexo estável com a citocina, prevenindo a ativação de receptores celulares.

A administração exógena dessas citocinas tem se demonstrado eficiente no controle da dor inflamatória em vários modelos animais. O efeito modulador dessas citocinas sobre a dor inflamatória parece estar associado com a inibição da liberação tanto dos mediadores hiperalgésicos intermediários (citocinas pró-nociceptivas) quanto da liberação dos mediadores hiperalgésicos finais (PGs). Além disso, o efeito dessas citocinas também pode estar relacionado à inibição da ação das citocinas pró-nociceptivas, como é o caso da IL-1ra, que inibe a ação da IL-1 β por antagonizar seu receptor (Verri et al., 2006).

Drogas que bloqueiam diretamente a sensibilização já instalada

O segundo tipo de drogas que apresentam efeito analgésico periférico sobre a dor inflamatória são as drogas capazes de reverter a sensibilização dos nociceptores já estabelecida. Entre essas drogas, podemos destacar os opióides de ação periférica, a dipirona, alguns AINHs, como o diclofenaco, entre outros (Ferreira, 2002).

Os efeitos analgésicos dos opióides eram extensivamente associados às suas ações no sistema nervoso central. Contudo, além desse reconhecido efeito central, um novo conceito foi estabelecido para as ações analgésicas dos opióides, pois, no final da década de 1970, foi demonstrado, pela primeira vez, que os opióides poderiam também ter ação periférica (Ferreira; Nakamura, 1979).

A administração local (experimentalmente na pata de ratos) de morfina ou de encefalinas, ou mesmo de opióides quaternários que não atravessam a barreira hematoencefálica, é capaz de inibir a hiperalgisia inflamatória mecânica. Tal evidência foi, em primeira análise, muito criticada. Entretanto, após a demonstração da existência de receptores opióides expressos nas terminações nervosas periféricas livres, muitos grupos de pesquisadores iniciaram estudos para entender a ação analgésica periférica dos opióides. Mais ainda, esse conceito parece não estar limitado apenas a modelos experimentais, existindo vários trabalhos demonstrando a aplicabilidade clínica dos efeitos analgésicos periféricos dos opióides.

Sabia-se que a hiperalgesia inflamatória dependia da produção intracelular de AMPc e que, em vários sistemas, os receptores opióides estavam acoplados a um tipo de proteína G, a qual inibia a produção de AMPc. Então, a primeira hipótese para se explicar o efeito analgésico periférico dos opióides foi a de que estariam inibindo a produção desse segundo-mensageiro. Embora esse mecanismo possa de fato contribuir para o efeito analgésico periférico dos opióides, atualmente fortes evidências sugerem que outras ações também são importantes para seus efeitos (Fig. 19.5).

Outra droga bastante utilizada é a dipirona sódica. Esta era considerada um AINHs, uma vez que parecia ter uma ação inibitória sobre a COX. No entanto, vários trabalhos passaram a demonstrar que ela tinha efeitos que não estavam relacionados à inibição dessa enzima. Foi observado, por exemplo, que a dose necessária para inibir a dor inflamatória era bem menor que a dose necessária para produzir efeitos antiinflamatórios (inibição do edema) quando a dipirona sódica era administrada periféricamente. Também foi visto que, da mesma forma que os opióides periféricos, a dipirona era capaz de bloquear diretamente a hiperalgesia já estabelecida, induzida pela PGE2.

Ativação da via L-arginina/óxido nítrico/GMPc/ canais de K⁺ATP

No mesmo período em que se demonstrou a importância do AMPc para a gênese da hiperalgesia inflamatória, já era conhecido que, em alguns sistemas biológicos, o aumento de guanosina monofosfato cíclico (GMPc) induzia efeitos opostos aos do AMPc. Assim, várias pesquisas direcionaram seu foco para a investigação dos efeitos do GMPc sobre a hipernocicepção induzida pela PGE2, sendo verificado que a administração periférica da droga análoga ao GMPc, dibutilil-GMPc, bloqueava completamente a hipernocicepção causada pela PGE2.

A descoberta de que o óxido nítrico (NO), produzido pela ativação da enzima óxido nítrico sintase (NOS), ativava a enzima guanilato ciclase (GC) com conseqüente produção de GMPc (associado à viabilização de ferramentas farmacológicas específicas que inibiam a via bioquímica L-arginina/ NO/GMPc) permitiu demonstrar que o NO induzia antinocicepção periférica via estimulação do GMPc.

Sabendo da existência dessa possível via analgésica intracelular, testou-se a hipótese de que os efeitos analgésicos periféricos das drogas que bloqueiam a hiperalgesia instalada, como opióides e dipirona, dependia da ativação dessa via.

De fato, foi demonstrado claramente que o efeito antinociceptivo periférico dos opióides e da dipirona depende da ativação da via arginina/NO/GMPc (Fig. 19.5), o que foi confirmado por observações de que a antinocicepção periférica induzida por essas substâncias analgésicas era bloqueada por drogas inibidoras da síntese de NO (L-NMMA e L-NIO), assim como por inibidores de guanilato ciclase (como o azul de metileno).

Conforme mencionado, a excitabilidade neuronal depende da modulação da atividade de certos canais iônicos. Dessa forma, não é de se estranhar que a ativação da

via L-arginina/NO/GMPc module, em última instância, a atividade de algum tipo de canal iônico, restabelecendo a excitabilidade neuronal normal.

A ativação dessa via metabólica intracelular pelas drogas analgésicas bloqueadoras diretas da hiperalgesia parece contrapor a sensibilização dos nociceptores, por promover a abertura de canais de potássio sensíveis ao ATP (K^+_{ATP}) (Fig. 19.5), permitindo a saída desse íon da célula neuronal, o que contrabalançaria o limiar de ativação aumentado devido à modulação de canais de Na^+ e Ca^{+2} . Além disso, foi demonstrado que a modulação desses canais é feita por uma outra proteína quinase, a PKG, a qual é ativada pelo GMPc (Sachs; Cunha; Ferreira, 2004).

Tópico 06 - Considerações finais

Embora a ciência tenha avançado consideravelmente na compreensão dos mecanismos envolvidos na gênese da dor inflamatória, muitas perguntas ainda permanecem. Sabemos que existe um grande grupo de drogas que, por prevenirem a sensibilização dos neurônios nociceptivos, constituem analgésicos efetivos, melhor denominados antálgicos.

Conhecemos a importância das citocinas como alvo farmacológico no controle da hiperalgesia, mas sabemos também que, dependendo da origem do processo inflamatório (resposta imune inata *versus* resposta imune adaptativa) e do estágio em que ele se encontra, o perfil de ação das citocinas pode variar, mudando então o alvo.

Podemos chamar de *analgésicos* aquelas drogas que bloqueiam diretamente a sensibilização dos nociceptores. Tais drogas têm mostrado um perfil de efeitos colaterais bastante aceitável tanto em quadros pós-operatórios quanto em idosos, certamente melhorando a sua qualidade de vida. Embora os ensaios experimentais farmacológicos direcionados para o desenvolvimento desse grupo de drogas já existam e não apresentem dificuldades de execução, ainda se faz necessário conhecer melhor os mecanismos neuronais de sensibilização dos nociceptores. É importante também considerarmos a contribuição relativa dos vários canais de potássio, cálcio e sódio (inclusive do $NaV1.8$) para o processo de hiperalgesia, principalmente devido à sua participação fundamental no fenômeno.

Com relação às drogas analgésicas bloqueadoras diretas da sensibilização, ainda é preciso compreender melhor se essas drogas possuem seletividade para diferentes tipos de fibras nociceptivas, qual seria o mecanismo responsável pela ativação da via L-arginina/NO/GMPc/PKG/canais de K^+ sensíveis ao ATP e o que acontece com o neurônio sensibilizado quando ocorre a abertura desses canais.

Além disso, existe um interesse óbvio na pesquisa sobre os processos de cronicidade da dor inflamatória, à procura de novos alvos que permitam bloquear essa progressão.

Finalmente, podemos concluir que a dor inflamatória ainda permanece um desafio tanto para pesquisadores da área da ciência básica quanto para os clínicos em geral, já que para cada resposta obtida gera-se um grande número de novas perguntas. Entretanto, na ânsia de avançar na compreensão das vias biológicas nociceptivas, a ciência não esquece que, na verdade, ninguém quer sofrer com dor, tampouco envelhecer com ela.

Tópico 07 - Referências

- ALEY, K.O.; LEVINE, J.D. Role of protein kinase A in the maintenance of inflammatory pain. *J. Neurosci.*, v.19, n.6, p.2181-2186, 1999.
- ALEY, K.O. et al. Chronic hypersensitivity for inflammatory nociceptor sensitization mediated by the epsilon isozyme of protein kinase C. *J. Neurosci.*, v.20, n.12, p.4680-4685, 2000.
- BATTAGLIA, G.; RUSTIONI, A. Coexistence of glutamate and substance P in dorsal root ganglion neurons of the rat and monkey. *J. Comp. Neurol.*, v.277, n.2, p.302-312, 1988.
- BESSON, J.M.; CHAOUCH, A. Peripheral and spinal mechanisms of nociception. *Physiol. Rev.*, v.67, n.1, p.67-186, 1987.
- BONICA, J. *The management of pain*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1990.
- CASTRO, M.S.A.; FERREIRA, S.H. Cell migration and hyperalgesia: a paradoxical effect of endotoxin. In: *ADVANCES in inflammation research*. New York: Raven, 1979.
- COUTAUX, A. et al. Hyperalgesia and allodynia: peripheral mechanisms. *Joint Bone Spine*, v.72, n.5, p.359-371, 2005.
- CUNHA, F.Q. et al. Interleukin-8 as a mediator of sympathetic pain. *Br. J. Pharmacol.*, v.104, n.3, p.765-767, 1991.
- CUNHA, F.Q. et al. The pivotal role of tumour necrosis factor alpha in the development of inflammatory hyperalgesia. *Br. J. Pharmacol.*, v.107, n.3, p.660-664, 1992.
- CUNHA, J.M. et al. The critical role of leukotriene B4 in antigen-induced mechanical hyperalgesia in immunised rats. *Br. J. Pharmacol.*, v.139, n.6, p.1135-1145, 2003.
- CUNHA, T.M. et al. A cascade of cytokines mediates mechanical inflammatory hypernociception in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v.102, n.5, p.1755-1760, 2005.
- DEVOR, M. Unexplained peculiarities of the dorsal root ganglion. *Pain*, p.S27-35, 1999. Suppl. 6.
- DÍAZ-GONZÁLEZ, F. et al. Clinical trial of a leukotriene B4 receptor antagonist, BIIL 284, in patients with rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, v.66, n.5, p.628-632, 2007.

-
- DUBNER, R.; BENNETT, G.J. Spinal and trigeminal mechanisms of nociception. *Annu. Rev. Neurosci.*, v.6, p.381- 418, 1983.
 - DUBNER, R. et al. The correlation of monkey medullary dorsal horn neuronal activity and the perceived intensity of noxious heat stimuli. *J. Neurophysiol.*, v.62, n.2, p.450-457, 1989.
 - FERREIRA, S.H. Peripheral analgesic sites of action of antiinflammatory drugs. *Int. J. Clin. Pract. Suppl.*, n.128, p.2-10, 2002.
 - _____. Prostaglandins, aspirin-like drugs and analgesia. *Nat. New Biol.*, v.240, n.102, p.200-203, 1972.
 - _____. The role of interleukins and nitric oxide in the mediation of inflammatory pain and its control by peripheral analgesics. *Drugs*, v.46, p.1-9, 1993. Suppl. 1.
 - FERREIRA, S.H.; NAKAMURA, M.I. Prostaglandin hyperalgesia, a cAMP/Ca²⁺ dependent process. *Prostaglandins*, v.18, n.2, p.179-190, 1979.
 - FERREIRA, S.H.; LORENZETTI, B.B.; CAMPOS, D.I. Induction, blockade and restoration of a persistent hypersensitive state. *Pain*, v.42, n.3, p.365-371, 1990.
 - FERREIRA, S.H.; LORENZETTI, B.B.; POOLE, S. Bradykinin initiates cytokine-mediated inflammatory hyperalgesia. *Br. J. Pharmacol.*, v.110, n.3, p.1227-1231, 1993.
 - FERREIRA, S.H. et al. Bradykinin release of TNF-alpha plays a key role in the development of inflammatory hyperalgesia. *Agents Actions*, v.38, C7-9, 1993. Número especial.
 - FERREIRA, S.H. et al. Interleukin-1 beta as a potent hyperalgesic agent antagonized by a tripeptide analogue. *Nature*, v.334, n.6184, p.698-700, 1988.
 - FERREIRA, S.H. et al. Role of lipocortin-1 in the antihyperalgesic actions of dexamethasone. *Br. J. Pharmacol.*, v.121, n.5, p.883-888, 1997.
 - HARDY, J.D.; WOLFF, H.G.; GOODSELL, H. Experimental evidence on the nature of cutaneous hyperalgesia. *J. Clin. Invest.*, v.29, n.1, p.115-140, 1950.
 - JU, G. et al. Primary sensory neurons of the rat showing calcitonin gene-related peptide immunoreactivity and their relation to substance P-, somatostatin-, galanin-, vasoactive intestinal polypeptide- and cholecystokinin-immunoreactive ganglion cells. *Cell Tissue Res.*, v.247, n.2, p.417-431, 1987.
 - LAI, J. et al. Voltage-gated sodium channels and hyperalgesia. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, v.44, p.371-397, 2004.
 - LEVINE, J.D. et al. Leukotriene B₄ produces hyperalgesia that is dependent on polymorphonuclear leukocytes. *Science*, v.225, n.4663, p.743-745, 1984.
 - LEVINE, J.D. et al. The role of the polymorphonuclear leukocyte in hyperalgesia. *J. Neurosci.*, v.5, n.11, p.3025-3029, 1985.
 - LORENZETTI, B.B. et al. Cytokine-induced neutrophil chemoattractant 1 (CINC-1) mediates the sympathetic component of inflammatory mechanical hypersensitivity in rats. *Eur. Cytokine Netw.*, v.13, n.4, p.456-461, 2002.

-
- MCMAHON, S.; KOLTZENBURG, M. The changing role of primary afferent neurones in pain. *Pain*, v.43, n.3, p.269-272, 1990.
 - MILLAN, M.J. The induction of pain: an integrative review. *Prog. Neurobiol.*, v.57, n.1, p.1-164, 1999.
 - MILNE, R.J. et al. Convergence of cutaneous and pelvic visceral nociceptive inputs onto primate spinothalamic neurons. *Pain*, v.11, n.2, p.163-183, 1981.
 - NAKAMURA, M.; FERREIRA, S.H. A peripheral sympathetic component in inflammatory hyperalgesia. *Eur. J. Pharmacol.*, v.135, n.2, p.145-153, 1987.
 - NOBACK, C.R.; STROMINGER, N.L.; DEMAREST, R.J. *The human nervous system structure and function*. New York: Williams & Wilkins, 1996.
 - PARADA, C.A. et al. Activation of presynaptic NMDA receptors coupled to Nav1.8-resistant sodium channel C-fibers causes retrograde mechanical nociceptor sensitization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v.100, n.5, p.2923-2928, 2003.
 - PRADO, W. Medicamentos analgésicos de ação central. In: GRAEFF, F.G.; GUIMARÃES, F. S. *Fundamentos de psicofarmacologia*. São Paulo: Atheneu, 1999.
 - RANG, H.P.; BEVAN, S.; DRAY, A. Chemical activation of nociceptive peripheral neurones. *Br. Med. Bull.*, v.47, n.3, p.534-548, 1991.
 - REXED, B. A cytoarchitectonic atlas of the spinal cord in the cat. *J. Comp. Neurol.*, v.100, n.2, p.297-379, 1954.
 - _____. The cytoarchitectonic organization of the spinal cord in the cat. *J. Comp. Neurol.*, v.96, n.3, p.414-495, 1952.
 - RIBEIRO, R.A. et al. Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. *Eur. J. Pharmacol.*, v.387, n.1, p.111-118, 2000.
 - SACHS, D.; CUNHA, F.Q.; FERREIRA, S.H. Peripheral analgesic blockade of hypernociception: activation of arginine/NO/ cGMP/protein kinase G/ATP-sensitive K⁺ channel pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v.101, n.10, p.3680-3685, 2004.
 - SACHS, D. et al. Tumour necrosis factor-alpha, interleukin-1beta and interleukin-8 induce persistent mechanical nociceptor hypersensitivity. *Pain*, v.96, n.1-2, p.89-97, 2002.
 - SCHAIBLE, H.G.; SCHMIDT, R.F. Time course of mechanosensitivity changes in articular afferents during a developing experimental arthritis. *J. Neurophysiol.*, v.60, n.6, p.2180-2195, 1988.
 - SMITH, C.H. et al. Neuropeptides induce rapid expression of endothelial cell adhesion molecules and elicit granulocytic infiltration in human skin. *J. Immunol.*, v.151, n.6, p.3274-3282, 1993.
 - SNIJDELAAR, D.G. et al. Substance P. *Eur. J. Pain*, v.4, n.2, p.121-135, 2000.
 - SZALLASI, A. et al. The vanilloid receptor TRPV1: 10 years from channel cloning to antagonist proof-of-concept. *Nat. Rev. Drug Discov.*, v.6, n.5, p.357-372, 2007.

-
- TAIWO, Y.O. et al. Mediation of primary afferent peripheral hyperalgesia by the cAMP second messenger system. *Neuroscience*, v.32, n.3, p.577-580, 1989.
 - TRACEY, D.J. et al. Aspartate-like immunoreactivity in primary afferent neurons. *Neuroscience*, v.40, n.3, p.673-686, 1991.
 - VANE, J.R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nat. New Biol.*, v.231, n.25, p.232-235, 1971.
 - VERRI JR., W.A. et al. Antigen-induced inflammatory mechanical hypernociception in mice is mediated by IL-18. *Brain Behav. Immun.*, v.21, n.5, p.535-543, 2007.
 - VERRI JR., W.A. et al. Hypernociceptive role of cytokines and chemokines: targets for analgesic drug development? *Pharmacol. Ther.*, v.112, n.1, p.116-138, 2006.
 - VERRI JR., W.A. et al. IL-15 mediates immune inflammatory hypernociception by triggering a sequential release of IFN γ , endothelin, and prostaglandin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v.103, n.25, p.9721-9725, 2006.
 - WALL, P.D. The laminar organization of dorsal horn and effects of descending impulses. *J. Physiol.*, v.188, n.3, p.403-423, 1967.
 - WATKINS, L.R. et al. Mechanisms of tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) hyperalgesia. *Brain Res.*, v.692, n.1-2, p.244-250, 1995.
 - WILLIS, W.D.; COGGESHALL, R.E. *Sensory mechanisms of the spinal cord*. New York: Plenum, 1991.