

Caderno de Divulgação Científica**1. Programa de computador pode ser ferramenta para detectar dor em animais**

Como podemos saber se um animal, seja ele de estimação ou os criados em fazendas, está sentindo dor? No laboratório de computação de Cambridge tem sido desenvolvido um sistema de inteligência artificial que tem a capacidade de reconhecer cinco expressões faciais diferentes em animais, como ovelhas, por exemplo, sendo capaz de estimar se o animal está sofrendo e o quão severo seria este desconforto. O sistema é formado por câmeras, colocadas em tanques de água, o qual permite que os agricultores monitorem os animais quando estes se aproximam e emitam um aviso caso o animal apresente um comportamento característico, o que pode ser um indicativo de doenças e, assim, um tratamento precoce pode ser iniciado. A maioria dos trabalhos que estuda a face dos animais foram realizados por Charles Darwin, que já dizia que todos os seres humanos e muitos animais demonstram emoções através de comportamentos muito semelhantes. Assim, os pesquisadores de Cambridge pensaram que provavelmente deveria haver uma relação entre as expressões faciais de humanos com as que os animais demonstram em diferentes situações, como quando estão sentindo dor.

O programa de computador utiliza algoritmos para procurar sinais de dor nos animais, tais como: estreitamento dos olhos, o aperto das bochechas, as orelhas dobrando para frente, os lábios puxando para baixo e para trás e as narinas mudando de uma forma de U para uma forma de V.

Os pesquisadores ainda mencionam que, interessantemente, é possível ver uma clara analogia entre as alterações nos rostos das ovelhas e expressões faciais semelhantes nos seres humanos quando sofrem. Para padronizar o modelo os pesquisadores utilizaram cerca de 500 fotografias de ovelhas, que foram coletadas por veterinários no decorrer do estudo.

Nas ovelhas a dor severa está associada a enfermidades como a podridão da pata, uma condição extremamente dolorosa e contagiosa que faz com que a pata apodreça. Outro exemplo é a mastite, uma inflamação na mama das ovelhas causada por lesão ou infecção bacteriana. Ambas os casos são comuns em grandes rebanhos e espera-se que a detecção precoce leve ao diagnóstico e a um tratamento mais rápido e, assim, ao alívio da dor destes animais.

Ainda, os pesquisadores esperam que esta ferramenta possa ser utilizada em outros tipos de animais, tais como roedores usados em pesquisa animal, animais de estimação como cães e gatos e também em cavalos.

O estudo foi apresentado em junho na 12ª Conferência Internacional sobre Reconhecimento Automático de Faces e Gestos em Washington nos EUA.

Referência: Lu, Y., Mahmoud, M., Robinson, P. Estimating Sheep Pain Level Using Facial Action Unit Detection. 12th IEEE International Conference on Automatic Face and Gesture Recognition, Washington, DC, EUA em 30/05 a 3/06 de 2017.

Alerta submetido em 01/06/2017 e aceito em 05/06/2017.

2. Estudo clínico mostra neuroinflamação em dor neuropática periférica

Um estudo recente trouxe dados clínicos sobre a existência de quimiocinas inflamatórias no fluido cefalorraquidiano de pessoas com dor neuropática. As concentrações das quimiocinas CXCL6, CXCL10, CCL8, CCL11, CCL23 foram encontradas aumentadas em relação ao fluido de pacientes saudáveis. Foram utilizadas amostras obtidas de dois grupos de pacientes, com dor neuropática ou controles saudáveis, totalizando 38 pacientes. Os autores sugerem um estudo mais amplo com um maior número de pacientes para estabelecer uma relação causal dos dados encontrados. Entretanto, as comorbidades associadas à dor neuropática, como depressão, insônia e ansiedade, podem estar associadas a esta neuroinflamação.

Referência: Bäckryd E, Lind AL, Thulin M, Larsson A, Gerdle B, Gordh T. High levels of cerebrospinal fluid chemokines point to the presence of neuroinflammation in peripheral neuropathic pain - a cross-sectional study of two cohorts of patients compared to healthy controls. Pain. 2017 Sep 18. doi: 10.1097/j.pain.0000000000001061. [Epub ahead of print]

Alerta submetido em 27/09/2017 e aceito em 27/09/2017.

3. Protocolo de atenção básica para dor crônica

Trata-se de um documento de elaboração de um protocolo para o manejo da dor crônica voltado para as equipes de atenção básica. Este protocolo serve como material de consulta para os profissionais de saúde, com acompanhamento e revisões periódicas.

O Departamento de Atenção Básica, Secretaria de Atenção à Saúde, Ministério da Saúde, em parceria com o Instituto de Ensino e Pesquisa do Hospital Sírio-Libanês, com o objetivo de agilizar procedimentos de equipes na Atenção Primária à Saúde/Atenção Básica (APS/AB), tem produzido materiais técnicos para o processo de trabalho dos profissionais que atuam nessa área.

Para que a APS/AB possa cumprir seu papel na Rede de Atenção à Saúde (RAS), é fundamental que a população reconheça que as Unidades Básicas de Saúde (UBS) estão próximas ao seu domicílio e podem resolver grande parte de suas necessidades em saúde.

Um levantamento realizado pelo núcleo do Telessaúde Brasil Redes a partir dos chamados do 0800, entre os vinte principais motivos de chamado, cinco fazem referência à dor crônica, seja relacionada a ossos, músculos, articulações, cefaleias, ou outras morbidades e isso foi determinante na escolha deste tema para a elaboração do Protocolo da Atenção Básica. A dor é uma experiência subjetiva e pessoal, envolvendo aspectos sensitivos e culturais que podem ser alterados pelas

variáveis socioculturais e psíquicas do indivíduo, sendo que a dor crônica pode ser definida como a dor contínua que muitas vezes não desaparece com o emprego dos procedimentos convencionais, sendo \causa de incapacidades.

O protocolo busca qualificar a atenção ao cuidado da dor crônica, a tomada de decisão, a educação, o respaldo técnico e a melhoria do acesso dos profissionais da APS/AB com base nas evidências.

Referência: Proposta de Elaboração Escopo Protocolo de Atenção Básica – Dor Crônica. CONITEC 2017. [Internet] Disponível em: http://conitec.gov.br/images/Enquete/Proposta_escopo_Protocolo_de_atencao_Basica_-_Dor_Cronica.pdf

Resultado da enquete: http://conitec.gov.br/images/Enquete/Resultado_Enquete15.pdf

Alerta submetido em 01/08/2017 e aceito em 22/08/2017.

4. Sensação de dor em humanos com osteoartrite em joelho é agravada pela diabetes mellitus

A osteoartrite (OA) no joelho é um tipo de inflamação de articulação associada a uma degeneração dos tecidos flexíveis, o que gera muita dor em pacientes com essa patologia. O objetivo do estudo foi explorar a possível influência da diabetes mellitus (DM) na intensificação da dor e identificar os possíveis fatores relacionados.

O estudo contou com uma amostra de 70 pessoas, onde todas elas apresentavam OA em estágio final e todas fizeram a artroplastia total de joelho, onde o líquido sinovial foi coletado para análise e a integridade das cartilagens foi avaliada, assim como o nível de inflamação tecidual das mesmas. Da amostra total, 23 pacientes apresentavam o diagnóstico de diabetes mellitus e 47 não apresentavam.

Os dados obtidos a partir da análise do fluido sinovial e das cartilagens revelaram que pacientes com DM apresentam maior concentração de interleucina-6 no fluido sinovial e índices mais graves de inflamação na membrana sinovial, que contribuem para a maior intensidade da dor. O estudo sugere que o controle rigoroso da DM e o tratamento da sinovite seriam efetivos para a redução da dor e aumento da qualidade de vida de pacientes com DM e OA.

Referência: Eitner, A; Pester, J; Vogel, F; Marintschev, I; Lehmann, T; Hofmann, GO; Schaible, HG. Pain sensation in human osteoarthritic knee joints is strongly enhanced by diabetes mellitus. Pain. 2017, 158(9):1743-1753.

Alerta submetido em 10/10/2017 e aceito em 10/10/2017.

5. Serão os reguladores da expressão gênica a nova classe de medicamentos analgésicos?

No mundo inteiro mais de 20% da população adulta sofre de diferentes tipos de dores crônicas, as quais estão associadas a uma variedade de comorbidades e diminuem a qualidade de vida dessas pessoas. Atualmente, os analgésicos disponíveis no mercado apresentam eficácia insuficiente e muitas vezes uma série

de efeitos adversos. Uma possível saída para este problema seriam drogas que atuam modulando a expressão de genes que sofrem modificações numa situação dolorosa. Diferentes tipos de mecanismos epigenéticos alteram de forma significativa a regulação da expressão gênica, provavelmente por longos períodos, os quais têm sido associados com a patofisiologia da dor. Nos últimos anos uma série de estudos vem sendo realizados, principalmente em animais de laboratório, os quais demonstraram que drogas que atuam regulando a expressão de genes têm a capacidade de reverter um número significativo de mudanças patológicas no epigenoma da dor, alterando a expressão de genes que são relevantes para a sensação dolorosa. Esta modulação epigenética pode reduzir a resposta dos neurônios nociceptivos, aqueles que transmitem a dor, e assim seriam uma nova opção terapêutica para o tratamento da dor crônica. Os dados disponíveis até o momento sugerem que estes moduladores epigenéticos podem ser utilizados em combinação com drogas analgésicas tradicionais, aumentando a eficácia dessas drogas. Porém, ainda que promissores, mais estudos precisam ser realizados, tanto em animais, mas principalmente em pesquisa clínica, uma vez que uma variedade de efeitos inespecíficos pode ocorrer. Uma outra questão a ser esclarecida é de como essas drogas chegariam a células e tecidos específicos para modular o epigenoma da dor. Neste momento, o desenvolvimento de modificadores epigenéticos bem-tolerados como terapia clínica para as condições de dor crônica ainda são um desafio a ser alcançado.

Referência: Niederberger E, Resch E, Parnham MJ, Geisslinger G. Drugging the pain epigenome. *Nat Rev Neurol.* 2017 Jul;13(7):434-447. doi: 10.1038/nrneurol.2017.68. Epub 2017 May 26.

Alerta submetido em 26/05/2017 e aceito em 05/06/2017.

Caderno de Ciência e Tecnologia

6. Os modelos de animais naturalmente doentes podem ser o elo perdido entre os modelos pré-clínicos e aplicação clínica?

Esta revisão traz propostas acerca dos atuais modelos animais para o desenvolvimento de terapias em humanos.

Nas últimas décadas houve um grande avanço tecnológico na área de desenvolvimento de novos medicamentos, apesar disso, os novos fármacos experimentais que vão para a fase de testes com seres humanos (fase clínica) têm maiores chances de obterem resultados insatisfatórios do que os fármacos testados na década de 70. Os modelos de doenças animais utilizados atualmente são questionados levando-se em conta que o processo patológico da maioria das doenças é amplamente complexo e multifatorial, e que dificilmente é possível reproduzir todas as suas variantes em um laboratório.

Além disso, outra crítica ao modelo animal atual é a representatividade deste para a população. Na maioria das pesquisas pré-clínicas com modelos de dor, por exemplo, se utilizam ratos machos e jovens, sendo que a população mais afetada por dores moderadas a intensas é representada por mulheres adultas a idosas.

O uso de animais que, naturalmente, desenvolveram a doença poderia trazer diversas vantagens como, por exemplo, maior variabilidade genética, sexual e etária entre as espécies. Em contrapartida, uma das desvantagens desse novo modelo seria a maior complexidade de análise e a quantidade de espécies estudadas, que poderiam ser insuficientes. De todo modo, este novo modelo poderia ser difundido em clínicas multicêntricas de pesquisa, onde se estudaria tanto a doença animal quanto a humana, fazendo continuamente correlações entre ambas e frisando sempre que o processo patológico de diversas doenças compartilhadas entre o ser humano e o animal é idêntico. Como por exemplo, temos a osteoartrite, diabetes, acidentes vasculares, doenças inflamatórias e alguns tipos de câncer.

Não obstante, prováveis barreiras na implementação desse novo modelo animal podem ser citadas. Discorrendo sobre os detalhes do modelo, seria imprudente não abordar as diferenças éticas entre testes com animais criados para este fim e com animais de criação ou domésticos, além disso, ainda teríamos como barreiras as diferenças de tratamento entre os animais domesticados e os de criação, acometidos pela mesma doença, e como esta diferença seria refletida nas análises. Este novo modelo apresenta benefícios, tanto para o desenvolvimento de novos medicamentos para animais, quanto para humanos, além de possibilitar um maior e melhor entendimento sobre doenças que afetam os dois lados. Logo, tendo em vista o insucesso no desenvolvimento de novos medicamentos, estamos em tempo apropriado para o levantamento de algumas questões relacionadas aos atuais métodos utilizados na pesquisa científica.

Referência: Klinck MP, Mogil JS, Moreau M, Lascelles BDX, Flecknell PA, Poitte T, Troncy E. Translational pain assessment: could natural animal models be the missing link? *Pain*. 2017, 158(9):1633-1646.

Alerta submetido em 03/10/2017 e aceito em 03/10/2017.

7. Novo modelo in vitro para fibromialgia

Um estudo recente mostra um modelo experimental para estudar a ativação de micróglia em estudos sobre dor crônica. Células humanas do tipo glia foram criadas a partir de monócitos do sangue. Utilizando linhagens produzidas com sangue de pacientes com fibromialgia e pacientes saudáveis foi possível estudar a ativação diferencial destas células tipo glia estimuladas por ATP (adenosina trifostato). Os perfis de RNA mensageiro para TNF- α e da própria proteína foram mais aumentados para as células tipo glia de pacientes com fibromialgia do que as células oriundas de pacientes saudáveis. Os autores sugerem uma hipersensibilidade da micróglia de pacientes com fibromialgia para o ATP.

Referência: Ohgidani M, Kato TA, Hosoi M, Tsuda M, Hayakawa K, Hayaki C, Iwaki R, Sagata N, Hashimoto R, Inoue K, Sudo N, Kanba S. Fibromyalgia and microglial TNF- α : Translational research using human blood induced microglia-like cells. Sci Rep. 2017; 7(1):11882.

Alerta submetido em 27/09/2017 e aceito em 27/09/2017.

8. A resposta imune do macrófago frente ao Glicolípido Fenólico 1 da *Mycobacterium leprae* e a neuropatia periférica na doença de Hansen

A Hanseníase é uma doença crônica, transmissível, capaz de infectar grande número de pessoas, de notificação e investigação compulsória, causada pela bactéria *Mycobacterium leprae*. A transmissão se dá de uma pessoa doente sem tratamento para outra, após um contato próximo e prolongado, especialmente os de convivência domiciliar. Apesar de erradicada na maioria dos países europeus, a hanseníase é frequente em países de clima tropical e afeta 14/100 mil habitantes no Brasil (dados do Ministério da Saúde referentes a 2015).

A hanseníase é uma das causas de neuropatia periférica. É muito comum, mas pouco diagnosticada. A mononeurite é a forma mais comum de apresentação da hanseníase, sendo os nervos dos membros superiores mais frequentemente atingidos. O envolvimento cutâneo cursa com lesões desfigurantes, sendo estas responsáveis pelo estigma que a doença ainda acarreta. Até o momento, estudos mostravam que o *M. leprae* afetava o processo de mielinização por infectar e diferenciar células de Schwann, responsáveis pela mielinização dos nervos periféricos. Estes estudos apontaram o Glicolípido Fenólico 1 (GF1) presente na membrana externa do *M. leprae* como crítico para esta infecção. A principal limitação na investigação nesta área surge da incapacidade de cultivar o *M. leprae*, um patógeno intracelular obrigatório.

Neste estudo desenvolvido por pesquisadores das Universidades de Washington, Stanford e Califórnia, foi utilizado um modelo animal para o estudo de micobactérias em zebrafish, primeiramente padronizado para a *Mycobacterium marinum* que, de forma similar ao *M. leprae*, cresce em temperaturas próximas a 30°C e induz infecções granulomatosas em humanos. Contudo, o *M. marinum* não é capaz de causar neuropatia. Em um estudo prévio o grupo já havia observado que similar a *M. marinum*, a *M. leprae* foi eficaz em causar a infecção de larvas de zebrafish, interagindo com macrófagos e levando ao desenvolvimento de granulomas, semelhante ao *M. marinum*. Diferente do *M. marinum*, a *M. leprae* foi capaz de causar dano axonal. Contudo, neste estudo foi observado que, quando foi feita a expressão do GF1 na *M. marinum*, a infecção por esta bactéria também levou a danos nos nervos periféricos de maneira similar a infecção por *M. leprae* causando, inclusive, as "protuberâncias de mielina", confirmando a importância do GF1 para o processo de lesão dos nervos periféricos que pode resultar no desenvolvimento de neuropatia. Este achado foi ainda confirmado em experimentos in vivo. É importante observar que macrófagos responderam de maneira similar à infecção por *M. leprae*, *M. marinum* e *M. marinum*-GF1 em relação à capacidade de

afetar o processo de mielinização. Contudo, apenas *M. leprae* e *M. marinum*-GF1 foram capazes de levar aos danos axonais, antes mesmo de afetar o processo de mielinização, e de causar as modificações na mielina, como o desenvolvimento de protuberâncias. Além disso, os pesquisadores demonstraram que macrófagos infectados pelo *M. leprae*, ao invés da micobactéria em si, é que iniciam os danos e desmielinização aos nervos periféricos, similar ao papel de macrófagos descrito na esclerose múltipla e síndrome de Guillain-Barré.

Assim, o estudo lança um novo olhar sobre essas e outras doenças neurodegenerativas em que células mieloides são cada vez mais reconhecidas como contribuindo para a neuropatologia da doença, bem como fornece um sistema experimental no qual elas podem ser exploradas.

Referência: Madigan CA, Cambier CJ, Kelly-Scumpia KM, Scumpia PO, Cheng TY, Zailaa J, Bloom BR, Moody DB, Smale ST, Sagasti A, Modlin RL, Ramakrishnan L. A Macrophage Response to Mycobacterium leprae Phenolic Glycolipid Initiates Nerve Damage in Leprosy. *Cell*. 2017, 170(5):973-985.e10.

Alerta submetido em 27/09/2017 e aceito em 03/10/2017.

9. Tratamento com propranolol previne a sensibilização central crônica induzida por estimulação dural repetida

A enxaqueca é um transtorno neurológico crônico com manifestações episódicas, caracterizada por dor de cabeça unilateral, pulsante e severa, com duração de 4-72 horas, acompanhada de disfunção do sistema nervoso autônomo e vários sintomas neurológicos, incluindo alodinia cutânea. A maioria das pessoas que apresenta enxaqueca não piora ao longo do tempo. Em alguns pacientes, no entanto, a frequência de ataque de enxaqueca aumenta, levando à enxaqueca crônica, uma forma de enxaqueca altamente incapacitante caracterizada por dores de cabeça por 15 dias ou mais no mês.

A terapia preventiva diária é iniciada para diminuir a frequência dos episódios. Um estudo publicado recentemente testou a hipótese de que a terapia com propranolol previne o desenvolvimento de um estado crônico de sensibilização central sob nocicepção meníngea repetida.

Pesquisadores da França avaliaram por meio de testes comportamentais, imunohistoquímica e eletrofisiologia in vivo no núcleo trigeminal o impacto do tratamento diário com propranolol nas mudanças induzidas pela estimulação repetida da dura-máter com uma sopa inflamatória (IS). O propranolol foi administrado por gavagem em ratos durante 8 dias e o modelo de ativação recorrente de nociceptores duros foi realizado através de uma infusão repetida de sopa inflamatória (IS) na dura-máter num intervalo de 2 a 3 dias. A IS foi composta por histamina, serotonina, bradicinina e PGE2.

Os pesquisadores mostraram que a terapia com propranolol não alivia a alodinia mecânica cefálica aguda induzida por IS, mas bloqueia especificamente o desenvolvimento de um estado crônico de hipersensibilidade cutânea após injeções da IS repetidas.

Este estudo esclarece uma questão de longa data no campo das terapias preventivas usadas por indivíduos com enxaqueca crônica, a saber, como o propranolol pode reduzir a frequência de dor de cabeça. Os resultados sugerem que o propranolol exerce sua ação profilática, pelo menos em parte, através do bloqueio da sensibilização crônica dos controles descendentes da dor, decorrente do Bulbo Ventromedial Rostral (RVM) e locus coeruleus (LC) e, por sua vez, impedindo a manutenção de um estado de transmissão trigeminovascular facilitada dentro do complexo trigeminocervical. Avaliar as mudanças nessas áreas do cérebro tem potencial para elucidar os mecanismos de transformação da enxaqueca e para elucidar o desenvolvimento de uma nova terapia preventiva para enxaqueca crônica.

Referência: Boyer N, Signoret-Genest J, Artola A, Dallel R, Monconduit L. Propranolol treatment prevents chronic central sensitization induced by repeated dural stimulation. *Pain*. 2017, 158(10):2025-2034.

Alerta submetido em 02/10/2017 e aceito em 03/10/2017.

10. Canal iônico HCN2 modula a dor durante modelo de neuropatia diabética em camundongos

Nos últimos anos uma classe de canais iônicos vem chamando atenção por desempenharem um importante papel em diferentes condições dolorosas, os chamados Canais Iônicos ativados por Hiperpolarização e Nucleotídeos Cíclicos (HCN). Existem quatro isoformas de HCN, HCN1 ao HCN4, sendo que o canal HCN2 em específico está expresso em fibras nociceptivas de pequeno diâmetro, importantes na condução da dor. Recentemente, o mesmo grupo que descreveu pela primeira vez a importância deste canal na dor (Emery et al., 2011) publicou um estudo na prestigiada revista *Science Translation Medicine* demonstrando que este canal também modula a neuropatia diabética, uma condição que aflige cerca de 1 em cada 4 pacientes com diabetes. Os autores induziram dois modelos animais diferentes de diabetes, o induzido por estreptozotocina (que induz diabetes do tipo 1 em camundongos, devido à destruição das células β do pâncreas) e o do tipo 2, através da utilização de camundongos db/db que apresentam uma mutação no receptor de leptina, tornando-se obesos e hiperglicêmicos quando atingem a idade adulta. Em ambos os modelos os pesquisadores do King's College London, no Reino Unido, observaram que o tratamento com um bloqueador não seletivo dos canais HCN, a ivabradina, reduziu a dor neuropática diabética. Ainda, no modelo induzido pela estreptozotocina, camundongos geneticamente modificados que não expressam o canal HCN2 nas fibras nociceptivas Nav1.8 positivas também apresentaram redução da alodinia mecânica associada ao diabetes. Além disso, foi demonstrado que os níveis intracelulares de AMPc, um modulador positivo do HCN2, estão aumentados nos neurônios sensoriais de animais com neuropatia diabética, sugerindo que um aumento nos níveis intracelulares de AMPc leva à dor associada com o diabetes. Este mecanismo induz subsequentemente a ativação do canal HCN2 e, conseqüentemente, promove a ativação repetitiva dos neurônios

nociceptivos de pequeno diâmetro, o que ocasiona a dor. Os autores sugerem que os canais do tipo HCN2 podem ser um importante alvo terapêutico para o tratamento da dor neuropática diabética, uma condição pobremente tratada pelos analgésicos disponíveis atualmente no mercado.

Referências: Tsantoulas C, Laínez S, Wong S, Mehta I, Vilar B, McNaughton PA. Hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated 2 (HCN2) ion channels drive pain in mouse models of diabetic neuropathy. *Sci Transl Med.* 2017. Emery EC, Young GT, Berrocoso EM, Chen L, McNaughton PA. HCN2 ion channels play a central role in inflammatory and neuropathic pain. *Science.* 2011, 333 (6048): 1462-6.

Alerta submetido em 07/10/2017 e aceito em 10/10/2017.