

Nav 1.8

Andreza Urba de Quadros *

Nav são canais de sódio dependentes de voltagem, e temos abordado cada um deles nos editoriais do DOL (você pode consultar em <http://www.dol.inf.br/Html/EditoriaisAnteriores.html>). Este mês, você saberá um pouco mais sobre um dos mais importantes Navs no contexto da dor: o 1.8.

Antes de falarmos sobre o Nav1.8, vamos relembrar alguns conceitos importantes sobre esses canais. Navs são a base da geração e condução do potencial de ação nos neurônios, e são formados por subunidades α e β . As subunidades α são responsáveis pela formação do poro do canal, por onde passam os íons Na^+ , e compostas por 9 membros, cada um dos quais determina um canal diferente, nominados Nav1 a 9. Cada subunidade α pode estar co-expressa com uma ou mais subunidades β , resultando em diferentes propriedades biofísicas e em efeitos moduladores na atividade do canal.

O canal Nav1.8 é codificado pelo gene SCN10A e está expresso em neurônios sensoriais, majoritariamente de pequeno diâmetro (50-85% de fibras C e 9,5-13% em fibras A) – daí sua importância no contexto do estudo da dor. Nav1.8 pode ser encontrado tanto nas terminações livres dos nociceptores, como também nos nódulos de Ranvier - ao longo do axônio periférico e no corpo celular do neurônio primário, o gânglio da raiz dorsal (GRD). Não há qualquer expressão de Nav1.8 no sistema nervoso central: nem na medula espinal, nem no cérebro.

Nav1.8 é o principal canal Nav resistente à tetrodotoxina (TTX). A TTX, extraída do baiacu, é capaz de bloquear a atividade dos canais 1.1 a 1.7, mas não dos canais 1.8 e 1.9 – os mais modulados durante a dor. O resíduo aromático (Phe/Tyr) no ligante extracelular S5-6 no domínio 1 - crítico para ligação de TTX aos canais de sódio - é substituído por um resíduo Ser em Nav1.8, conferindo resistência a TTX. Ainda assim, a geração do potencial de ação depende de ambos, canais sensíveis e resistentes à TTX. A diferença se dá mais quando queremos estudar os canais 1.8 e 1.9. Bloqueamos os canais sensíveis com TTX e isolamos a atividade apenas desses dois últimos, resistentes – o que permite uma maior acurácia no estudo do papel desses canais na dor.

As principais características biofísicas de Nav1.8 são a abertura em potenciais positivos (despolarização), o fechamento em potenciais negativos (hiperpolarização), a lenta inativação e a rápida recuperação após inativo, o que resulta em correntes mais prolongadas que qualquer outro canal Nav. Mais interessante, Nav1.8 é o canal mais resistente a inativação por estímulos frios, o que o torna importante no reconhecimento desse tipo de estímulo.

Nav1.8 é o canal Nav mais relevante na fisiopatologia da dor – tanto por suas características biofísicas, como por sua localização. É o canal mais extensivamente estudado e estabelecido como alvo farmacológico nesse contexto. Seria possível citar inúmeros estudos neste editorial, com resultados importantes,

demonstrando a participação de Nav1.8 na dor. Tentaremos resumir esses dados, mas você pode consultá-los extensivamente nas referências bibliográficas citadas ao final deste texto.

Sabemos que Nav1.8 está diretamente relacionado à gênese da dor aguda em diferentes modelos experimentais, como CFA e carragenina, capsaicina e óleo de mostarda, não apenas na pata, mas também no peritônio, indicando a participação desses canais também na dor visceral. Um estudo mostrou, por exemplo, que a hiperexcitabilidade de neurônios do GRD está reduzida em animais deficientes para Nav1.8 em modelo experimental de jejunitis. Além disso, correntes de Nav1.8 aumentaram significativamente em modelos de gastrite, inflamação do trato urinário e colite.

Dessa forma, poderíamos pensar em duas opções: Nav1.8 está sendo mais expresso e/ou sua função está sendo modulada durante estímulos inflamatórios e nociceptivos, aumentando as correntes de sódio por ele geradas. De fato, sabemos que ambas as coisas acontecem, dependendo do estímulo. No caso da inflamação, a liberação local de mediadores inflamatórios por células imunes e lesadas é capaz de levar ao aumento da função de Nav1.8, por diferentes mecanismos. Alguns mediadores inflamatórios, como prostaglandina E2 (PGE2), bradicinina, adenosina, serotonina, TNF- α , IL-1 β , CXCL12, CXCL13 e endotelina-1 (ET-1) são capazes de induzir a fosforilação de Nav1.8, por exemplo, via proteína quinases (PKA, PKC e p38). Essa reação leva ao aumento da amplitude das correntes de sódio de Nav1.8 e à mudança na dinâmica de ativação e inativação do canal – tornando-o ainda mais rápido e fácil de abrir e mais lento em inativar.

Não apenas na dor aguda e inflamatória, mas Nav1.8 está também envolvido na gênese e manutenção da dor crônica neuropática – de forma tão relevante que, em animais deficientes para Nav1.8 pode haver total impedimento da geração de qualquer hiperalgesia em alguns modelos experimentais. Após a lesão do nervo, há uma completa reorganização do nível de expressão, localização e função de Nav1.8 ao longo do neurônio. Os canais passam a ser expressos, por exemplo, nos neuromas em torno do local lesionado, levando não apenas à hipersensibilização do neurônio, mas também à geração de disparos ectópicos espontâneos. Animais deficientes para Nav1.8 apresentam até 50% menos disparos espontâneos que animais Nav1.8 normais, após uma lesão no nervo safeno, por exemplo. Em modelo experimental de ligação do nervo espinal, há co-localização de MAPK e p38 com Nav1.8 no neuroma. A fosforilação resultante dessa interação leva a um aumento nas correntes de Nav1.8 e na sensibilização do neurônio.

Entretanto, o fato de Nav1.8 ter sua função aumentada no nervo lesionado não significa que está mais expresso. Estudos mostram que os níveis de expressão propriamente dita do canal estão reduzidos nos neurônios lesionados, mas aumentados em neurônios vizinhos, reforçando o conceito de reorganização que acontece durante a dor neuropática. Somam-se, portanto, função aumentada no local da lesão e função e expressão aumentadas em neurônios vizinhos – o cenário perfeito para a hipersensibilização do neurônio e geração de potenciais

espontâneos. Essa reorganização foi observada não apenas em roedores, mas também em humanos. Em pacientes com lesão do plexo braquial, Nav1.8 está reduzido nos GRD cervicais, mas aumentados nas fibras periféricas próximas ao local da lesão.

De uma maneira geral, após a lesão de um nervo, há uma reação inflamatória inicial, no sentido de reparar o tecido danificado. Nesse contexto, há liberação de diversos mediadores inflamatórios, que como já vimos, são capazes de modular a função de Nav1.8. Mas no contexto de lesão do nervo, somam-se ainda fatores de crescimento, como o NGF, BDNF e GDNF – todos capazes de aumentar a função de Nav1.8. O NGF, por exemplo, aumenta a densidade da corrente de TTX-R em subpopulações específicas de neurônios sensoriais, levando a um aumento da excitabilidade aferente nociceptiva.

Não apenas na dor neuropática induzida por lesão mecânica, mas também na neuropatia diabética, Nav1.8 é bastante relevante. Em modelo experimental de diabetes induzida por estreptozotocina (STZ), apesar de haver uma redução na expressão de Nav1.8, há um significativo aumento na corrente em neurônios de pequeno diâmetro, além de alteração nos tempos de ativação e inativação do canal, o bastante para gerar hipersensibilidade. Esse dado nos revela que a alteração de função é biologicamente mais relevante que a alteração na expressão do canal, ao ponto de uma poder compensar a redução da outra. Um trabalho muito bonito e bastante citado, publicado na revista Nature, mostra que o metilglioxal, um metabólito da glicose que se acumula na diabetes, é capaz de facilitar a abertura de Nav1.8. Também, o bloqueio de Nav1.8 em ratos diabéticos com a molécula Abbott A803467, é capaz de atenuar a alodinia mecânica e a hiperalgesia térmica mais eficazmente que o tratamento com lidocaína.

Além de mediadores inflamatórios, proteínas quinases e fatores de crescimento, a análise proteômica identificou outras moléculas capazes de alterar a função de Nav1.8. Um dos mecanismos de regulação fisiológica da excitabilidade neuronal é a internalização de canais Nav para o retículo endoplasmático, reduzindo sua disponibilidade na membrana e conseqüentemente a função resultante. Esse processo é principalmente regulado por clatrina e pela ubiquitina ligase Nedd4-2. Algumas moléculas, no entanto, resgatam os canais do retículo, tornando-os disponíveis novamente – moléculas geralmente moduladas após inflamação ou lesão do nervo. A anexina II, por exemplo, expressa em altos níveis no GRD, se liga diretamente ao terminal amino de Nav1.8, facilitando sua translocação para a superfície celular e, portanto, aumentando as correntes funcionais. Outra molécula que aumenta o trânsito de canais para a membrana celular é a cinesina KIF5BA, cuja afinidade pelo canal aumenta durante a inflamação. A anquirina G controla a localização de Nav1.8 ao longo da fibra e a interação com calmodulina regula a função do canal.

Diante disso de tudo isso então, quais as perspectivas clínicas do bloqueio de Nav1.8?

Poderíamos pensar inicialmente nos anestésicos locais, fármacos bloqueadores de canal de sódio. Essas moléculas, no entanto, não são seletivas. Por esse motivo têm sérias restrições a seu uso sistêmico – que leva a convulsões, ataxia, confusão, sedação ou mesmo óbito. Diante, no entanto, da relevância do alvo terapêutico que é Nav1.8, diversas companhias farmacêuticas têm dedicado esforços no desenvolvimento de moléculas seletivas ao canal, como a Pfizer e a Abbott. A molécula A803467, da Abbott, por exemplo, tem seletividade 100 vezes maior a Nav1.8 do que a qualquer outra isoforma de Nav e já demonstrou eficácia em inúmeros modelos de dor aguda, inflamatória e neuropática. Estudos estruturais funcionais revelam que o local de ligação de A803467 se sobrepõe parcialmente ao da tetracaína, sugerindo que a seletividade da isoforma pode ser alcançada em locais próximos aos da ligação de anestésicos locais. Como A803467 tem baixa solubilidade e baixa biodisponibilidade oral em roedores, limitando a administração deste agente, modificações estruturais são necessárias. Mais recentemente, a Pfizer publicou os dados da molécula PF-01247324 (estruturalmente semelhante à lamotrigina), seletiva a Nav1.8 e com boa biodisponibilidade por via oral. Esse composto foi eficaz em aliviar tanto a dor inflamatória (induzida por carragenina e por CFA) quanto a dor neuropática em diferentes modelos experimentais.

Sempre dizemos aqui que os estudos estão avançando, e isso é uma grande verdade! Certamente podemos esperar boas surpresas das moléculas bloqueadoras de Nav1.8 nos próximos anos.

Longe de esgotar as informações sobre Nav1.8, esperamos que este editorial tenha direcionado seus conhecimentos a buscar sobre aspectos específicos do canal. Boa sorte!

Referências bibliográficas principais:

- Bennett DL, Clark AJ, Huang J, Waxman SG, Dib-Hajj SD. The Role of Voltage-Gated Sodium Channels in Pain Signaling. *Physiol Rev.* 2019; 99(2):1079-1151.
- Tibbs GR, Posson DJ, Goldstein PA. Voltage-Gated Ion Channels in the PNS: Novel Therapies for Neuropathic Pain? *Trends Pharmacol Sci.* 2016;37(7):522-542.
- Lai J, Porreca F, Hunter JC, Gold MS. Voltage-gated sodium channels and hyperalgesia. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2004; 44:371-97.
- Habib AM, Wood JN, Cox JJ. Sodium channels and pain. *Handb Exp Pharmacol.* 2015; 227:39-56.
- Han C, Huang J, Waxman SG. Sodium channel Nav1.8: Emerging links to human disease. *Neurology.* 2016; 86(5):473-83.
- Zuliani V, Rivara M, Fantini M, Costantino G. Sodium channel blockers for neuropathic pain. *Expert Opin Ther Pat.* 2010; 20(6):755-79.

* Farmacêutica, pós-doutoranda do Laboratório de Dor do Depto. de Farmacologia da FMRP-USP