

XXVI Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental (FeSBE)**1. Mobilização neural para controle da dor neuropática**

A mobilização neural (NM) é uma técnica que consiste em restaurar a mobilidade e a elasticidade do sistema nervoso periférico, principalmente após algum tipo de lesão. O presente trabalho objetivou avaliar os efeitos da mobilização neural mediante hipernocicepção induzida por modelo animal de lesão por constricção crônica do nervo ciático (CCI, *chronic constriction injury*), bem como a participação de células gliais e do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF, *brain-derived neurotrophic factor*) no sistema nervoso central. Ratos Wistar adultos foram submetidos ao modelo de CCI no nervo ciático e, 14 dias após, sessões de NM foram iniciadas, todos os dias, num total de 10 sessões. Antes e depois de cada sessão de NM, os animais foram submetidos a testes comportamentais de hipernocicepção mecânica e térmica. Após a última sessão, os animais foram decaptados e amostras do tecido talâmico foram coletadas para posterior análise da expressão de BDNF e GFAP (*Glial fibrillary acidic protein*, um marcador de ativação glial). Os animais submetidos à CCI apresentaram um decréscimo de aproximadamente 90% no limiar nociceptivo quando comparados aos animais controle. Os animais submetidos à CCI e NM apresentaram um aumento próximo de 80% nos estudos comportamentais em relação aos que não foram submetidos à NM. Ensaio de *Western blotting* apontaram que a expressão de BDNF (50%) e GFAP (150%) se encontram aumentados no tálamo, quando comparados ao grupo controle. No grupo NM, houve redução da expressão de DNF (40%) e GFAP (50%) quando comparado aos animais CCI apenas. O trabalho sugere que a técnica de mobilização neural parece ser eficiente na redução de comportamentos hipernociceptivos, dependente de células gliais, bem como da participação de BDNF. Referência: Giardini, A. C.; Santos, F. M.; Silva, J. T.; Chacur, M. *Neural mobilization for neuropathic pain control: evaluation of glial cells and brain-derived neurotrophic factor*. Anatomia / Universidade de São Paulo, USP. FESBE 2011 www.fesbe.org.br/fesbe2011/programa/final_2011.ppsx

2. O efeito antinociceptivo da crotalfina

Embora a morfina e outras drogas tipo opioides serem consideradas a principal opção para o tratamento da dor, efeitos indesejáveis induzidos por esta classe de drogas limitam seu uso. Portanto, a pesquisa de novos componentes analgésicos tem sido constantes. Os autores do presente trabalho demonstraram que a crotalfina, um peptídeo de 14 aminoácidos, induz um efeito analgésico potente e de longa duração em modelos experimentais de dor aguda e dor crônica. Este efeito é mediado por ativação de receptores opioides periféricos kappa e delta. Apesar de apresentar atividade opioide, a sequência de aminoácidos da crotalfina não mostra similaridade com nenhum outro peptídeo opioide conhecido. Além disso, resultados preliminares indicam que a crotalfina não ativa receptores opioides diretamente, uma vez que o peptídeo não é capaz de deslocar naloxona marcada ($[^3H]$ naloxone) em estudos de *binding* (Eur J Pharmacol 594; 84, 2008). Nesse sentido, baseado nos dados da literatura que demonstram uma grande interação entre os sistemas opióides e canabinóides (Proc Natl Acad Sci USA 102; 3093, 2005), o objetivo do trabalho foi caracterizar os mecanismos envolvidos no efeito antinociceptivo da crotalfina, avaliando a participação de receptores canabinóides e a possível interação desses receptores com o sistema opioide.

Foram usados ratos Wistar machos. A hiperalgesia foi induzida com prostaglandina E2 (PGE2, 100 ng/pata). O efeito antinociceptivo da crotalfina (1 µg/kg, p.o.) foi determinado com o teste de pressão na pata. O envolvimento de receptores canabinóides foi investigado através do uso de antagonistas seletivos dos receptores (CB1, AM251, 80 µg/pata e CB2,

AM630, 50 µg/pata). A participação do sistema canabinoide endógeno foi avaliada pelo uso do inibidor irreversível da FAAH, enzima responsável pela hidrólise e inativação dos endocanabinóides (MAFP, 4 µg/pata). A contribuição dos opioides endógenos na antinocicepção induzida por crotalfina foi investigada com o uso de anticorpos anti-beta-endorfina (5 µg/pata), anti-encefalina (50 µg/pata) and anti-dinorfina-A (1 µg/pata). O envolvimento dos opióides endógenos foi confirmado através da quantificação de beta-endorfina, met-encefalina e dinorfina-A liberada do tecido pela técnica de imunoenensaio enzimático. Os resultados demonstraram que antagonistas dos receptores CB1 e CB2 e anticorpo anti-dinorfina-A inibiram o efeito antinociceptivo da crotalfina. A administração local do inibidor irreversível da FAAH, MAFP, aumentou a antinocicepção periférica produzida por baixas doses de crotalfina. O imunoenensaio enzimático confirma que a crotalfina induz liberação local de dinorfina-A e este efeito é bloqueado por antagonistas de receptores CB2. De acordo com os autores, esses resultados indicam que receptores CB1 e CB2 periféricos estão envolvidos na antinocicepção induzida por crotalfina. Este efeito é dependente da liberação de opióides endógenos, particularmente dinorfina-A.

Referência: Machado, F. C.; Zambelli, V. O. ; Fernandes, A. C. O. ; Cury, Y. ; Picolo, G. Laboratório Especial de Dor e Sinalização, Instituto Butantan, SP. FESBE, 2011.

Pain in Europe VII - European Federation of IASP® Chapters (EFIC®)

3. Dor na artrite

A dor da artrite representa uma condição frequente. Há muito tempo, esse tipo de dor tem sido considerada como um protótipo de condição nociceptiva. Resultados recentes indicam alterações na abordagem fisiopatológica e tratamento dessa condição. Achados recentes relacionados com os mecanismos envolvidos na dor da artrite:

- na periferia, o osso aparece como um componente da dor: a abordagem por imagem tem mostrado boas correlações entre anormalidades no osso e a intensidade da dor;
- no cérebro, a artrite pode induzir mudanças e sensibilização, com alterações funcionais falsamente diagnosticadas como um componente de dor neuropática;
- a dor da artrite não é uma condição estável: exacerbações relacionadas com o movimento e à noite poderiam estar relacionadas a mecanismos fisiopatológicos diferentes.

A partir destes fatos, novas estratégias terapêuticas apareceram, como o uso de antidepressivos, que podem ser efetivos na dor crônica das articulações, mesmo sem desordens concomitantes do humor. O uso de anti-inflamatórios não esteroides tiveram seu uso limitado, mas uso de opioides nesta condição permanece questionável.

Agentes biológicos podem ser usados para a dor da artrite, como novos agentes biológicos, que atuam como o NGF (Fator de Crescimento derivado do Nervo), tem apresentado eficácia significativa, mas questões relacionadas com a segurança de uso podem limitar seu desenvolvimento. Agentes biológicos desenvolvidos para o tratamento de reumatismos inflamatórios, tais como anticorpos anti-TNF ou anti-IL6, podem exibir ação periférica, mas não central.

Os fatos apresentados acima levam o grupo de pesquisa deste trabalho a propor estratégias a serem utilizadas no tratamento da Artrite Reumatóide (AR), como uma nova classificação para os analgésicos:

- Analgésicos antinociceptivos para o tratamento de ataques agudos relacionados ao movimento ou com inflamação;
- Agentes analgésicos relacionados com a modificação da dor para o tratamento de longo prazo, no componente crônico.

Referências e fontes:

- S. Perrot. *Arthritis pain – lessons from a pain in motion : from the joint to the brain, from analgesics to biologics*. Clínica de Dor Reumatológica e Departamento de Medicina Interna, Hospital Santa Casa, Universidade Descartes de Paris, INSERM 987, Paris, França.
- Congresso *Pain in Europe*, Alemanha, 2011. Conflito de interesse: Serge Perrot recebe emolumentos da Sanofi-Aventis, Lilly, BMS, Pfizer, Grunenthal, MSD, Therabel, Boehringer, Janssen, Cephalon.

4. Dor neuropática versus dor de câncer

A dor é um sintoma comumente observado na fase proliferativa do câncer. Se o câncer em si ou suas terapias associadas, a cirurgia, a radioterapia ou a quimioterapia, também afetam as estruturas do sistema somato-sensorial, a intensidade e a qualidade da dor podem mudar devido a componentes de dor neuropática adicionais. Enquanto na dor neuropática várias características descritivas estão estabelecidas e validadas em diferentes questionários para distinguir a dor nociceptiva daquela de origem neuropática, o uso de questionários é limitado nos casos de pacientes com câncer. Uma estratificação detalhada é praticamente impossível para diferenciar a dor do câncer puro da dor de câncer misto, que inclui um componente neuropático. No câncer, a ativação do sistema nociceptivo é dirigida pela inflamação associada ao tumor, representada pela acidose tecidual e ativação de receptores nociceptivos por substâncias como prostaglandinas, bradicinina, ou o fator de crescimento neuronal (NGF). A sensibilização periférica nociceptiva resultante pode ocasionar sensibilização secundária. No caso do câncer relacionado com dano ao sistema somato-sensorial, descargas ectópicas podem provocar sensibilização central. O fenótipo somato-sensorial, conforme medição obtida através de testes sensoriais quantitativos difere entre o câncer e o câncer com dor neuropática, de maneira que no último, sinais e sintomas de perda sensorial são predominantes. Outros sinais de dano neuronal, tais como déficits de reflexos ou fraqueza muscular, acompanham este tipo de dor neuropática.

Achados clínicos são importantes para o tratamento farmacológico ótimo do câncer, constituindo os analgésicos opióides uma estratégia fundamental, mas necessitarão de estratégias adicionais, tais como o uso de antidepressivos e anticonvulsivantes, no caso da coexistência de um componente neuropático.

Referência: R. Rolke¹, M.I. Bennett², O. Wilder-Smith³. *Neuropathic pain versus cancer pain: common mechanisms and differences*. Congresso *Pain in Europe*, Alemanha, 2011. 1- Departamento de Medicina Paliativa, Universidade de Bonn, Bonn, Alemanha; 2- Hospício Gemmas, Medicina Paliativa, Institute de Ciências da Saúde, Universidade de Leeds, Leeds, Reino Unido; 3- Departamento de Anestesiologia, Radboud Universidade de Nijmegen, Nijmegen, Holanda.

5. A modulação cognitiva da dor

Esta apresentação é focada nos mecanismos neurobiológicos da analgesia pelo placebo, um exemplo proeminente de como a cognição pode modular a percepção da dor.

Inicialmente, o foco são os aspectos da experiência, isto é, no aprendizado da associação entre detalhes visuais e os estímulos para a dor. Como tem sido mostrado que a analgesia pelo placebo é mediada pelos opióides endógenos, foi testado o efeito de um antagonista opióide (naloxona) no aprendizado, utilizando este contexto. Subsequentemente, os mecanismos opióides que ocasionam a analgesia pelo placebo foram testados utilizando a imagem funcional dada pela ressonância magnética (fMRI), também em combinação com a naloxona.

A naloxona reduziu tanto os efeitos comportamentais como os neuronais, assim como as respostas específicas ao placebo em estruturas corticais modulatórias da dor, entre elas, o córtex cingulato rostral anterior (rACC). Uma modulação similar pela naloxona de respostas

específicas do placebo também foi observada em estruturas-chave do sistema descendente inibitório de controle da dor, incluindo o hipotálamo, a substância cinzenta periaquedutal (PAG), e o bulbo rostral ventromedial (RVM).

Em termos de conectividade, a naloxona aboliu o acoplamento específico entre o rACC e a PAG, preditivo de ambos efeitos - neural e comportamental - induzidos pelo placebo. Além disso, a fMRI de alta resolução na medula espinal humana mostrou que as respostas de dor diminuídas na analgesia pelo placebo eram paralelas à forte redução da atividade de dor na medula espinal, provendo evidência direta da inibição espinal como um dos mecanismos da analgesia pelo placebo.

Referências:

- C. Buchel. Congresso *Pain in Europe*, Alemanha, 2011.
- Neurociência de Sistemas, Universidade do Centro Médico de Hamburgo Eppendorf, Hamburgo, Alemanha.

6. Genética humana da dor e analgesia

Em um tempo em que os fármacos analgésicos são promissores em modelos animais e praticamente nulos na clínica, vale pensar onde pode estar o erro? Nos modelos animais ou na avaliação clínica? O que pode estar interferindo nesse processo?

Esse trabalho, apresentado como resumo, discute a importância de se avaliar o paciente como um todo e o quanto a genética pode influenciar na sensação dolorosa e na eficácia de fármacos analgésicos.

Um mesmo estímulo desencadeia respostas de dor muito variáveis em diferentes indivíduos, e estas respostas estão ligadas a uma herança genética. Os fatores psico-ambientais em que o paciente está inserido são tão importantes quanto. Se não controlados, ambos podem ser fontes importantes de erros e vieses em ensaios clínicos. Observa-se que a influência da genética, do ambiente e da mente/emoção difere entre vários tipos de dor e são particularmente relevantes em processos persistentes e crônicos.

Mas a genética e o ambiente influenciam não só na sensação dolorosa como na farmacocinética e na farmacodinâmica de analgésicos. Uma mutação em uma enzima metabolizadora, a exposição a produtos químicos ou interações medicamentosas podem alterar significativamente a resposta a um fármaco.

Técnicas de silenciamento de genes ou sua estimulação, bem como o controle de fatores psico-ambientais, são a chave para o sucesso da terapêutica e para o controle de variáveis entre animal e humano. A execução de uma terapia individualizada, por meio da epigenética, favorece a eficácia da resposta analgésica, endógena ou do fármaco.

Mais uma vez, ressalta-se a relevância do direcionamento genético da farmacoterapia e da importância de se avaliar e tratar o paciente como um todo. O alívio da dor é mais que a cura de uma doença, é a devolução da paz e da vida.

Referência: J. Desmeules¹, C.S. Nielsen², C. Samer³, J. Lötsch⁴. *Human genetics of pain and analgesia*. Congresso *Pain in Europe*, Alemanha, 2011.

¹Division of Pharmacology and Toxicology, Geneva University Hospital, Geneva, Switzerland, ²Department of Psychosomatics and Health Behavior, Division of Mental Health, Norwegian Institute of Public Health, Oslo, Norway, ³Division of Clinical Pharmacology and Toxicology and multidisciplinary Pain Center, Geneva University Hospitals, Geneva, Switzerland, ⁴Pharmazentrum Frankfurt/ZAFES, Institute of Clinical Pharmacology, Goethe-University, Frankfurt am Main, Germany

7. Modelos animais de dor e descoberta de novas drogas

Vários analgésicos atualmente disponíveis no mercado são compostos antigos e que, com frequência, possuem um risco/benefício insatisfatório. Além disso, os tratamentos de diversas patologias apresentam resultados ineficazes ao serem feitos com essas drogas.

Apesar do progresso na compreensão de bases neurobiológicas da dor, poucos são os conceitos de novas drogas e entidades químicas propostos no mercado. Portanto, a inovação neste campo é mais do que necessária.

Entre as alternativas para se resolver este problema, um novo caminho para o desenvolvimento de novos analgésicos tem-se baseado na substituição da utilização de animais experimentais em favor de testes mais extensos em humanos.

O uso de animais em pesquisa científica é motivo de debate nos dias atuais. Os modelos animais garantiram grandes descobertas biomédicas e acompanharam o desenvolvimento tecnológico, porém, são frequentemente questionáveis, pois, em relação à descoberta de novas drogas na última década, os estudos em animais não conseguiram gerar grandes descobertas farmacológicas no campo da dor.

É um ponto bastante importante a se discutir e pensar no que poderia ser proposto para melhorar a utilização de modelos animais, considerando-se várias questões, como por exemplo, o modelo patológico, as formas de avaliação da dor, as modalidades de administração de drogas, dentre diversos outros fatores, ou buscar novas formas alternativas no que se refere à utilização de modelos animais experimentais.

Referência: A. Eschaliier. *Animal pain models and drug Discovery*. Congresso *Pain in Europe*, Alemanha, 2011. UMR 766 Inserm, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France.

8. Acupuntura no tratamento da dor

Uma metá-análise com estudos sobre uso de acupuntura para dor lombar crônica, dor cervical crônica, osteoartrite e cefaleia crônica, além de uma revisão sobre acupuntura no manejo da dor pós-operatória está sendo realizada na Suíça, com o intuito de avaliar a eficácia e a efetividade deste tipo de tratamento. A grande dúvida, que ainda não foi sanada, é se a acupuntura tem benefícios superiores ou menores que o placebo e se isso está relacionada à perfuração de pontos ditos *pontos de acupuntura*. O estudo ainda está em análise e o resultado final será publicado no EFIC em 2011.

Referência: Streitberger, K. *Acupuncture in pain management: how much is placebo and how effective is it?* Congresso *Pain in Europe*, Alemanha, 2011. University Department of Anesthesiology and Pain Therapy, Inselspital, Bern University Hospital, Bern, Switzerland.

9. Classificação, epidemiologia e custo de transtornos de dor de cabeça

No ano em que a dor de cabeça é um tema em bastante evidencia, ela foi discutida também em um dos congressos mais relevantes de dor, o *Pain in Europe*. Falou-se da classificação internacional de dor de cabeça, a fim de descrever de forma eficaz a doença. Dentre os tipos de dor de cabeça, a famosa enxaqueca possuía dados baseados em estudos para o cálculo de custos com o tratamento e os resultados apresentados são impressionantes, dado que a enxaqueca é o segundo distúrbio neurológico com tratamento mais caro na Europa, perdendo somente para a demência.

A novidade enunciada na discussão foi a possibilidade da melhor classificação da dor de cabeça, assim como a melhora na descrição de dados epidemiológicos envolvidos. Desta forma, mais estudos focados neste assunto serão importantes para que seja possível a redução de custos no tratamento da doença e uma maior eficácia destes.

Referência: Olesen, J. *Classification, epidemiology and cost of headache disorders*. Congresso *Pain in Europe*, Alemanha, 2011. University of Copenhagen, Copenhagen, Denmark.

10. O efeito do estresse oxidativo no processamento da dor

O estresse oxidativo tem sido amplamente descrito em animais e no homem. Estresse oxidativo é o resultado de um desequilíbrio entre a produção de radicais livres e sua degradação. Há muito tempo se sabe que a lipoperoxidação pode prejudicar a estrutura e



função do tecido nervoso por diminuir a atividade da Na/K ATP-ase. O estresse oxidativo também tem um papel importante nos eventos que conduzem à ativação de caspase e ativação glial. Processos dolorosos são condições conhecidas que levam à geração de radicais livres. Além disso, evidências crescentes mostram que o estresse oxidativo tem um papel importante nos mecanismos da dor, especialmente nas dores neuropáticas e inflamatórias, e antioxidantes têm sido usados como agentes antinociceptivos em vários estudos. Em relação aos mecanismos de dor em estudos animais, espécies reativas de oxigênio têm mostrado um importante papel na alodinia e na hiperalgesia, principalmente por sensibilização central, como também na patogênese da artrite reumatóide. Antioxidantes e *scavengers* de radicais livres tem demonstrado a capacidade de reduzir dor neuropática e danos na cartilagem. Recentemente foi mostrado que o estresse oxidativo é evocado até mesmo em processos dolorosos rotineiros em recém-nascidos e que tecidos em desenvolvimento são particularmente susceptíveis à toxicidade dos radicais livres.

Referência: S. Vaculin, M. Franek, J. Fricova, P. Stopka, M. Vejrazka, R. Rokyta, T. Pufe, A. Fragoulis, C. Wruck, C., Bellieni, G. Buonocore, L. Luongo, C. Giordano, S. Maione. *The effect of oxidative stress in pain processing*. Congresso *Pain in Europe*, Alemanha, 2011.