

NOCICEPTORES

As células que sentem dor

Alan Fein

TRADUÇÃO
Paulo Petrov

Conteúdo

A dor é uma sensação desagradável, primariamente tem a função protetora em contrapartida na cronicidade não atende a sobrevivência. Esta edição eletrônica é uma introdução ao estudo da dor, uma investigação experimental do sistema sensorial especializado, os nociceptores.

I – Nociceptores: O autor revisa o sistema nervoso periférico sensorial especializado que fornece informações ao sistema nervoso central da lesão tecidual, os **nociceptores aferentes primários** e as **sensações dolorosas**. Descreve as **classes dos nociceptores**. Analisa a **função dos nociceptores** e o mecanismo de **funcionamento do nociceptor**. A ocorrência da **hiperalgesia** e a **sensibilização** dos nociceptores.

II - Transdução Sensorial: Nesta seção, uma explanação dos mecanismos moleculares na sinalização do estímulo nocivo. As alterações da permeabilidade iônica na membrana plasmática, o **potencial de repouso** e o **gradiente de concentração**. A relação entre a estrutura e a função dos **canais de íons**. Os tipos de **estímulos sensoriais** que ocorrem durante a lesão tecidual.

III – Receptores de Potencial Transitório (TRP): Uma análise das propriedades dos canais do receptor de potencial transitório. O descobrimento em **TRP em fotorreceptores da *Drosófila***. A classificação dos **TRP nos mamíferos** e as sensações de moléculas irritantes ou nocivas no **sabor e chemestesia**, como a **capsaicina**. Os canais do TRP implicados na transdução de sinal do nociceptor: **TRPV1** e **como alvo terapêutico, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPA1 e TRPM8**.

IV - Mediadores Químicos: O autor examina os mediadores químicos considerados a desempenhar um papel no nociceptor: a **serotonina (5-HT)**, a **bradicinina (BK)**, o **trifosfato de adenosina (ATP)**, as **proteases** e a **inflamação neurogênica**, o **pH baixo**, o **ácido lisofosfatídico (LPA)** e o **fator de crescimento neural (NGF)**. Simultaneamente evidencia os receptores e os canais de íons considerados envolvidos na execução das ações dos mediadores químicos.

V – Canais de Íons Controlados por Voltagem (VGICs): Uma verificação do papel das correntes da membrana na geração e na propagação dos potenciais de ação, do mesmo modo que a liberação de neurotransmissores das terminações pré-sinápticas. As respostas e as sensações de dor nos **canais de sódio controlado por voltagem de subunidade alfa (Na_v)**, como: **Na_v1.8, Na_v1.9, Na_v1.7, Na_v1.3, Na_v1.1 e Na_v1.6**. Os **canais de potássio (K)** no efeito da **morfina** e o **canal de cálcio controlado por voltagem (Ca_v)**. A regulação da frequência de disparo nos **canal de cátions controlado por nucleotídeo cíclico ativado por hiperpolarização (HCN)**.

VI – Dor Neuropática: Uma descrição dos **mecanismos básicos** da dor neuropática – ou neuropatia periférica. **Modelos de lesões nervosas** experimentais e dois exemplos das síndromes de dor neuropáticas: **causalgia** e **neuralgia do trigêmeo**. Alguns exemplos da diversidade dos tratamentos: **gabapentina** e **pregabalina**, **artemin** e **canabinoides**. O padrão de disparo resultante de uma **corrente em marca-passo**. A **atividade espontânea** e **toxina botulínica tipo A**. Dor espontânea, hiperalgesia e alodinia associadas com a **desmielinização**.

Abreviações e Anacrônimos

5-hidroxitriptamina	5-HT	5-hydroxytryptamine
receptor de 5-hidroxitriptamina 2A	5-HT _{2A}	5-hydroxytryptamine 2A receptor
receptor de 5-hidroxitriptamina 3	5-HT ₃	5-hydroxytryptamine 3 receptor
ácido araquidônico	AA	arachidonic acid
adenilato ciclase	AC	adenylate cyclase
anti-inflamatório não esteroidal	AINE	nonsteroidal anti-inflammatory drug
artemin	ARTN	artemin
canal de íon sensível a ácido	ASIC	acid-sensing ion channel
trifosfato de adenosina	ATP	adenosine triphosphate
receptor B1 de bradicinina	B ₁	bradykinin receptor B1
receptor B2 de bradicinina	B ₂	bradykinin receptor B2
bradicinina	BK	bradykinin
toxina botulínica tipo A	BTX-A	botulinum toxin type A
monofosfato de adenosina cíclico	cAMP	cyclic adenosine monophosphate
canal de cálcio controlados por voltagem	Ca _v	voltage gated calcium channel
canabinoides	CB	cannabinoids
receptor de canabinoide tipo um	CB ₁	cannabinoid receptor type one
receptor de canabinoide tipo dois	CB ₂	cannabinoid receptor type two
monofosfato de guanossina cíclico	cGMP	cyclic guanosine monophosphate
peptídeo relacionado ao gene da calcitonina	CGRP	calcitonin gene-related peptide
ciclooxigenase	COX	cyclooxygenase
diacilglicerol	DAG	diacylglycerol
toxina da diftérica A	DTA	diphtheria toxin A
enzima conversora da angiotensina	ECA	angiotensin converting enzyme
potencial de equilíbrio do potássio	E _K	potassium equilibrium potential
potencial de equilíbrio do sódio	E _{Na}	sodium equilibrium potential
receptor de prostanóide E	EP	E prostanoid receptor
potencial de reversão	E _{rev}	reversal potential
quinases reguladas por sinal extracelular um e dois	ERK _{1/2}	extracellular signal-regulated kinase one and two
ácido gama-aminobutírico	GABA	gamma-aminobutyric acid
fator neurotrófico derivado da célula glial	GDNF	glial cell-derived neurotrophic factor
difosfato de guanossina	GDP	guanosine diphosphate
receptor acoplado à proteína G	GPCR	G protein-coupled receptor
gânglio da raiz dorsal	GRD	dorsal root ganglion
trifosfato de guanossina	GTP	guanosine triphosphate
canal controlado por nucleotídeo cíclico ativado por hiperpolarização	HCN	hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channel
canal HCN dois	HCN2	HCN channel two
canal HCN quatro	HCN4	HCN channel four
ácido hidroperoxieicosatetraenoico	HPETE	hydroxyeicosatetraenoic acid
corrente marca-passo do HCN	I _h	pacemaker current of HCN
receptor do trifosfato inositol	IP	inositol trisphosphate receptor
trifosfato de inositol	IP ₃	inositol trisphosphate
canal de potássio de dois poros	K _{2p}	two-pore potassium channel
canal de potássio de dois poros membro dois	K _{2p2.1}	two-pore potassium channel member two
canal de potássio de dois poros membro três	K _{2p3.1}	two-pore potassium channel member three
canal de potássio de dois poros membro cinco	K _{2p5.1}	two-pore potassium channel member five
canal de potássio sensível ao ATP	K _{ATP}	ATP-sensitive potassium channel
canal de potássio de retificação interna	K _{ir}	inwardly-rectifying potassium channel
canal de potássio controlado por voltagem	K _v	voltage-gated potassium channel

canal de íon controlado por ligante	LGIC	ligand-gated ion channel
lipoxigenase	LOX	lipoxigenase
ácido lisofosfatídico	LPA	lysophosphatidic acid
receptor do ácido lisofosfatídico um	LPA ₁	lysophosphatidic acid receptor one
proteína quinase ativada por metogênese	MAPK	mitogen-activated protein kinase
<i>N</i> -araquidonoildopamina	NADA	<i>N</i> -arachidonoyldopamine
canal de sódio controlado por voltagem	Na _v	voltage-gated sodium channel
canal de sódio controlado por voltagem alfa I	Na _v 1.1	sodium channel, voltage-gated, alpha I
canal de sódio controlado por voltagem alfa III	Na _v 1.3	sodium channel, voltage-gated, alpha III
canal de sódio controlado por voltagem alfa VI	Na _v 1.6	sodium channel, voltage-gated, alpha VI
canal de sódio controlado por voltagem alfa VII	Na _v 1.7	sodium channel, voltage-gated, alpha VII
canal de sódio controlado por voltagem alfa VIII	Na _v 1.8	sodium channel, voltage-gated, alpha VIII
canal de sódio controlado por voltagem alfa IX	Na _v 1.9	sodium channel, voltage-gated, alpha IX
fator de crescimento neural	NGF	nerve growth factor
óxido nítrico	NO	nitric oxide
receptor purinérgico	P2	purinergic receptor
purinoceptor do canal de íons controlado por ligante	P2X	ligand-gated ion channel purinoceptor
purinoceptor do canal de íons controlado por ligante dois	P2X ₂	ligand-gated ion channel purinoceptor two
purinoceptor do canal de íons controlado por ligante três	P2X ₃	ligand-gated ion channel purinoceptor three
purinoceptor acoplado à proteína G	P2Y	G protein-coupled purinoceptor
purinoceptor acoplado à proteína G um	P2Y ₁	G protein-coupled purinoceptor one
purinoceptor acoplado à proteína G dois	P2Y ₂	G protein-coupled purinoceptor two
receptor ativado por proteases	PAR	protease-activated receptor
receptor ativado por proteases um	PAR1	protease-activated receptor one
receptor ativado por proteases dois	PAR2	protease-activated receptor two
receptor ativado por proteases quatro	PAR4	protease-activated receptor four
fosfatidil colina	PC	phosphatidyl choline
prostaglandina E ₂	PGE ₂	prostaglandin E ₂
prostaglantina I ₂	PGI ₂	prostaglandin I ₂
fosfadilinositol difosfato	PIP ₂	phosphatidylinositol bisphosphate
permeabilidade ao potássio	P _K	potassium permeability
proteína quinase C	PKC	protein kinase C
proteína quinase G	PKG	protein kinase G
fosfolipase A ₂	PLA ₂	phospholipase A ₂
fosfolipase C	PLC	phospholipase C
fosfolipase C-beta	PLC-β	phospholipase C-beta
fosfolipase D	PLD	phospholipase D
permeabilidade ao sódio	P _{Na}	sodium permeability
ácido graxo poli-insaturado	PUFA	polyunsaturated fatty acid
receptor da tirosina quinase	RTK	receptor tyrosine kinase
substância P	SP	substance P
receptor sulfonilureia	SUR	sulfonylurea receptor
receptor da tirosina quinase neurotrófica tipo um	TRK1	neurotrophic tyrosine kinase receptor type one
receptor de potencial transitório	TRP	transient receptor potential
receptor de potencial transitório da anquirina um	TRPA1	transient receptor potential ankyrin one
receptor de potencial transitório da melatatina oito	TRPM8	transient receptor potential melastatin eight
receptor de potencial transitório da vaniloide um	TRPV1	transient receptor potential vanilloid one
receptor de potencial transitório da vaniloide dois	TRPV2	transient receptor potential vanilloid two
receptor de potencial transitório da vaniloide três	TRPV3	transient receptor potential vanilloid three
receptor de potencial transitório da vaniloide quatro	TRPV4	transient receptor potential vanilloid four
tetrodotoxina	TTX	tetrodotoxin
resistente a tetrodotoxina	TTX-R	tetrodotoxin-resistant
sensível a tetrodotoxina	TTX-S	tetrodotoxin-sensitive
canal de íon controlado por voltagem	VGIC	voltage-gated ion channel
potencial de membrana	V _M	membrane potential

I – Nociceptores

A dor é uma sensação desagradável, a qual é um componente essencial do sistema de defesa do organismo. Fornece um rápido aviso ao sistema nervoso para iniciar uma resposta motora e minimizar o prejuízo físico. A falta da capacidade de experimentar a dor – como na rara condição de insensibilidade congênita a dor, com anidrose¹ – pode causar sérios problemas graves à saúde, tais como: automutilação, autoamputação e cicatrizes nas córneas.

Até o século XX, houve um debate acalorado e vigoroso sobre a natureza da dor. Um lado deteve que o estímulo sensorial, qual normalmente ativa os órgãos do sentido, tal como tato, iria iniciar a dor através dos mesmos órgãos, se o estímulo fosse suficientemente forte. Outro lado que existia uma classe especializada separada de órgãos do sentido específicos à dor.

No final do século passado, o debate foi definido e demonstrado conclusivamente que existem órgãos sensoriais especializados, os quais sinalizam a dor.

Dor e Nocicepção

A palavra “dor”, na língua portuguesa*, vem do latim: *dolore*, que significa sofrimento; e “pain” na língua inglesa, do grego: *poiné*, pena.

Os fisiologistas distinguem entre dor e nocicepção, onde a *nocicepção* se refere aos sinais que chegam ao sistema nervoso central (SNC) resultante da ativação dos receptores sensoriais especializados, chamados *nociceptores*, que fornecem informações sobre a lesão tecidual. Consequentemente a *dor uma experiência emocional desagradável que geralmente acompanha a nocicepção*.

O foco dessa edição eletrônica são os *nociceptores*, os receptores sensoriais especializados que fornecem informações sobre a lesão tecidual.

Neurônios sensoriais

Historicamente, para aprender alguma coisa sobre o estímulo que ativa um grande número de nociceptores, nas fibras nervosas selecionadas aleatoriamente, foram tipicamente estudadas as que inervam a pele. Os grandes nervos periféricos, em animais, são na realidade uma combinação composta de feixes, por milhares de fibras nervosas individuais, delimitadas por uma bainha de tecido conectivo frouxo. A velocidade de condução com que as fibras nervosas individuais, no feixe, transmitem os potenciais de ação para e do sistema nervoso, podem variar mais do que 100 vezes, tornando interessante saber a velocidade de condução, nas fibras, que transportam o sinal dos nociceptores ao cérebro.

* Nota do tradutor

A atividade elétrica em uma fibra individual, no feixe nervoso, pode ser isolada e verificada, usando uma variedade de métodos, um dos quais é mostrado na [Figura 1.1](#). Nesse exemplo citado, um eletrodo intracelular foi usado para espetar o corpo celular de um neurônio sensorial, no gânglio da raiz dorsal (GRD) e dessa maneira registrar sua atividade elétrica. O GRD é composto por vários corpos celulares dos neurônios sensoriais e está localizada lateral a medula espinhal da coluna vertebral. Estes neurônios sensoriais têm axônios que projetam aos tecidos periféricos, como a pele e são responsáveis por nossas sensações em nosso corpo. O gânglio trigeminal é análogo ao GRD da medula espinhal e responsável pelas sensações na face. A velocidade de condução, no neurônio espetado, foi medida usando um pulso de voltagem breve, aplicado ao eletrodo estimulante extracelular, para evocar o potencial de ação na fibra nervosa composta do feixe nervoso. Sabendo, a distância entre o eletrodo estimulante e o local do eletrodo de registro, o tempo que leva o potencial de ação para alcançar o local do eletrodo de registro após aplicação do pulso de voltagem, a velocidade de condução facilmente pode ser calculada.

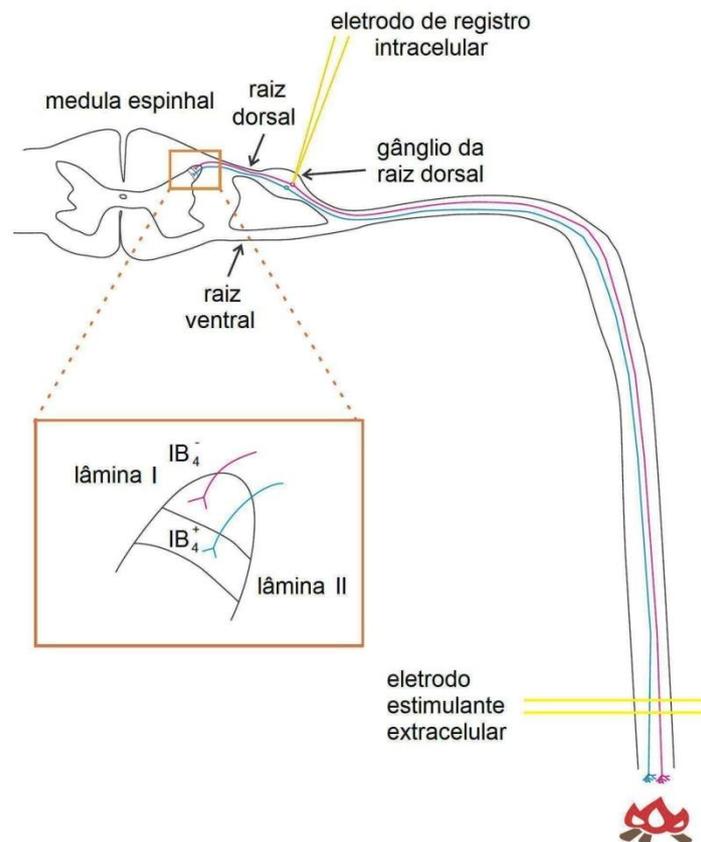


Fig. 1.1 – Calor intenso do fogo ativa os terminais dos nociceptores.

Os potenciais de ação são propagados ao longo dos axônios dos nociceptores a medula espinhal e um eletrodo intracelular, espetado no corpo celular que se encontra no gânglio da raiz dorsal, monitora a atividade de um dos nociceptores. O terminal central de uma fibra de coloração positiva para planta lectina, isolectina B4 (IB_4^+) é mostrada que termina na lâmina II, e que uma fibra (IB_4^-) é mostrada que termina na lâmina I. Os eletrodos estimulantes extracelulares estão conectados a um estimulador de pulso “não mostrado” e são usados para iniciar os potenciais de ação em fibra nervosa.

Muitos neurônios – sensoriais – aferentes isolados desta forma respondem a estimulação mecânica ou térmica de baixa intensidade, ou seja, o estímulo que em indivíduos evoca uma sensação não dolorosa ou inócua. Além disso, estas fibras apresentam toda uma faixa de velocidades de condução expostas através do nervo. Alguns dos neurônios registrados desta forma são diferenciados por limiar relativamente elevado de ativação, por exemplo, só pode ser ativado por estímulos intensos – mecânico, térmico ou irritante químico – que são potencialmente prejudiciais aos tecidos. Estes neurônios de limiar alto são considerados os *nociceptores aferentes primários*.

Nociceptores Aferentes Primários

Todos nós, provavelmente, experimentamos que a dor pode ser provocada por estímulo térmico, mecânico e químico, o qual produz ferimento tecidual. Várias possibilidades podem explicar como estes diferentes estímulos resultariam na sensação de dor.

Uma possibilidade é que os nociceptores individuais são sensíveis a todos esses estímulos diferentes. A outra é que existem vários tipos diferentes de nociceptores e cada um serem sensíveis a um estímulo específico. Como veremos abaixo, revela-se que ambas as possibilidades são encontradas na natureza: alguns nociceptores são sensíveis a um estímulo específico enquanto outros são sensíveis a vários tipos de estímulos.

A fibra nervosa, axônio, em um nervo combinado incluem os nervos aferentes e eferentes, motores e autonômicos. A velocidade que uma fibra nervosa individual conduz os potenciais de ação está relacionada com o diâmetro da fibra. Nas fibras mielinizadas maiores, a velocidade de condução, em metros por segundo, é aproximadamente seis vezes o diâmetro do axônio, determinado em microm (veja a [Figura 1.2](#)).

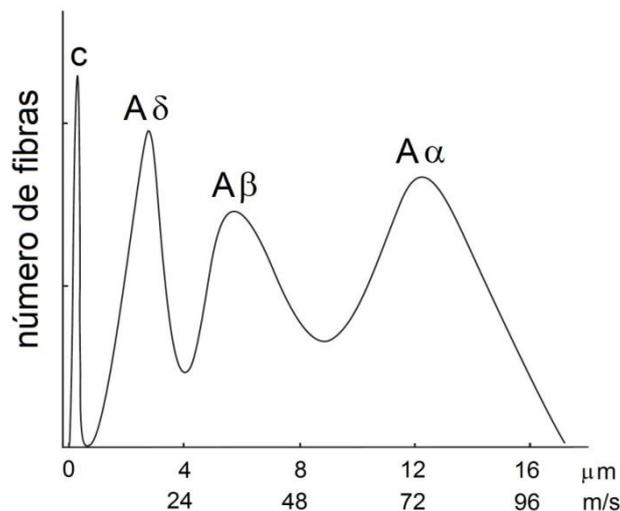


Fig. 1.2 – Diâmetros dos axônios e velocidades de condução no nervo periférico.

Os diâmetros dos axônios são apresentados em micrometros (μm) e as velocidades de condução são dadas em metros por segundo (m/s). As fibras designadas por C são amielinizadas e as fibras A têm uma camada de mielina.

O histograma de distribuição das velocidades de condução tem quatro picos: as fibras condutoras mais lentas são amielinizadas e designadas por C, enquanto as fibras mielinizadas condutoras mais rápidas são designadas por $A\delta$, $A\beta$ e $A\alpha$.

A opinião amplamente difundida, apresentada na maioria dos livros atuais, são apenas as fibras nervosas de diâmetros menores e mais lentas, as fibras C e $A\delta$, que transportam os sinais aferentes dos nociceptores e são sentidas como dor. As evidências disponíveis, as quais foram revisadas minuciosamente^{2, 3}, sugerem que uma fração substancial dos nociceptores das fibras A podem conduzir na faixa de velocidade da condução $A\beta$. Consequentemente, para permitir esta possibilidade, a *denominação utilizada nesse texto* é que o sinal dos nociceptores seja carregado pelas *fibras C amielinizadas e fibras A mielinizadas condutoras na faixa da velocidade de condução $A\delta$ - β* . Isto deve ser mantido em mente, que o inverso não é verdade, nem todas as fibras C e $A\delta$ - β são nociceptores. Estas fibras também carregam os sinais dos estímulos não nocivos ou inócuos; como mecânico, calor e frio.

Devido à diferença na velocidade de condução entre as fibras C e $A\delta$ - β , o sinal das fibras $A\delta$ - β chegam à medula espinhal antes das fibras C. Isto levanta a possibilidade que o estímulo doloroso evoca duas sensações de dor sucessivas e possivelmente distintas.

Sensações dolorosas

A evidência que sustenta o aspecto em que os sinais das fibras C e $A\delta$ - β são sensações de dor distintas, provém de condições experimentais, estimulação elétrica e bloqueio de nervo, onde as atividades das fibras A e C são estudadas isoladas. Quando é feita a estimulação nas fibras A é descrita como causando uma sensação de dor acentuada em *picada* e que nas fibras C uma sensação fraca em *queimação* dolorida.

Geralmente, afirma-se que para o estímulo doloroso existe uma resposta subjetiva bifásica: a dor em picada de latência curta é seguida por uma segunda dor de latência longa em queimação e de qualidade menos suportável. No entanto, a evidência para duas sensações de dor sucessivas é muito menos atraente do que as duas sensações de dor distintas. No artigo original mostrando que os sinais das fibras C e $A\delta$ - β são *sensações de dor distintas*. Afirmou-se que tal resposta subjetiva bifásica um estímulo doloroso transitório é ausente frequentemente em indivíduos normais⁴.

A incapacidade de muitos indivíduos normais, em experimentar a primeira e a segunda dor a um estímulo, na superfície da pele, não deve ser tomada para sugerir que estes dois tipos de dor são artefatos, nas condições experimentais, em que foram observadas. Pelo contrário, quando são ativados simultaneamente, em condições normais, são difíceis de ser identificadas cada uma pelo observador.

Classes de Nociceptores

Quatro classes de nociceptores foram descritos: *mecânicos*, *térmicos*, *polimodais* e *silenciosos*.

Os nociceptores *mecânicos* respondem a pressão intensa enquanto os nociceptores *térmicos* respondem às temperaturas extremas, quentes ($> 45^{\circ}\text{C}$) ou frias ($< 5^{\circ}\text{C}$) e possuem fibras A mielinizadas, que conduzem impulsos na velocidade de 3 m/s a 40 m/s. Coletivamente, esses dois tipos de nociceptores A δ - β são chamados de *nociceptores mecano-térmico*.

Os nociceptores *polimodais* respondem aos estímulos nocivos; mecânicos, térmicos e químicos, possuem pequenas fibras C amielinizadas que conduzem impulsos na velocidade menor de 3 m/s. Lembre-se que as pequenas fibras A δ - β mielinizadas carregam entrada nociceptiva responsável pela dor acentuada em picada e as pequenas fibras C amielinizadas carregam entrada nociceptiva responsável pela dor fraca em queimação.

Os nociceptores *silenciosos* são ativados por estímulos químicos, mediadores inflamatórios, respondem a estímulos mecânicos e térmicos somente depois de serem ativados. Estes nociceptores também possuem pequenas fibras C amielinizadas que conduzem impulsos na velocidade menor de 3 m/s.

Os nociceptores, que respondem as temperaturas nocivas, podem ser divididos em: *unimodais*, que são ativados por um estímulo térmico exclusivo; e os *polimodais*, que detectam estímulos dolorosos químicos, mecânicos e térmicos.

Função dos Nociceptores

A função básica dos nociceptores é de transmitir informações aos neurônios de ordem superior sobre a lesão tissular. Os receptores individuais podem ser considerados como uma “caixa-preta” de engenharia, que transforma a lesão tissular em um sinal apropriado para as células nervosas sucessivas. A função principal de um nociceptor pode ser completamente descrita se sua conexão de entrada/saída está determinada. A entrada, naturalmente se refere à lesão tecidual. *Qual a saída?*

Um dos conceitos centrais da neurobiologia considera que os neurônios se comunicam uns com outros via sinapses. Mais comumente são encontradas as sinapses de liberação química, conhecida como *transmissores sinápticos*. Com a liberação desses transmissores que a célula é capaz de se comunicar com seus vizinhos pós-sinápticos.

Devido aos nociceptores serem neurônios com sinapses químicas, sua saída é codificado na liberação dos seus neurotransmissores: a relação de entrada/saída é simplesmente uma conversão da lesão tecidual em liberação do transmissor.

Transmissor sináptico

A medição direta da liberação do transmissor sináptico, em condições fisiológicas, é muito difícil e não pode ser efetuada para qualquer nociceptor. Assim, parece que uma derivação da relação de entrada/saída está além do alcance.

No entanto, outra propriedade neural quase universal é de assistência: a liberação de transmissor é controlada diretamente pelo potencial de membrana sináptica. Portanto, com a variação do registro do potencial de membrana na sinapse, a saída do nociceptor pode ser indiretamente presumida. Infelizmente, na maioria dos casos, tecnicamente é difícil, se não impossível o registro intracelularmente de um terminal sináptico. As maiorias dos registros eletrofisiológicos são realizadas em outras regiões da célula, porque estas regiões estão mais acessíveis. Atividade elétrica, nos nociceptores, como na maioria dos neurônios está associada à propagação do potencial de ação, que ocorre na escala de tempo em milissegundos. Esta propagação dos potenciais de ação ao terminal sináptico e assim regulam a liberação de transmissor.

Duas técnicas de registro são normalmente usadas para registrar os potenciais de ação do nociceptor: eletrodos extracelulares registram sua ocorrência em algum lugar ao longo do axônio do nociceptor ou são registrados intracelularmente no corpo celular do nociceptores, conforme ilustrado na [Figura 1.1](#). Assim, transdução sensorial dos nociceptores é medida normalmente como a conversão da lesão tecidual em disparo padronizado dos potenciais de ação.

Transdução sensorial

Durante o século passado, estabeleceu-se a estrutura básica de transdução sensorial as diferentes sensações, em muitas espécies de vertebrados e invertebrados.

A célula sensorial típica mostra ter uma região especializada, onde o *receptor molecular sensorial* detecta o estímulo, o qual aos nociceptores é a lesão tecidual. O estímulo sensorial provoca uma alteração conformacional no receptor molecular, que dispara o processo de transdução, que traz uma mudança do potencial de membrana na célula receptora. A alteração resultante do potencial de membrana, chamado *potencial de receptor*.

No neurônio sensorial típico, a parte da célula onde a transdução sensorial ocorre, muitas vezes, é distante do terminal sináptico. Portanto, o potencial de receptor precisa ser convertido em uma série de propagação dos potenciais de ação, o qual por sua vez carrega o sinal ao longo do axônio à sinapse. Os nociceptores não estimulados, normalmente, disparam poucos ou nenhum potencial de ação e a sua resposta a lesão tecidual é um aumento da taxa de disparo da propagação dos potenciais de ação junto ao axônio das células.

Estas conclusões estão resumidas na [Figura 1.3](#).

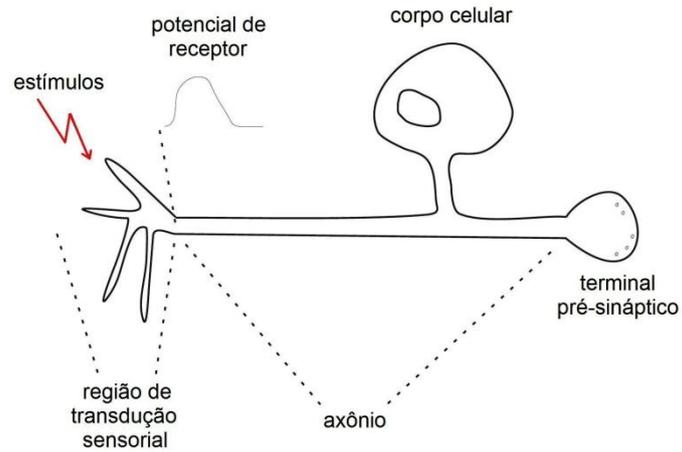


Fig. 1.3 – Desenho esquemático do nociceptor.

O desenho mostra as quatro regiões da célula mais significativas de um nociceptor idealizado: a região de transdução sensorial, o axônio, o corpo celular e o terminal sináptico. O estímulo e a alteração resultante do potencial de membrana – potencial de receptor.

Funcionamento do Nociceptor

Em paralelo, com as regiões anatómicas do nociceptor, um esquema funcional capaz de descrever o mecanismo de funcionamento do nociceptor, como na Figura 1.4.

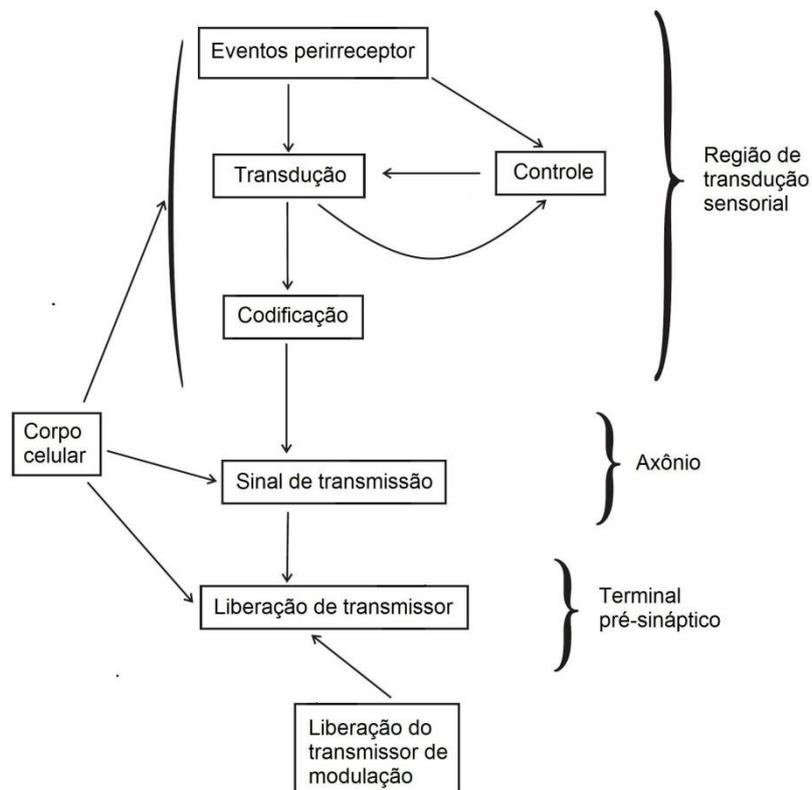


Fig. 1.4 – Esquema funcional do nociceptor.

O corpo celular, o axônio e o terminal pré-sináptico dos nociceptores devem funcionar mais ou menos, como agem em outras células. As setas partindo do *corpo celular*, para outras regiões do nociceptor se destinam a indicar que o corpo celular é necessário para manter as outras regiões da célula, sem a qual a célula eventualmente morreria. O *axônio* conduz o potencial de ação ao *terminal pré-sináptico*, onde é liberado o transmissor ou os neurotransmissores. A *liberação do transmissor* no terminal sináptico está sujeita a *modulação* por agentes liberados por outros neurônios e células possivelmente gliais.

O estímulo que causa ferimento tecidual pode ativar, direta ou indiretamente, a *região de transdução sensorial* dos nociceptores. Por exemplo, um nociceptor pode conter receptor molecular sensível ao calor na membrana plasmática, que responde diretamente a um estímulo de calor prejudicial, ou contrariamente a lesão tecidual com o estímulo pode resultar na produção de um fator que por sua vez ativa o nociceptor. Uma terceira possibilidade é que, devido ao ferimento tecidual torne-se inflamado e um fator extrínseco, que ativa o nociceptor, entre na região machucada.

A caixa de *eventos perirreceptor* permite a produção, durante o ferimento tecidual, de fatores que podem ativar ou modular o nociceptor. Os intensos estímulos nocivos frequentemente conduzem a um aumento na resposta a estímulos dolorosos subsequentes “*controle*”. Após os estímulos nocivos é a *transdução* da resposta, em potencial de receptor, deve ser transformada ou *codificada* em uma série de potenciais de ação, os quais transportam o *signal de transmissão* ao terminal pré-sináptico.

Terminações nervosas livres

A opinião predominante atual é que as terminações nervosas livres das fibras A δ - β e fibras C constituem a região sensorial dos nociceptores. Não existem estruturas especializadas associadas às terminações nervosas, tal como existem para outros receptores sensoriais, como mecanorreceptores. Muitos outros receptores sensoriais podem ser isolados funcionalmente intactos e o estudo isolado de fotorreceptores, receptores auditivos, receptores olfatórios, etc., nos dizem muito sobre seus mecanismos de funcionamento.

Idealmente para estudar as vias envolvidas no processo de transdução nos nociceptores, uma preparação de nociceptores isolados é necessária. As terminações nervosas livres dos nociceptores são extremamente finas e são incorporadas em uma matriz de tecido, a qual se fosse para ser dissecadas, para isolar os nociceptores, seria a liberação de muitas moléculas que o terminal nervoso do nociceptor se destina a detectar. Esta falta de acessibilidade, não é possível estudar diretamente o maquinário da transdução do nociceptor tanto em um estado não estimulado e em seu meio ambiente natural.

Deve ter em mente que nem todas as terminações nervosas livres representam a região de transdução sensorial dos nociceptores. As terminações nervosas livres são também responsáveis pela detecção de temperatura, estímulos mecânicos, como pressão, e informações sobre o tato.

Corpos celulares dos nociceptores

Por não ser possível isolar as terminações nervosas sensoriais dos nociceptores em estado não estimulado, os estudos sobre os nociceptores isolados são frequentemente efetuados nos corpos celulares dos nociceptores.

Por exemplo, os corpos celulares neuronais nos gânglios das raízes dorsais são isolados por tratamento enzimático e são cultivados antes da utilização. As terminações sensoriais são completamente removidas durante o processo de isolamento e são esperados e suposto que as propriedades desses terminais sejam recriadas nos corpos celulares cultivados. Enquanto o gânglio original continha mais do que somente nociceptores, apenas uma fração dos corpos celulares cultivados será realmente dos nociceptores. Esta preparação dos corpos celulares cultivados é usada frequentemente para investigação experimental da base celular e molecular na detecção dos estímulos dolorosos.

As incertezas e as pressuposições associadas com esses procedimentos tornam imprescindível que as conclusões devem ser verificadas com muito cuidado e demonstrado para se parecer com o que realmente ocorre *in vivo*.

Taxa de disparo dos potenciais de ação

Como mencionado acima, os nociceptores não estimulados normalmente disparam poucos ou nenhum potenciais de ação, além disso: sua resposta à lesão tecidual é um aumento na taxa de disparo dos potenciais de ação.

Uma vez que tem uma despolarização da membrana para causar um aumento na taxa de disparo, esta conclusão implica que o potencial de receptor nos nociceptores é uma despolarização de membrana, como mostra na [Figura 1.3](#).

Assim, o maquinário de transdução, por necessidade, ter que de algum modo comporta ou transportadores nos canais de íons que podem despolarizar a membrana plasmática na região de transdução. A região de codificação (consulte a [Figura 1.4](#)) por sua vez converte a despolarização da membrana em um aumento da taxa de disparo dos potenciais de ação.

Hiperalgisia

As propriedades dos nociceptores, considerados até agora, foram elucidadas principalmente a partir dos estudos de tecido não ferido.

No entanto, os estímulos nocivos intensos resultando em lesão tecidual frequentemente conduzem a um aumento na resposta a estímulos dolorosos subsequentes, chamado *hiperalgesia*, isto é, uma *sensibilidade excessiva* ou sensibilidade à dor.

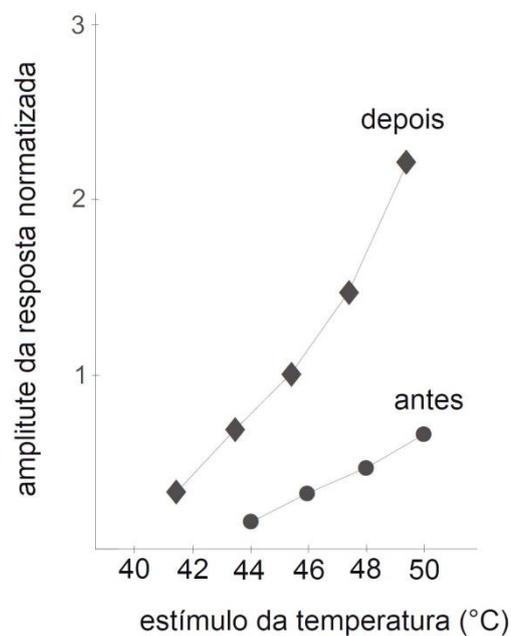
A hiperalgesia compreende: a *hiperalgesia primária*, uma sensibilidade aumentada na *área ferida* predominantemente devido à sensibilização do nociceptor periférico; a *hiperalgesia secundária*, uma sensibilidade aumentada *circundante a área não ferida*, centralmente mediada. Aquelas que nos ferimos, pode provavelmente lembrar, ter experimentado esta hipersensibilidade a dor no local do ferimento e da região circundante. Por exemplo, a inflamação devido à dor de garganta pode ser tão ruim que o mero ato de engolir é doloroso.

Sensibilização

Nenhuma descrição das propriedades dos nociceptores seria completa, sem uma consideração a sensibilização dos nociceptor resultante do ferimento tecidual.

A sensibilização é um desvio à esquerda, isto é, em direção à intensidade inferior, na curva de estímulo/resposta, que diz respeito à magnitude da resposta neural a intensidade de estímulo. Como mostra na [Figura 1.5](#), a *sensibilização do nociceptor* é caracterizada por *diminuição do limiar e aumento a magnitude da resposta aos estímulos de supralimiar*.

Lembre-se de que alguns, mas não todos os nociceptores apresentam sensibilização.



- Respostas individuais aos estímulos térmicos, obtidos antes da superfície da pele ser aquecida.
- ◆ Respostas sensibilizadas, obtidas a partir da mesma área, depois do ferimento da queimadura.

Fig. 1.5 – Sensibilização do nociceptor térmico.

A sensibilização do nociceptor térmico ao estímulo, em uma área da pele aquecida à temperatura indicada.

II – Transdução Sensorial

Na tentativa de compreender a transdução sensorial no nociceptor, evidenciou ser instrutivo considerar os mecanismos moleculares utilizados na sinalização em outra parte do sistema nervoso. Os mecanismos utilizados por outros sentidos, bem como aqueles usados na transmissão sináptica, revelaram ser mais útil.

Numerosos estudos demonstraram que o potencial de receptor sensorial e o potencial sináptico são o resultado das alterações da permeabilidade iônica na membrana plasmática. Isto é, o resultado de íons fluindo através das proteínas em membranas íntegras, chamados *canais de íons*. Antes de considerar como a abertura e o fechamento dos canais de íons são regulados durante a transdução do sinal no nociceptor, importante é compreender as forças que causam o fluxo de íons por destes canais.

Basicamente, existem dois tipos de forças que impulsionam a circulação iônica nas membranas celulares. Existe o campo elétrico através da membrana celular, o qual é manifestado como um *potencial elétrico* através da membrana e existe *gradiente de concentração* para cada espécie iônica.

Potencial de Repouso

A maioria dos corpos celulares, incluindo os neurônios, mantém no seu citoplasma um potencial negativo com referência a parte externa da célula. Para uma célula que está em estado de repouso, não estimulada, os pesquisadores usam normalmente o termo *potencial de repouso* referente a este potencial negativo através da membrana plasmática celular.

Basicamente, o potencial de repouso depende da concentração de íons entre os dois lados da membrana plasmática e da permeabilidade de repouso da célula para esses íons. Negligenciando a pequena contribuição de outros íons, mas não sem importância, focamos nossa atenção aos íons sódio e potássio.

Se a membrana fosse permeável exclusivamente ao íon potássio (K^+), o potencial de membrana (V_M) seria dado por:

$$V_M = E_K = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[K^+]_e}{[K^+]_i}$$

Onde:

- E_K é o potencial de equilíbrio do potássio;
- $[K]_e$ é a concentração extracelular do potássio;
- $[K]_i$ é a concentração intracelular do potássio;
- R é a constante universal dos gases;
- T é a temperatura absoluta (escala de Kelvin, $37^\circ\text{C} = 310^\circ\text{K}$);
- F é a constante de Faraday (carga em um mol de cátions monovalentes);
- z é a valência do íon;
- ln é o logaritmo natural.

- Da mesma maneira, exclusivamente ao íon sódio (Na^+), o V_M seria:

$$V_M = E_{\text{Na}} = \frac{RT}{F} \ln \frac{[\text{Na}^+]_e}{[\text{Na}^+]_i}$$

Onde:

- E_{Na} é o potencial de equilíbrio do sódio;
- $[\text{Na}]_e$ é a concentração extracelular do sódio;
- $[\text{Na}]_i$ é a concentração intracelular do sódio.

Em muitas células incluindo os neurônios, a $[\text{Na}]_e$ é muito superior a $[\text{Na}]_i$ e a $[\text{K}]_i$ é muito maior do que a $[\text{K}]_e$, como mostra na [Figura 2.1](#).

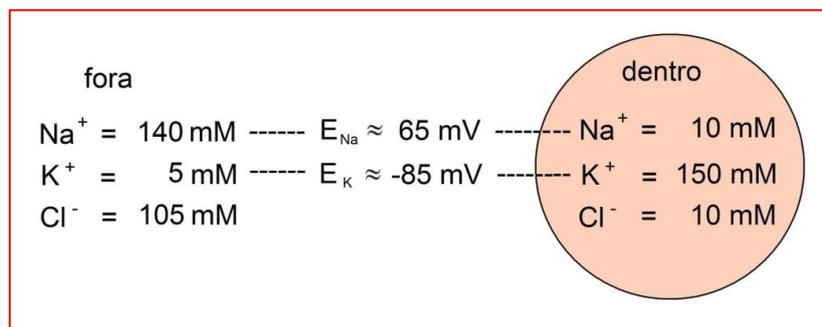


Fig. 2.1 – Concentrações de íons no extracelular e intracelular.

Diagrama simplificado mostra as concentrações, em milimol (mM), desiguais de íons; sódio (Na^+), potássio (K^+) e cloro (Cl^-) nos dois lados da membrana, fora e dentro, de uma célula típica e os potenciais de equilíbrio do sódio (E_{Na}) e potássio (E_{K}), em milivolt (mV).

Normalmente, em repouso, as membranas biológicas e particularmente as neuronais são permeáveis ao Na^+ e K^+ portanto seu potencial de repouso está situado entre o E_{Na} e o E_{K} , a proximidade de qualquer um destes potenciais de equilíbrio depende da permeabilidade relativa ao Na^+ e K^+ . Em uma célula típica, o potencial de membrana (V_M) deve estar entre o potencial de equilíbrio do sódio aproximadamente sessenta e cinco milivolts positivos e o potencial de equilíbrio do potássio aproximadamente oitenta e cinco milivolts negativos, como mostra a [Figura 2.1](#).

As células são normalmente muito mais permeáveis ao K^+ , em repouso, do que ao Na^+ ; portanto, o potencial de repouso é sempre negativo no interior e pode variar ao redor de trinta milivolts negativos até oitenta milivolts negativos, dependendo do grau de permeabilidade ao Na^+ .

Toda vez que o potencial de membrana estiver situado entre o E_{Na} e o E_{K} , o Na^+ tenderá a vazar para dentro e o K^+ a vazar para fora da célula. A não ser que a célula compense a constante perda de K^+ e ganho de Na^+ , o gradiente de concentração iônica irá parar gradualmente de funcionar, o potencial de equilíbrio do sódio e o potencial de equilíbrio do potássio diminuirão em direção a zero e o potencial de membrana irá desaparecer.

Gradiente de Concentração

As células possuem enzimas dependentes metabolicamente, chamadas *bombas*, as quais compensam o vazamento passivo, por bombeamento de K^+ para dentro e Na^+ para fora da célula. Esta molécula, Na^+/K^+ ATPase, é uma bomba de Na^+/K^+ , que utiliza trifosfato de adenosina (ATP) para catalisar o movimento de três Na^+ para fora por dois K^+ para dentro da célula.

Existe uma rede de extrusão de uma carga positiva para fora da célula a cada ciclo da bomba, assim a bomba é eletrogênica. É consenso geral, que a bomba não participa diretamente na geração dos sinais elétricos, mas tem seu efeito principal em manter gradiente de concentração iônico para o Na^+ e K^+ através da membrana celular.

Também, foram encontrados íons de cálcio (Ca^{2+}) a desempenhar um papel importante na transmissão sináptica e na transdução sensorial, as células têm bombas e trocadores de Ca^{2+} , as quais mantêm Ca^{2+} no interior, numa concentração muito inferior do que no exterior da célula.

Canais de Íons

A biologia molecular fornece-nos uma compreensão básica da relação entre a estrutura e a função dos canais de íons em geral. As proteínas do canal têm sequencia de aminoácidos que se estendem através dos lipídios da membrana plasmática, bilateralmente, do interior ao exterior da célula. Contêm uma região especializada, chamada de *região de poro* (P), que formam um canal ou poro, o qual fornece uma via através do quais íons – Na^+ , K^+ , Ca^{2+} e Cl^- – podem passar pela membrana.

A característica relevante dos canais de íons, os quais sustentam o potencial de receptor e o potencial sináptico, que são submetidos a uma transição de um estado fechado para aberto, isto é regulado ou controlado por mudanças no canal, a qual resulta do estímulo sensorial ou do transmissor sináptico, como mostra a [Figura 2.2](#).

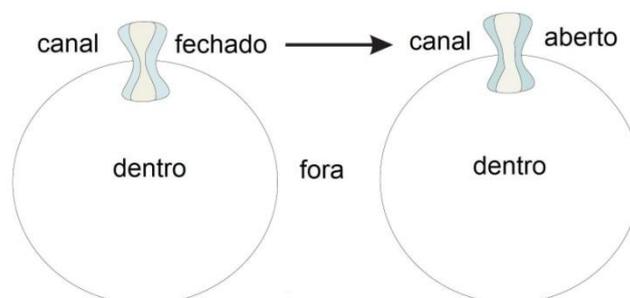


Fig. 2.2 – Região de poro do canal.

A transição da região de poro do canal na membrana de um estado fechado para aberto, por mudanças no canal, a qual resulta do estímulo sensorial ou do transmissor sináptico.

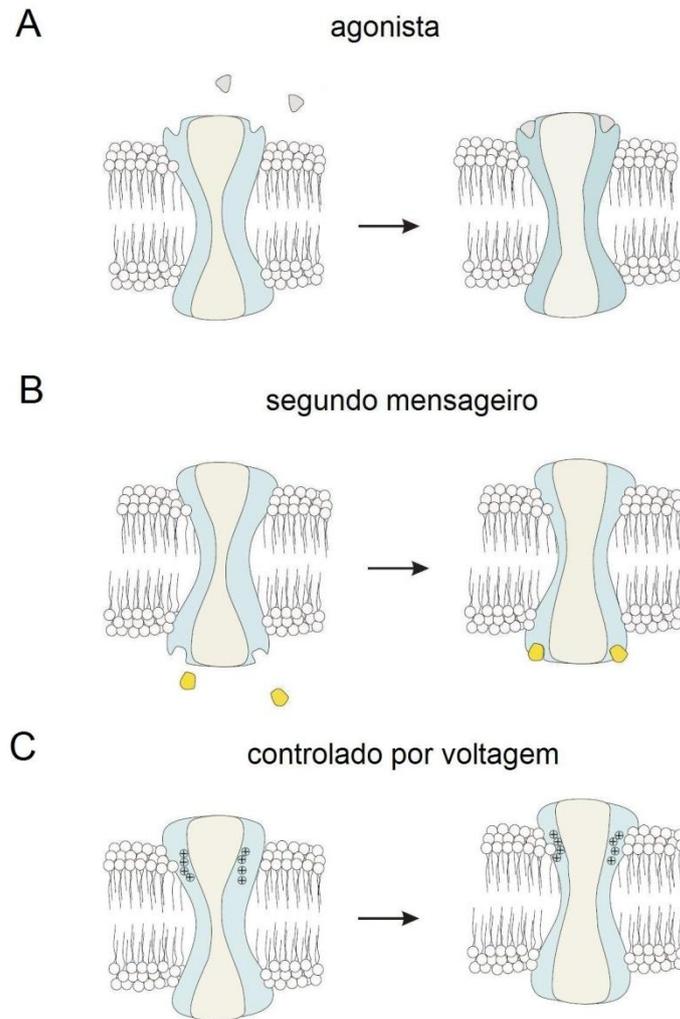


Fig. 2.3 – Mecanismos de comporta dos canais de íons.

Em **A** – ligação de um agonista extracelular na comporta e abertura do canal. **B** – ligação de um segundo mensageiro intracelular na comporta e abertura do canal. **C** – movimento de carga no canal de proteína devido à despolarização da membrana na comporta e abertura do canal.

Os dois mecanismos, bem compreendidos, utilizados na comporta desses canais são mostrados na [Figura 2.3 – A – B](#). Para transmissão sináptica, o transmissor sináptico – ou seja, o ligante – liga-se aos sítios extracelulares do canal de íons da membrana pós-sináptica e as comportas se abrem ([Figura 2.3 – A](#)), esses *canais de íons controlados por ligantes* (LGICs), algumas vezes, são também chamados de *canais ionotrópicos*. Para muitos estímulos sensoriais, um segundo mensageiro intracelular é gerado pelo processo de transdução sensorial na comporta com abertura do canal ([Figura 2.3 – B](#)). Para efeitos de simplicidade, os canais são mostrados com dois sítios de ligação externa ([Figura 2.3 – A](#)) e com dois sítios de ligação interna ([Figura 2.3 – B](#)), embora a natureza dos canais tenha frequentemente mais de dois sítios de ligação.

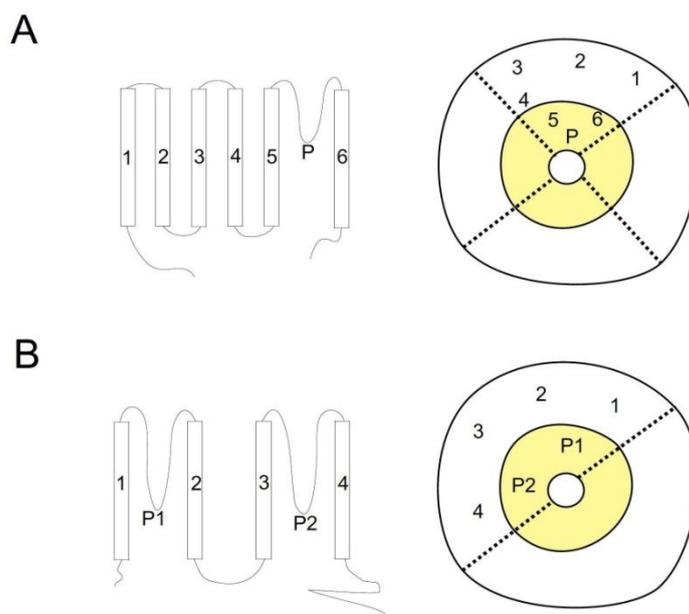


Fig. 2.4 – Ilustração da estrutura dos canais de íons.

A ilustração esquemática da estrutura dos canais com domínio de poro, onde: **A** – um único domínio de poro e **B** – dois domínios de poro.

Estrutura molecular dos canais

Os canais não são normalmente da propriedade de uma única molécula de proteína, mas são os resultados da ligação não covalente de várias subunidades de lado oposto uns aos outros para formar a região do poro. Os canais podem ser *homomérico*, na qual todas as subunidades são idênticas; ou *heteromérico*, isto é ter subunidades não idênticas com propriedades diferentes.

A região de poro pode ser seletiva ao Na^+ , K^+ , Ca^{2+} e Cl^- . Porém, alguns canais são encontrados a permitir que os três cátions – Na^+ , K^+ e Ca^{2+} – passem por sua região de poro, esses canais de cátions são chamados *controlados por nucleotídeo cíclico ativado por hiperpolarização* (HCN).

A maioria dos canais de íons tem três, quatro ou cinco subunidades, organizados em simetria circular, formando um único poro aquoso na interseção axial (veja a [Figura 2.4 – A](#), como exemplo de quatro subunidades). Além disso, a figura mostra que cada subunidade tem apenas um domínio de poro único. Em contrapartida, conforme mostra a [Figura 2.4 – B](#), o canal de vazamento do K^+ é composto de dois domínios no poro, chamado de *canal de potássio de dois poros* (K_{2p}).

Os canais K_{2p} são essenciais à função neuromuscular, porque são responsáveis pelas células, sendo mais permeáveis ao K^+ , em repouso, que ao Na^+ , normalmente estabiliza o potencial de membrana celular, com baixa voltagem de hiperpolarização ao limiar do disparo dos nervos e músculos. Nesses canais, como mostra na [Figura 2.4 – B](#), cada subunidade tem dois domínios de poros, organizado em tandem.

Exceto para os casos onde a ligação do ligante ao LGICs realmente diminui a permeabilidade do canal e diminui a condutância de membrana, o transmissor abre normalmente o canal, permitindo que os íons fluam, aumentando assim a condutância da membrana celular aos íons. A resposta ao ligante desativa quando o ligante desassocia e difunde para fora, o canal muda, em seguida, volta à sua conformação fechada.

Expressão dos canais

Surpreendentemente, a biologia molecular revelou uma multiplicidade de genes para os canais ionotrópicos, os quais parecem ter funções idênticas essencialmente.

Por exemplo, o canal nicotínico da acetilcolina encontrado nos neurônios que normalmente tem cinco subunidades – pentamérica, composto por apenas dois tipos de subunidades, dois alfas (α) e três betas (β). Acontece que existem pelo menos oito genes que codificam a subunidade α e quatro que codificam a β . Assim, existe um grande número de diferentes combinações possíveis das subunidades α e β , em um animal, cuja função não é compreendida. A suposição tácita é que esses genes diferentes evoluíram porque atende a diferentes funções. As duas possibilidades óbvias são que possuem diferentes afinidades a acetilcolina e, portanto, abrem em concentrações diferentes ou têm propriedades de permeabilidade iônicas ligeiramente diferentes.

Tipos de receptores

Ao contrário dos *receptores ionotrópicos*, onde o receptor e o canal são a mesma molécula, o *receptor metabotrópico*, a molécula receptora da comporta é indiretamente do canal, o receptor é uma molécula separada do canal de íon, a qual sustenta o potencial do receptor.

Os receptores metabotrópicos podem ser classificados em dois tipos:

- Receptores acoplados à proteína G (GPCRs)
- Receptores da tirosina quinase (RTKs)

A família dos GPCRs está acoplada a uma molécula efetora, via uma proteína de ligação nucleotídeo guanosina, uma proteína G, daí seu nome. Ativação do componente efetor normalmente requer a participação de várias outras proteínas, além da proteína G. Usualmente a molécula efetora é uma enzima que produz um segundo mensageiro difusível, por exemplo, monofosfato de adenosina cíclico (cAMP), monofosfato de guanosina cíclico (cGMP), ácido araquidônico (AA), diacilglicerol (DAG) ou um polifosfato inositol.

Os segundo mensageiros podem agir diretamente na comporta do canal de íon (veja a [Figura 2.3 – B](#)) ou pode disparar uma cascata bioquímica. Por exemplo, o segundo mensageiro pode mobilizar Ca^{2+} das lojas intracelulares e o Ca^{2+} intracelular elevado pode agir diretamente na comporta do canal de íon. Outra possibilidade é que o segundo mensageiro ative as proteínas quinases específicas – proteínas de transferência do fosfato – que fosforilando o canal de íon ou outras proteínas celulares – assim, alterando suas atividades – e iniciando ou modulando o

potencial de receptor. Em alguns casos, a proteína G do segundo mensageiro pode atuar diretamente no canal de íon.

Os RTKs podem agir na comporta do canal de íon direta ou indiretamente, via fosforilação, isto é a transferência de um grupo fosfato ao canal ou a outras proteínas celulares.

Os canais encontrados na região de codificação e no axônio (consulte a [Figura 1.4](#)), os quais convertem o potencial de receptor em uma série de propagação dos potenciais de ação são controlados por despolarização da membrana (veja a [Figura 2.3 – C](#)) – *os canais de íons controlados por voltagem* (VGICs). Os canais de sódio controlados por voltagem (Na_v) e os canais de potássio controlados por voltagem (K_v) desempenham um papel importante na geração e a propagação dos potenciais de ação. Os canais de cálcio controlados por voltagem (Ca_v) desempenham um importante papel na terminação pré-sináptica, onde funcionam na liberação do transmissor sináptico.

Estímulos Sensoriais

Antes de examinar, os mecanismos moleculares subjacentes à transdução de sinal do nociceptor, são úteis considerar brevemente os tipos de estímulos, os quais ocorrem no tecido durante a lesão. Com ênfase aos estímulos que razoavelmente podem estar envolvidos na transdução de sinal.

Em primeiro lugar, existem os estímulos próprios, tais como: *deformação mecânica no tecido e aumento ou diminuição da temperatura no tecido*. Esses estímulos podem regular diretamente os canais de íons (veja a [Figura 2.2](#)) na membrana plasmática do nociceptor, dando assim origem ao potencial do receptor. Em seguida, existem as alterações locais no meio extracelular resultante da *liberação ou a exposição de moléculas do tecido machucado*. Ou seja, moléculas que normalmente são encontradas no interior das células ou na membrana celular podem agora ser encontradas em ou expostas no espaço extracelular, onde podem ligar aos receptores no plasma do nociceptor. Finalmente, existem *moléculas que entram na região machucada*, como parte da resposta inflamatória do organismo ao ferimento, onde se podem ligar aos receptores na membrana plasmática do nociceptor.

Quaisquer umas destas três possibilidades razoáveis podem participar na transdução de sinal do nociceptor. Idealmente, seria identificar o papel específico na transdução de sinal do nociceptor de todas as substâncias que aparecem no tecido machucado durante os estímulos dolorosos. No entanto, como assinalado na [Seção – I](#), não é possível isolar as terminações nervosas sensoriais dos nociceptores, em um estado não estimulado e estudar como respondem a estímulos dolorosos. Em vez disso, como vimos somos forçados a usar métodos indiretos. Por exemplo, os corpos celulares neuronais de um GDR são frequentemente utilizados após serem isolados e cultivados.

III - TRP

A família dos canais de cátions do *receptor de potencial transitório* (TRP) é de interesse porque vários de seus membros foram implicados na transdução de sinal do nociceptor. Procurando limitar as considerações dos canais do TRP ao seu papel a nocicepção resultou em uma análise superficial de todas as suas propriedades conhecidas.

TRP em fotorreceptores da *Drosófila*

O mutante *trp* foi originalmente isolado em fotorreceptores da *Drosófila*, no qual a resposta luminosa – potencial de receptor – decaiu a linha de base durante a iluminação prolongada (veja a [Figura 3.1](#)), daí o nome *receptor de potencial transitório*.

Foi encontrado um gene para codificar o canal de Ca^{2+} seletivo responsável pelo componente principal da resposta luminosa. Outros dois membros da família TRP das proteínas – TRPL e TRP γ – foram posteriormente encontrados aos fotorreceptores da *Drosófila*, que supostamente são responsáveis pela resposta luminosa residual no mutante *trp*.

A cascata da fototransdução na *Drosófila* é iniciada quando a luz ataca a rodopsina (Rho), a qual leva a estimulação de uma proteína G heterotrimérica que ativa a fosfolipase C (PLC). Revela-se que a ativação do canal, o qual leva ao influxo de cátions no fotorreceptor é mediado, *in vivo*, pelo diacilglicerol (DAG) ou seus metabolitos, os ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs).

Usando a terminologia discutida na [Seção – II](#), a família do TRP na *Drosófila* são os canais de íons controlados por segundo mensageiro ativado descendente do GPCR da Rho.

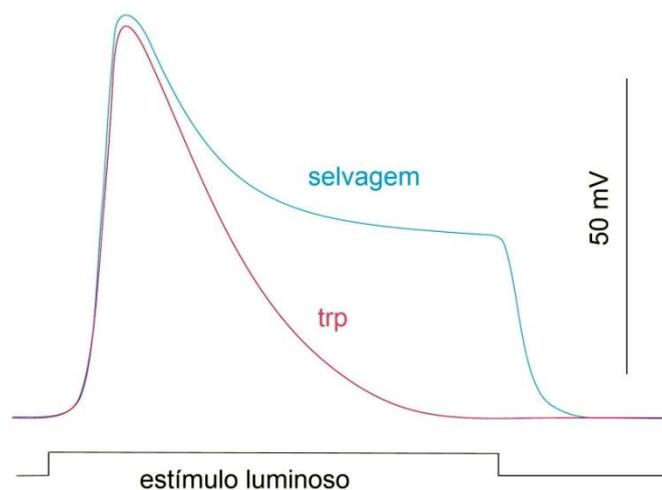


Fig. 3.1 – Resposta luminosa no fotorreceptor da *Drosófila*.

A comparação de tempo no mutante *trp*, à resposta luminosa decaiu a linha de base durante o estímulo luminoso; enquanto no tipo selvagem, o fotorreceptor apresenta uma despolarização mantida durante o estímulo.

TRP nos mamíferos

Baseados na homologia foram identificados numerosos membros da família do TRP, em vertebrados. Nos mamíferos, os membros dessa família foram classificados em seis subfamílias:

- TRPC - canônico;
- TRPV - vaniloide;
- TRPA - anquirina;
- TRPM - melastatina;
- TRPP - policistina;
- TRPML - mucolipina.

Os canais do TRP, em mamíferos, são permeáveis aos cátions e têm seis domínios transmembranas ladeados por regiões terminal-C e -N intracelular. As quatro subunidades são consideradas para reunir como homo e/ou heterotetrâmeros na formação dos canais funcionais. Embora, os canais do TRP podem ser de fraca voltagem dependente, falta o sensor de voltagem dos canais controlados por voltagem (consulte a [Figura 2.3 – C](#)).

Sabor e chemestesia

A sensação de gosto – gustação – é a capacidade de sentir o sabor das substâncias, tal como nos alimentos. As sensações do gosto incluem: doce, salgado, azedo, amargo e umami*. Umami é o sabor que ocorre quando os alimentos são consumidos com aminoácido glutamato. Em contraste com a sensação de gosto, o nervo trigêmeo transmite informações sobre moléculas nocivas e irritantes que entram em contacto com a boca.

As sensações chemestéticas são definidas como aqueles que ocorrem em qualquer lugar no corpo quando produtos químicos ativam os receptores por outras sensações. Desse modo, as sensações transmitidas ao cérebro, quando moléculas nocivas ativam fibras de dor no nervo trigêmeo e são descritas como sensações chemestéticas. A *queimação* da pimenta malagueta e o *esfriamento* do enxaguatório de mentol são exemplos de chemestésias.

Capsaicina

A capsaicina (8-metil-N-vanili1-6-nonenamida) ingrediente pungente ou quente da pimenta malagueta, a qual dá a sensação de queimação ou picante, foi isolada pela primeira vez no século XIX. O interesse nos efeitos sensoriais da capsaicina tem uma longa história. Cristovão Colombo descreve ter comido pimenta malagueta com nativos no novo mundo, há mais de quinhentos anos. Wilbur Scoville desenvolveu um teste e uma escala, em 1912, para medir o picante ou o calor da pimenta malagueta. A escala de Scoville ainda está em uso.

* Significa saboroso, na língua japonesa.

Os efeitos da capsaicina são melhores entendidos, em termos de suas ações excitatórias e dessensibilizantes nos nociceptores polimodais. Os estudos eletrofisiológicos revelam que a capsaicina despolariza os neurônios do GRD (consulte a [Figura 1.1](#)). Diminui sua resistência à entrada de uma forma dependente da concentração, sugerindo que o efeito excitatório específico da capsaicina nos neurônios nociceptivos envolve um aumento na permeabilidade da membrana aos íons, tais como Na^+ e/ou Ca^{2+} . Estudos subsequentes mostraram que a via de permeabilidade iônica discrimina mal entre os cátions, com os bivalentes sendo relativamente mais permeáveis aos monovalentes.

A descoberta da *resiniferatoxina* – um análogo ultrapotente da capsaicina que imita as ações celulares e de um antagonista potente – *capsazepina* – sugeriram fortemente a existência de um receptor de capsaicina específico.

TRPV1

O canal de cátion do *receptor de potencial transitório*, da subfamília *vaniloide* (TRPV), membro *um* (TRPV1) é o *receptor da capsaicina*. Foi clonado usando um ensaio de influxo do Ca^{2+} em células não neuronais, transfectada com ácido desoxirribonucleico complementar (cDNA) construído a partir do ácido ribonucleico (RNA) do GRD⁵. A análise eletrofisiológica provou que o receptor clonado era semelhante ao receptor da capsaicina natural dos neurônios sensoriais, de várias maneiras. As correntes evocadas da capsaicina foram reversíveis na remoção do ligante e as concentrações inferiores nas respostas máximas evocadas da resiniferatoxina, a qual persiste após a remoção do ligante. As curvas de ativação para a corrente capsaicina nos canais naturais e no receptor clonado revelaram coeficientes de dois – equação de Hill – sugerindo a existência de mais de um sítio de ligação da capsaicina.

Os canais do TRPV1 não são ativados somente pela capsaicina, mas também por prótons com pH abaixo de 6.5 e por temperaturas elevadas, confirmando os estudos anteriores mostrando que as correntes evocadas pelo calor, pH baixo e capsaicina são comumente encontradas no mesmo neurônio sensorial. Interessantemente, o canal do TRPV1 é o único membro da subfamília vaniloide que é ativado pela capsaicina: o nocaute* do TRPV1, em humanos e camundongos, resulta em insensibilidade a capsaicina^{6,7}. Analisaremos, os efeitos do pH baixo no canal do TRPV1 junto com seu efeito em outros canais de íons, em seção posterior.

Estudos anteriores mostraram que as correntes evocadas pelo calor e pela capsaicina são encontradas comumente no mesmo neurônio sensorial. Isto levantou a possibilidade de que o canal do TRPV1 era um detector de temperatura, o que habilita os nociceptores térmicos a responder a uma faixa de temperaturas quentes. Então se fosse assim, em animais no qual o TRPV1 foi nocauteado, esperaria um déficit na resposta para aquelas temperaturas quentes que ativam o TRPV1. Paradoxalmente, nos camundongos em que o canal do TRPV1 foi nocauteado, os déficits exibidos na resposta a temperaturas quente, acima de 50°C, considerando que o canal do TRPV1 é ativado nas temperaturas igual ou superior a 42°C.

* Nocaute: técnica genética que consiste em desabilitar a expressão de um gene específico num organismo.

Embora, estes animais foram prejudicados na detecção do calor doloroso, é claro que normalmente usam um mecanismo alternativo, diferente do canal de cátions do TRPV1, para detectar calor nocivo a temperaturas inferiores a 50°C ou têm um mecanismo de auxílio.

Lembre-se que os estímulos nocivos intensos resultando na lesão tecidual, frequentemente conduzem a um aumento na resposta a estímulos dolorosos subsequentes, referido como hiperalgesia, em que a hiperalgesia primária é devido à sensibilização do nociceptor periférico ou a hipersensibilidade. Interessantemente, os camundongos de nocaute do TRPV1 exibiram pouca hipersensibilidade térmica no local da inflamação tecidual do que os camundongos do tipo selvagem expostos à hipersensibilidade normal. Retornaremos a esta conclusão em seção posterior quando consideramos os mecanismos de hiperalgesia.

Todos nós, provavelmente, estamos familiarizados com a dor em queimação, produzida pela aplicação de tinturas alcoólicas, tal como a tintura de iodo, em feridas na pele. A sensação de queimação levanta a possibilidade de que o etanol pode ativar o canal de cátions do TRPV1. Para testar essa ideia, o efeito do etanol nos neurônios isolados do gânglio trigeminal ou GRD, como também nas células HEK293 para expressar o TRPV1, foi investigado⁸. Verificou-se que o etanol ativa o TRPV1 e potencializa as respostas a capsaicina e outros ativadores do TRPV1; apoiando a noção de que o álcool provoca uma sensação de queimação, ativando o TRPV1.

As incertezas e os pressupostos associados à utilização isolada e os cultivados dos neurônios do gânglio trigeminal e do GRD, como também células preparadas a expressar o canal de cátions do TRPV1, tornam essencial que essas conclusões sejam verificadas cuidadosamente e mostrando a refletir o que acontece *in vivo*.

TRPV1 como alvo terapêutico

Em contraste com a hiperalgesia – sensibilidade excessiva ou sensibilidade à dor – após intensos estímulos nocivos, a exposição à capsaicina pode resultar em dessensibilização subsequente.

Considerando que a dessensibilização comparativamente as doses baixas podem ser específica a capsaicina e seus congêneres, as doses altas estão associadas a uma perda da capacidade de resposta a outros estímulos mecânicos nocivos – limiar alto, químicos e calor. Esta dessensibilização cruzada aos estímulos nocivos pela capsaicina sugere o seu uso ou um análogo como um analgésico. Evidentemente o objetivo final, ainda não alcançado, é encontrar um análogo a capsaicina que induz a analgesia, sem primeiro causar dor.

A dessensibilização pela capsaicina está bem documentada, como o grau depende da concentração, com que frequência é aplicada e por quanto tempo. A dessensibilização induzida pela capsaicina foi observada tanto por atividade de registro nos neurônios do GRD (consulte a [Figura 1.1](#)), assim como pelo monitoramento da reação comportamental – a dor. Com doses baixas, aplicada em intervalos de tempo adequados, a dessensibilização não necessariamente acontece de maneira que a excitação dolorosa possa ser reproduzida com cada aplicação de capsaicina. Com doses altas ou exposição prolongada, a dessensibilização

decorre em aplicações consecutivas de capsaicina e se torna menos eficaz ou deixar de produzir qualquer efeito.

Recentemente, um método novo para a produção de analgesia, usando a capsaicina em combinação com um *anestésico local impermeável a membrana* (QX-314) foi descrito⁹. QX-314 é um bloqueador carregado positivamente dos canais de sódio controlados por voltagem (Na_v), que inibe os potenciais de ação quando aplicado intracelularmente, mas o bloqueio falha quando aplicado extracelularmente. A ideia era introduzir QX-314 intracelularmente aos neurônios sensíveis à dor através do canal de cátions do TRPV1 aberto, evitando assim os efeitos motores e táteis que ocorrem com aplicação extracelular do anestésico local, como na lidocaína. Todos nós provavelmente experimentamos a inibição do controle motor e da sensação tátil com o uso do anestésico local durante procedimentos odontológicos. Uma limitação do tratamento da combinação é o mesmo com o uso da capsaicina por si só, isto é a própria capsaicina provoca uma sensação dolorosa, com a combinação era esperado o efeito durante o uso do QX-314.

A inibição do canal de cátions do TRPV1 parece ser uma abordagem simples para produção de analgesia. Entretanto, a situação não é que simples; após a identificação do canal do TRPV1 em nociceptores, uma variedade dos tipos de célula, incluindo: os queratinócitos, as células β pancreáticas, as células endoteliais, os linfócitos, os macrófagos e as células de diferentes regiões do cérebro, mostraram também a expressar o TRPV1. Sua presença, em todos esses tipos de células e em diferentes partes do corpo, sugere que o TRPV1 é estimulado normalmente por um ligante endógeno – endovaniloide – e não por estimulação térmica. Neste contexto é importante salientar, a qual existe evidências acumuladas sugerindo, que ativação do TRPV1 por seu ligante endógeno é essencial para a manutenção da temperatura corporal interna. A capsaicina, além de causar a sensação de queimação, provoca também hipotermia, em uma variedade de animais e a introdução dos antagonistas do canal de cátions do TRPV1 levam a hipertermia; em ratos, camundongos e macacos. Uma sugestão resultante destes estudos é que os canais do TRPV1, na função da regulação de temperatura corporal, são ativados tonicamente via um ligante endógeno. Porque os antagonistas do canal de cátions do TRPV1 causam hipertermia é improvável que podem ser desenvolvidos para utilização sistêmica, como agente autônomo ao tratamento da dor.

Uma possibilidade que deve ser considerada é que um endovaniloide produzido durante a lesão tecidual e assim faz uma mediação na ativação do nociceptor. Por exemplo, o suposto endovaniloide de *N*-araquidonoildopamina (NADA) foi identificado como uma molécula endógena no sistema nervoso, em mamífero, que ocorre em vários núcleos do cérebro e do GRD. Foi originalmente estudado porque ativa os receptores canabinoide e verificou-se subsequentemente a ativar potencialmente o canal de cátions do TRPV1. Como seria esperado para um ligante endógeno do canal do TRPV1 apurou-se que o NADA aumenta a frequência de disparo do potencial de ação dos neurônios nociceptivos espinhal e melhora da resposta aos estímulos térmicos. É necessário mais trabalho para determinar se o NADA ou outro endovaniloide é de fato o ativador normal dos canais do TRPV1.

TRPV2

O canal de cátion do *receptor de potencial transitório*, da subfamília *vaniloide*, membro *dois* (TRPV2) está intimamente relacionado com o receptor da capsaicina – TRPV1 – com o qual compartilha 49% de identidade na sequência. Entretanto o canal do TRPV1 é ativado pela capsaicina e responde a temperaturas acima de 43°C, considerando que o canal do TRPV2 não responde a capsaicina e responde às temperaturas igual ou superior a 52°C. O canal do TRPV2 é expresso em uma variedade de tecidos, incluindo várias regiões do cérebro, medula espinhal e gânglio sensorial. Sua expressão nos tecidos que nunca são expostos a temperaturas tão elevadas, como a 52°C, sugere que o canal de cátions do TRPV2 é normalmente ativado por outros estímulos que não o calor nocivo nessas regiões do corpo.

No entanto, o canal do TRPV2 com base em sua similaridade com do TRPV1 e sua capacidade de detectar estímulos de calor elevado igual ou superior a 52°C, parece ser um candidato provável para detecção de sensações de calor nocivo, em nociceptores. Em estudo utilizando uma preparação *ex vivo* de medula espinhal, de gânglios da raiz dorsal da região torácica e lombar superior, de nervos cutâneos dorsais e de pele dorsolateral do tronco de um lado, o papel do canal de cátions do TRPV2 na sensação térmica nociva foi avaliado. Na preparação *ex vivo* em que as terminações sensoriais do nociceptor permaneceram conectadas ao corpo celular do GRD. Os nociceptores, em preparação *ex vivo*, seriam esperados a ter propriedades mais próximas das células *in vivo* em relação às células isoladas do GRD, pelo tratamento enzimático e cultivadas antes da sua utilização (consulte [Seção – I](#)). Usando a preparação *ex vivo*, em animais para os quais o canal do TRPV1 foi nocauteado, mostra que uma maior população de nociceptores, na qual o canal do TRPV2 não foi expresso conforme determinado pela coloração imuno-histológico, responde normalmente ao calor nocivo de 31°C a 52°C.

Este estudo mostra que existe uma população de nociceptores que, em condições normais, não exigem a presença do canal de cátions do TRPV1 funcional ou do TRPV2 para detectar calor nocivo. Até que um camundongo em que o TRPV2 nocauteado tenha sido relatado, o papel do canal de cátions do TRPV2 na sensação de calor nocivo permanecerá indeterminado.

TRPV3

A cânfora é um composto natural que atualmente utilizado como ingrediente ativo, em gel antioceira, pelo mercado. Foi demonstrado a aumentar a intensidade das sensações cutâneas produzidos durante o aquecimento da pele, consistente com a ativação do canal de cátion do *receptor de potencial transitório*, da subfamília *vaniloide*, membro *três* (TRPV3).

O canal do TRPV3 está intimamente relacionado com do TRPV1 e do TRPV2, com os quais compartilha 43% e 41% de sequência na identidade, respectivamente. O canal de cátions do TRPV3 possui um limiar único: é ativado a temperaturas inócuas com limiar de ativação em torno de 33°C a 35°C e apresenta respostas crescentes em temperaturas nocivas mais altas. Conforme relatado, os camundongos de nocaute do TRPV1 e do TRPV3 exibem déficits comportamentais em resposta a temperaturas ao calor igual ou superior a 50°C. Esta

constatação sugere que o TRPV3 e o TRPV1 têm funções sobrepostas na sensação de calor nocivo. No entanto, em contraste os camundongos de nocaute do TRPV1, o déficit em hiperalgesia ao calor não foi observado em camundongos de nocaute do TRPV3.

TRPV4

O canal de cátion do *receptor de potencial transitório*, da subfamília *vaniloide*, membro *quatro* (TRPV4) é um canal de cátion não seletivo permeável ao Ca^{2+} que compartilha 40% a identidade de aminoácidos com o canal do TRPV1. Exibe propriedades de comporta excepcionais sendo ativado por soluções hipotônicas, como certos derivados do éster de forbol e por temperaturas inócuas, na faixa de 27°C a 34°C.

A ativação por soluções hipotônicas sugere que serve como um sensor para osmolaridade e/ou do estiramento mecânico associados com o edema celular. Além disso, o TRPV4 é ativado por um processo envolvendo o citocromo P450 de formação dependente da epoxigenase dos ácidos epoxieicosatrienoico: concentrações submicromolar do ácido 5',6'-epoxieicosatrienoico ativa o TRPV4. Estes resultados indicam que o TRPV4 pode ser ativado por uma variedade de estímulos físicos e químicos, os quais podem ou não compartilhar um mecanismo comum.

Os camundongos de nocaute do TRPV4 exibem várias anormalidades nas funções fisiológicas que são equiparáveis com o conhecido das propriedades de comporta no canal. Também, apresentavam anormalidades na regulação osmótica e uma acentuada redução à sensibilidade a pressão da cauda. Se o canal de cátions do TRPV4 desempenha um papel na hiperalgesia térmica é controverso. Um estudo¹⁰ concluiu que os camundongos de nocaute do TRPV4 apresentam uma hiperalgesia reduzida de 35°C a 45°C, mas não de 50°C enquanto outro grupo¹¹ diferente não conseguiu encontrar um papel ao canal do TRPV4 na hiperalgesia térmica. Além disso, o primeiro estudo falhou em conseguir encontrar alterações no comportamento térmico agudo em camundongos de nocaute do TRPV4, considerando que o último estudo encontrou latências de retirada por mais tempo durante o aquecimento agudo da cauda de 45°C a 46°C, sugerindo algum papel ao canal do TRPV4 na nocicepção ao calor. Consideraremos o papel do canal do TRPV4 na detecção de estímulos mecânicos nocivos, na [Seção – IV](#), quando considerarmos o papel da ativação do receptor ativado por protease dois (PAR2) na hiperalgesia mecânica.

Em resumo, os canais de cátions do TRPV analisados por estudos de nocaute genético (veja a [Tabela 3.1](#)), o TRPV1 e o TRPV3 mostraram desempenhar um papel na nocicepção térmica. O TRPV1 é necessário na hiperalgesia térmica, enquanto o TRPV3 é dispensável nesta função. Até mais estudos serem realizados, o papel do TRPV4 continuará a ser controverso.

Tab. 3.1 – Os efeitos nos camundongos de nocaute do TRPV.

Canais	Déficits na resposta de temperaturas nocivas	Déficits na hiperalgesia
TRPV1	> 50°C	Pouca térmica
TRPV2	Não relatado	Não relatado
TRPV3	> 50°C	Não observado
TRPV4	Controverso	Controverso

Estas conclusões tornam claro que os combinados de nocaute desses canais (TRPV1/TRPV3, TRPV3/TRPV4 e TRPV1/TRPV3/TRPV4) são desejáveis, se quisermos entender mais plenamente o papel dos canais do TRPV na nocicepção. Um mutante de nocaute do TRPV2 não foi divulgado e seu papel na sensação de calor nocivo continua a ser avaliado.

TRPA1

Os canais de cátions do *receptor de potencial transitório*, da subfamília *anquirina*, membro um (TRPA1) são expressos heterologos e ativados por compostos irritantes como: sementes de mostarda, wasabi*, raiz-forte, óleo de gaultéria, canela, alho, emissões do escapamento de veículos e gás lacrimogêneo; os quais despertam uma sensação dolorosa em queimação ou em picada.

O canal do TRPA1 é expresso em neurônios do GRD e no ouvido interno; no entanto, o TRPA1 não é essencial aparentemente à detecção inicial do som pelas células ciliadas. O papel do TRPA1 como sensor de frio nocivo foi controverso; os camundongos de TRPA1 quando expressados em células CHO são ativados a temperaturas perto de 17°C, o que está próximo do limiar do frio nocivo a seres humanos¹² – 15°C. A controvérsia resultou quando ortólogos, rato e humano, do TRPA1 expressos em qualquer uma linha de célula do rim embrionária humana (HEK293) ou ovócitos de *Xenopus* não foram ativados pelo frio¹³. Posteriormente, outro grupo¹⁴ não conseguiu obter ativação pelo frio em camundongos de TRPA1 expressos heterologos nas células HEK293. Ainda um quarto estudo¹⁵ concluiu que os camundongos de TRPA1 expressados em células HEK293 são um canal ativado pelo frio, que apoia as conclusões anteriores que o TRPA1 responde ao frio nocivo. A controvérsia também foi estendida a camundongos de nocaute do TRPA1. As respostas nociceptivas comportamentais ao contato com uma superfície fria ou ao esfriamento evocado pela evaporação da acetona foram avaliadas por dois grupos diferentes^{16, 17}; com precedente conclusão de uma falta de envolvimento do TRPA1 na detecção aguda ao frio e o outro concluindo uma reduzida sensibilidade ao esfriamento. Estas conclusões contraditórias, sobre a ativação ao frio no canal do TRPA1, parecem ter sido resolvidas pelo trabalho subsequente.

Um estudo¹⁸, em camundongos, no quais todos os neurônios sensoriais expressando o canal de sódio ativado por voltagem de subunidade alfa do tipo VIII (Na_v1.8, veja na [Seção – V](#)) resistente ao tetrodotoxina (TTX-R) foram eliminados, mostrando resistência ao frio nocivo, avaliados usando uma placa fria a 0°C. Esta conclusão foi semelhante ao que foi observado em camundongos de nocaute do TRPA1 utilizando uma placa fria a 0°C. Significativamente, os camundongos de nocaute do Na_v1.8 também apresentaram uma redução significativa na expressão do TRPA1 em neurônios do GRD e a falta de uma resposta nociceptiva ao TRPA1 mediado ao formol (veja a [Seção – V](#)). Além disso, um estudo¹⁹ posterior forneceu uma explicação plausível às discrepâncias nos trabalhos anteriores descritos acima e concluiu que o TRPA1 atua como um sensor ao frio, *in vitro* e *in vivo*.

* Rabanete japonês

Em contraste ao debate sobre o papel do canal de TRPA1 como um sensor de frio nocivo, o papel na excitação do nociceptor evocado pela bradicinina (BK) e hipersensibilidade a dor, não foi controverso. A BK é um peptídeo contendo nove resíduos de aminoácidos – nonopeptídeo, que é liberado em tecidos inflamados onde induz a dor e a hipersensibilidade mecânica e térmica. As injeções de BK, em camundongos de nocaute do TRPA1, foram muito menos dolorosas e mostraram pouca ou nenhuma prova de hipersensibilidade térmica ou mecânica. Ambas as consequências são esperadas se o canal de TRPA1 faz uma mediação às ações da BK. Veremos mais profundamente os efeitos da BK no TRPA1, junto com seu efeito sobre TRPV1 e outros canais de cátions na [Seção – V](#).

TRPM8

A capacidade do canal de cátion do *receptor de potencial transitório*, da subfamília *melastatina*, membro *oito* (TRPM8) recombinante em ser ativado pelo frio, é amplamente aceito. O canal do TRPM8 é ativado por agentes de esfriamento, como mentol ou temperaturas abaixo de 26°C. Além disso, três estudos independentes utilizando os camundongos de nocaute do TRPM8 indicam que o TRPM8 está envolvido na sensação de frio nocivo.

A dor induzida, pelo esfriamento de evaporação na pata, foi medida com observação das respostas de lambida e encolhimento da pata estimulada, em camundongos normais e de nocaute do TRPM8: os camundongos de nocaute manifestam comportamento significativamente reduzido em comparação com os normais²⁰. Um resultado semelhante foi encontrado por outro grupo²¹ que, além disso, constataram: “[...] injeção de icilina, um composto sintético que ativa a TRPM8, em muito menor grau o TRPA1, na pata traseira dos camundongos de tipo selvagem causa a indução rápida retirada da pata traseira, quando o camundongo é colocado sobre uma placa fria de 1°C. Este comportamento é completamente removido, em camundongos de nocaute do TRPM8, sugerindo que a ativação do TRPM8 pode obter como uma reposta nociceptiva”. O terceiro grupo²² também encontrou uma resposta nociceptiva reduzida ao esfriamento por evaporação na pata, em camundongo de nocaute do TRPM8. Além disso, estes pesquisadores também verificaram que após o ferimento causado pela constrição da ligadura do nervo ciático, em camundongos normais, os quais apresentaram uma maior sensibilidade à acetona, com lambida prolongada e agitação da pata. Enquanto os camundongos de nocaute do TRPM8 exibiram aumento não significativo na resposta ao esfriamento pela evaporação na pata. Estes dados indicam claramente que o canal de TRPM8 está envolvido na sensação de frio nocivo.

Os camundongos de nocaute do TRPM8 mantêm um número neurônios sensíveis ao frio, indicando que o TRPM8 não é receptor ativado só pelo frio. A combinação de nocaute dos TRPA1 e TRPM8 poderia ajudar a explicar o papel relativo do TRPA1 e do TRPM8 na detecção do frio nocivo.

IV – Mediadores Químicos

Em longo prazo, uma das metas de investigação da dor é identificar os mediadores químicos, liberados dos tecidos feridos ou doentes, que são responsáveis pela ativação e sensibilização dos nociceptores.

Os mediadores químicos interagem com canais de íons na membrana plasmática do nociceptor utilizando os mecanismos de sinalização, como os usados em outra parte do sistema nervoso. Esses mediadores podem agir quer diretamente nos canais de íons controlados por ligante (LGICs) – *receptores ionotrópicos* – ou indiretamente por – *receptores metabotrópicos* – via os receptores acoplados à proteína G (GPCRs) ou os receptores da tirosina quinase (RTKs), reveja a [Seção – II](#).

Os pesquisadores em dor distinguem dois aspectos da sensibilização: *alodinia* – dor resultante do estímulo normalmente inócuo; e *hiperalgesia* – uma resposta realçada ao estímulo normalmente não doloroso.

Serotonina

Em seres humanos, a injeção de serotonina (5-hidroxitriptamina – 5HT) produz dor e hiperalgesia. A origem da 5-HT humana são as plaquetas que são conhecidas por desempenhar um papel importante na inflamação, *in vivo*.

Em suporte a essa ideia é a constatação de que a injeção cutânea de plaquetas provoca dor aguda e hiperalgesia²³. De maneira diferente das terminações nervosas dos neurônios contendo 5-HT, as plaquetas não sintetizam 5-HT e pelo contrário dependem de absorção do plasma. De maneira interessante, a proteína responsável pela absorção da 5-HT na plaqueta humana é idêntica ao transportador da 5-HT no cérebro. Os *inibidores seletivos da recaptção de serotonina* usados no tratamento da depressão reduzem significativamente a concentração da 5-HT nas plaquetas, em pacientes deprimidos²⁴. Uma suposição razoavelmente pode ser que, nestes pacientes, exista uma redução significativa de liberação da 5-HT das plaquetas, no tecido lesado ou inflamado, resultando em redução na dor induzida pela 5-HT.

A família dos receptores da 5-HT nos mamíferos é ampla, agrupados em sete tipos – 5-HT₁ a 5HT₇ – consistindo de 14 subtipos de receptores diferentes. Embora a 5-HT conhecida em desempenhar um papel importante na nocicepção, existe apenas uma avaliação limitada dos subtipos do receptor da 5-HT envolvidos neste processo e ainda interagem entre si e com outros mediadores químicos da nocicepção.

Receptor 5-HT_{2A}

A injeção intraplantar de 5-HT ou α -metil-5-HT – um agonista do *receptor da 5-hidroxitriptamina do tipo dois e subtipo A* (5-HT_{2A}), em ratos reduz significativamente a

latência de retirada da pata à estimulação ao calor radiante. Além disso, o pré-tratamento²⁵ com cetanserina – um antagonista do receptor 5-HT_{2A} – atenua a resposta comportamental após a injeção da 5-HT. Estes resultados sugerem que o receptor 5-HT_{2A} está envolvido na hiperalgesia induzida pela 5-HT no ferimento agudo ou na inflamação. Estas conclusões foram ampliadas, mostrando que a inibição do receptor 5-HT_{2A}, em ratos: por injeção local – intraplantar – de sarpogrelata bloqueia a hiperalgesia primária térmica²⁶. A injeção sistêmica de sarpogrelata²⁷ bloqueia a hiperalgesia térmica induzida por adjuvante de Freund completo (CFA). A injeção local de cetanserina produziu inibição dose dependente da hiperalgesia evocada pela carragenana²⁸. Juntos estes resultados sugerem que a 5-HT tem um papel principal na hiperalgesia resultante do ferimento tecidual por ativação dos receptores 5-HT_{2A} nos terminais nervosos do nociceptor.

O receptor 5-HT_{2A} é um GPCR e sua ativação leva a despolarização do potencial de membrana em repouso dos neurônios do GRD isolados agudamente de ratos. Nas células exibindo uma resposta mediada pelo receptor 5-HT_{2A}, a 5-HT e a α -metil-5-HT despolarizam o potencial de membrana em repouso e diminui a permeabilidade da membrana (veja a [Seção – II](#)), medido eletricamente como um *aumento* da inclinação na relação da voltagem de corrente da membrana (veja [adiante](#)). Nas células agudamente isoladas que revelaram uma despolarização mediada pelo receptor 5-HT_{2A} e o potencial de reversão (E_{rev}) a despolarização era linearmente relacionada ao logaritmo da concentração de potássio $[K^+]$ extracelular, indicando que a despolarização resultou de uma *diminuição* permeabilidade ao potássio (P_K) em repouso²⁹.

Potencial de receptor

A fim de entender os diferentes mecanismos pelos quais os canais de íons despolarizam a membrana plasmática – potencial de receptor – consideremos uma situação idealizada:

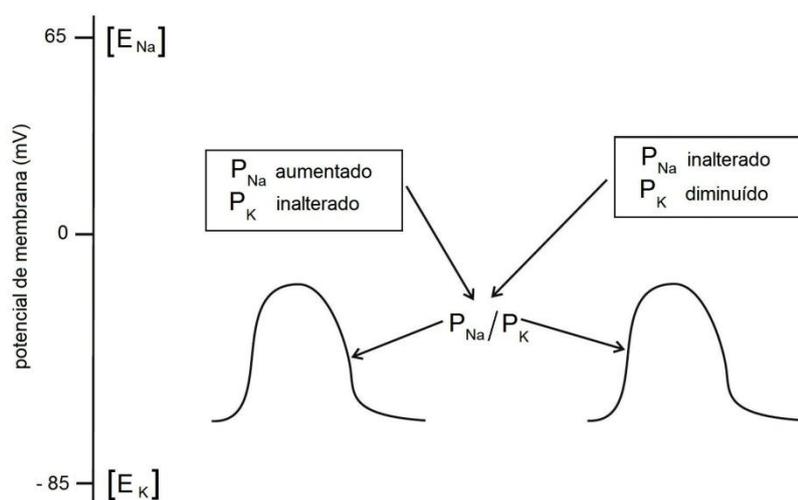


Fig. 4.1 – Despolarização do potencial de receptor.

A mesma despolarização do potencial de receptor pode ser gerada por um *aumento* da permeabilidade ao sódio (P_{Na}) ou uma *diminuição* da permeabilidade ao potássio (P_K).

As duas situações ilustradas na [Figura 4.1](#) são para uma célula que tem permeabilidade de repouso ao íon sódio (Na^+) e ao potássio (K^+) e os seus respectivos potenciais de equilíbrio ao sódio (E_{Na}) e ao potássio (E_{K}). A despolarização da membrana resulta do aumento da razão a permeabilidade ao sódio (P_{Na}) em relação a permeabilidade ao potássio (P_{K}), ou seja a permeabilidade ao aumento do Na^+ em relação ao K^+ . Idealmente, isso pode acontecer quando: a P_{Na} aumenta e a P_{K} permanece a mesma, conforme lado esquerdo da ilustração, *maior permeabilidade provoca uma redução na inclinação da resistência*; ou quando, a P_{Na} permanece a mesma e a P_{K} diminui, *menor permeabilidade provoca um aumento na inclinação da resistência*, como no lado direito.

Canais $\text{K}_{2\text{P}}$

Os canais de potássio de dois poros ($\text{K}_{2\text{P}}$) (veja a [Figura 2.4 – B](#)) são considerados responsáveis pela P_{K} em repouso nas células. Portanto, parece razoável *especular* que a diminuição da P_{K} resulta do fechamento dos canais $\text{K}_{2\text{P}}$ nas células do GRD avaliadas.

Em um sistema de expressão heterólogo³⁰, tem se mostrado os efeitos excitatórios de um GPCR ocorre via inibição de alguns canais de $\text{K}_{2\text{P}}$. O canal $\text{K}_{2\text{P}2.1}$ (TREK-1) é amplamente colocalizado com o canal de TRPV1 tornando um candidato a um dos canais responsáveis pela P_{K} em repouso dos nociceptores. Além disso, quando o canal $\text{K}_{2\text{P}2.1}$ é nocauteado, os animais são mais sensíveis aos estímulos mecânicos de limiar baixo e exibem um aumento na hiperalgesia mecânica e térmica em condições de inflamação³¹.

Seria interessante determinar se o canal $\text{K}_{2\text{P}2.1}$ ou algum outro canal $\text{K}_{2\text{P}}$ está envolvido na resposta mediada por $5\text{-HT}_{2\text{A}}$. Se o fechamento dos canais de K^+ podem causar dor como estas conclusões indicam, em seguida, outra conclusão a tirar este trabalho é que a abertura dos canais de K^+ em nociceptores é, potencialmente, um mecanismo importante na antinocicepção. Voltaremos a esta ideia, quando considerarmos o papel dos canais de K^+ na antinocicepção induzida por agonistas do receptor de opioide.

Receptores 5-HT_3

Em contraste com todos os outros receptores da serotonina que são GPCRs, o *receptor da 5-hidroxitriptamina do tipo três* (5-HT_3) é um LGIC constituído de cinco monômeros, formando uma região central de poro (consulte a [Figura 2.4 – A](#)). Foram identificados cinco subunidades, os subtipos $5\text{-HT}_{3\text{A}}$ a $5\text{-HT}_{3\text{E}}$, os receptores funcionais $5\text{-HT}_{3\text{A}}$ homomérico e os $5\text{-HT}_{3\text{A/B}}$ heteromérico verificaram ser expressos em neurônios. Exibindo uma resposta ao receptor 5-HT_3 em neurônio do GRD, a 5-HT e 2-metil-5HT produziram uma despolarização com diminuição da resistência de entrada. Além disso, o E_{rev} para a resposta da despolarização ficou menos negativo quando a $[\text{K}^+]$ extracelular foi elevada a 10 mM e a despolarização foi convertida a hiperpolarização em uma solução de Na^+ livre, indicando que a resposta do receptor 5-HT_3 resultou de um *aumento* da permeabilidade ao Na^+ e K^+ .

Os estudos em camundongos de nocaute do 5-HT_{3A} levam os autores à interpretação que os receptores 5-HT₃ não estão envolvidos na dor aguda, mas são necessários na *dor persistente*. Usando o teste de formalina (veja adiante) descobriram que a primeira fase no comportamento de dor não difere entre os camundongos do tipo selvagem e do mutante. Em contraste, a segunda fase no comportamento de dor foi significativamente reduzida em animais mutantes, indicando que os receptores 5-HT₃ são importantes à *dor persistente*³². Além disso, observou também uma redução significativa no comportamento da segunda fase do teste de formalina após a administração intratecal – espaço subaracnoide – de um antagonista de receptor 5-HT₃, sugerindo que os receptores 5-HT₃ são afetados na medula espinhal.

Teste de formalina

O teste de formalina é amplamente usado para avaliar os efeitos dos compostos analgésicos em animais de laboratório. Os estímulos nocivos em camundongos é uma injeção de solução diluída de formalina debaixo da pele na superfície dorsal da pata traseira. A resposta é a quantidade de tempo que os animais passam lambe a pata injetada. Existem dois períodos distintos de lambida, uma *fase precoce* dura os primeiros 5 minutos e uma *fase tardia* dura de 20 a 30 minutos após a injeção. Em geral acredita-se que a fase precoce é devido a um efeito direto nos nociceptores.

Bradicinina

Em seres humanos, a injeção intradérmica de bradicinina (BK) dose dependente produz dor e hiperalgesia de calor, indicando que a BK tanto excita como sensibiliza os nociceptores³³. A BK é um polipeptídeo formado no sangue; provoca contração do músculo liso não vascular, potente vasodilatador de alguns vasos sanguíneos, aumenta a permeabilidade vascular e o mais importante ao nosso propósito está envolvida no mecanismo de dor.

A inflamação local seguinte à lesão tecidual aciona a liberação de BK (nonapeptídeo H-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg-OH), produzida pela calicreína mediada clivagem enzimática de cininogênio no local do ferimento ou inflamação tecidual. As calicreínas são proteases de serina que liberam as cininas – BK e calidina – dos cininogênios – cininogênio de alto peso molecular e de baixo peso molecular. A calicreína dos tecidos humanos libera preferencialmente a calidina (decapeptídeo Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg-OH) dos cininogênios. A pré-calicreína é a precursora da calicreína e só pode ativar as cininas depois de ativadas durante o ferimento ou inflamação tecidual.

Uma vez formada a BK é degradada por duas enzimas: a carboxipeptidase-N, conhecida também como cininase-I; e a *enzima conversora de angiotensina* (ECA), também chamada cininase-II. A cininase-I transforma BK e calidina em seus metabolitos ativos, des-Arg⁹-BK e Lis-des-Arg⁹-BK, ou seja, BK e calidina sem seus resíduos de arginina no terminal-C. A ECA remove o dipeptídeo do terminal-C da BK ou Lis-BK, que conduz à sua desativação.

Os inibidores da ECA conduzem a um aumento de BK devido à diminuição da degradação e também uma *diminuição da angiotensina* – um vasoconstrictor – que são utilizados no *tratamento da hipertensão arterial*. Sugeriu-se que alguns efeitos da redução da pressão da arterial dos inibidores da ECA podem ser devido a seus efeitos sobre a BK.

Receptores B₁ e B₂

As ações da BK são mediadas por meio de dois GPCRs – o receptor B₁ de bradicinina (B₁) e o receptor B₂ de bradicinina (B₂). A BK ativa os receptores B₂ enquanto os receptores B₁ apresentam maior afinidade a des-Arg⁹-BK, ou seja, o receptor B₁ é seletivo ao metabólito da cinina, sem o resíduo de arginina no terminal-C.

Os *receptores B₂* são constitutivamente expressos em neurônios do GRD e acredita-se que seja o *subtipo do receptor da bradicinina funcional predominante nos tecidos não traumatizados*. Por outro lado, os *receptores B₁* não são normalmente expressos constitutivamente de extensão significativa, mas são de forma ascendente durante a *inflamação crônica*. Como o receptor B₁ não está presente em tecidos não inflamados é um alvo atraente ao desenvolvimento de antagonistas, como poderiam ser esperados a causar poucos efeitos indesejados.

Uma vez que o receptor B₂ é um GPCR, tem de haver um canal de íon que seja ativado descendente no B₂. Além disso, dado que a ativação do receptor B₂ provoca hiperalgesia térmica e que os camundongos de nocaute do TRPV1 apresentam pouca hipersensibilidade térmica no local da inflamação tecidual, é plausível que o TRPV1 pode ser o canal de íons que age descendente sobre a BK.

Em dois estudos de camundongos de nocaute do TRPV1, a BK obteve disparos do potencial de ação em fibras C, em ambos os casos não houve nenhuma diferença na resposta inicial aos camundongos de nocaute em comparação aos camundongos normais. Em um dos estudos a resposta aos camundongos de nocaute foi menos persistente do que aos camundongos normais³⁴, enquanto no outro não houve nenhuma diferença significativa³⁵. Estas conclusões sugerem que o canal do TRPV1 contribui, mas não é necessária ao receptor B₂ mediada excitação do nociceptor.

Por outro lado, a injeção de BK intraplantar produziu hipersensibilidade térmica substancial em camundongos de tipo selvagem, mas não em camundongos de nocaute do TRPV1, demonstrando que o canal do TRPV1 é necessário, *in vivo*, ao desenvolvimento da hipersensibilidade térmica induzida pela BK³⁶.

Modelos moleculares

A ativação da maioria das células pela bradicinina (BK) é mediada pela fosfolipase C (PLC) e/ou fosfolipase A₂ (PLA₂), por conseguinte estas são as vias bioquímicas que provavelmente medeiam entre o receptor B₂ e o canal do TRPV1 (veja a [Figura 4.2 – A – B](#)).

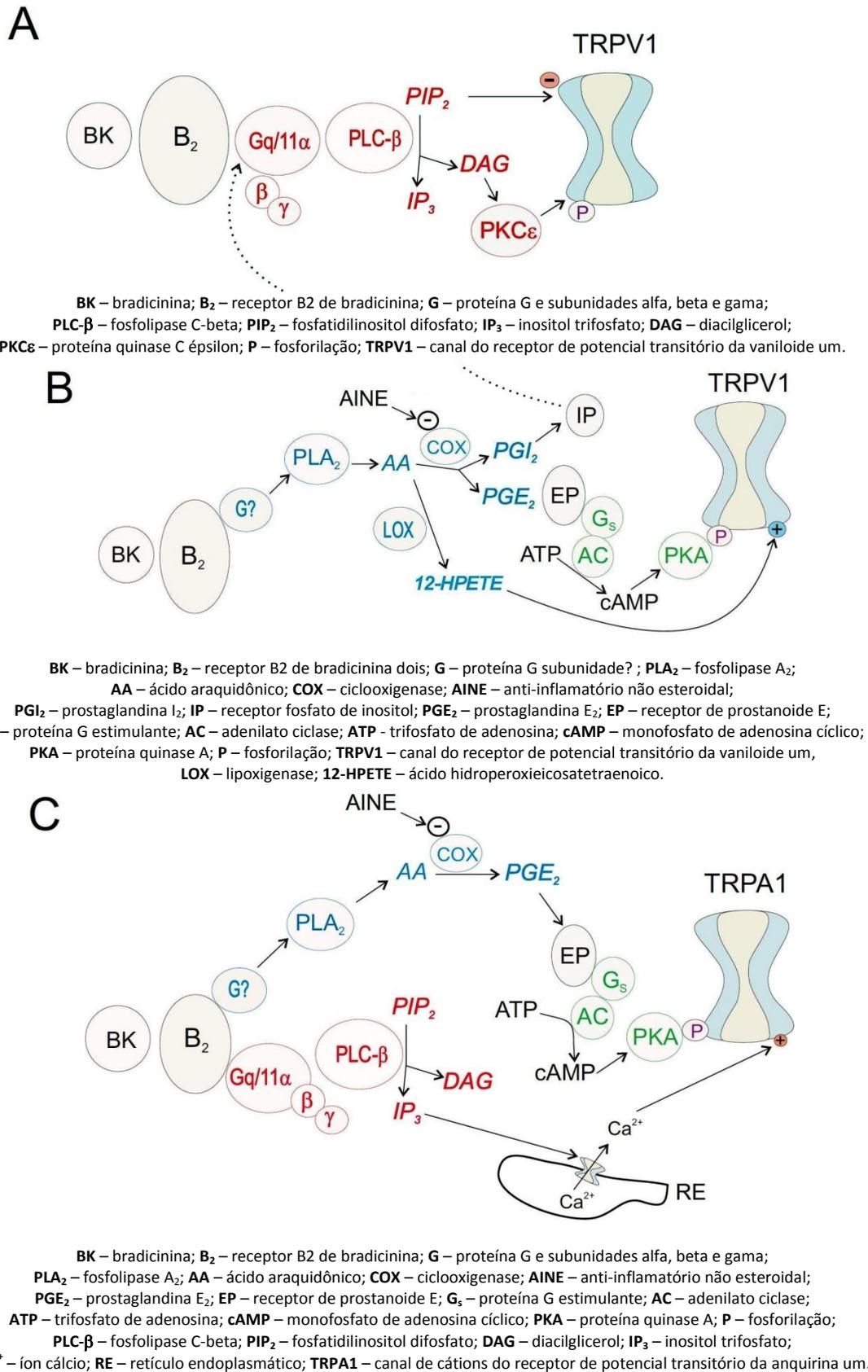


Fig. 4.2 – Modelos esquemáticos implicados na modulação da bradicinina.

O esquema mostra a vias bioquímicas que são implicadas na modulação da bradicinina (BK) ao receptor B2 de bradicinina (B₂), via: **A** – PLC-β ao TRPV1; **B** – PLA₂ ao TRPV1; **C** – PLA₂ e PLC-β ao TRPA1.

A grande parte das evidências que suportam esse modelo vem das experiências usando os corpos celulares neuronais do GRD ou dos sistemas de expressão heterólogos. É importante ter em mente que as incertezas e as suposições associadas com esses procedimentos tornarem essenciais e as conclusões devem ser verificadas com muito cuidado e demonstradas se assemelham ao que ocorre realmente, *in vivo*.

B₂ – via PLC-β → TRPV1

O receptor B₂ é acoplado à enzima fosfolipase C-beta (PLC-β) via proteína de ligação nucleotídeo guanosina Gq/11 (veja a [Figura 4.2 – A](#)).

Os heterotriméricos das proteínas G; alfa, beta e gama (Gαβγ) da família Gq/11 estimulados pela PLC-β via membros da família Gq/11α (Gqα, G11α, G14α e G15/16α). As diferentes subunidades, cinco β e de doze γ, foram descritas permitindo inúmeras possibilidades de coexpressão às subunidades α, β e γ. A composição exata da subunidade a acoplada Gq/11 ao receptor B₂ é desconhecida e indicada na ilustração como Gq/11α,β,γ.

A ligação da BK ao receptor B₂ leva a ativação do Gq/11α, via troca do trifosfato de guanosina (GTP) por difosfato de guanosina (GDP) no sítio da ligação do nucleotídeo e a dissociação das subunidades βγ. Em transformar Gq/11α ativada ligada com GTP ativa a enzima PLC-β que hidrolisa PIP₂ (fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato) a forma IP₃ (inositol 1,4,5-trisfosfato) e DAG (diacilglicerol). A subunidade Gq/11α é uma GTPase intrínseca, hidrolisando o fosfato terminal da GTP para restaurar a GDP no sítio da ligação nucleotídeo levando a reassociação de Gq/11α com a subunidades βγ assim retornando Gq/11α ao estado inativo.

A evidência disponível até sugere dois mecanismos possíveis pela qual a hidrólise modula a atividade do PIP₂ ao canal do TRPV1: quer por fosforilação do TRPV1 por ativação da proteína quinase C (PKC) via DAG e/ou por depleção do PIP₂ que normalmente atua a inibir o TRPV1.

Resumidamente, a evidência dos neurônios isolados do GRD e das células HEK293 expressando o canal do TRPV1 e o receptor B₂ demonstra que a estimulação com BK, ou ativação da PKC, reduz o limiar da temperatura por ativação das correntes do TRPV1^{37, 38}. Além disso, a inibição da proteína quinase C épsilon (PKCε) resulta em uma diminuição de 70% na sensibilização do canal TRPV1 por BK³⁹. Esta constatação não exclui um papel a outras isoformas da PKC em desempenhar um papel na sensibilização do canal do TRPV1 por BK. Já que a PKCε normalmente ativada pela DAG é razoável supor que este é o mecanismo de ativação da PKCε em nociceptores.

No outro mecanismo, um estudo³⁶ usando sistemas de expressão heterólogos, ficou demonstrado que a diminuição em nível do PIP₂ na membrana plasmática imita os efeitos da potencialização da BK no canal do TRPV1. O papel do PIP₂ na regulação do TRPV1 pode ser mais complicado do que mostrado na ilustração: a evidência sugere um modelo no qual o PIP₂ tem um efeito inibitório e ativador sobre o TRPV1⁴⁰. Uma ativação e o efeito inibitório concomitante é o resultado de uma dependência da distribuição normal de atividade do canal

de TRPV1 sobre níveis do PIP₂. Se níveis do PIP₂ em repouso é elevado, que está à direita do pico da curva de resposta da dose normal, uma diminuição moderada nos níveis dos PIP₂ resultará em maior atividade do TRPV1, considerando que ainda diminua os níveis do PIP₂ à esquerda do pico resultará na inibição do canal. A exposição dos nociceptores contendo o canal do TRPV1 a doses elevadas de capsaicina está associada com uma perda da capacidade de resposta a capsaicina, bem como a outros estímulos nocivos mecânicos, químicos e calor (veja a [Seção – III](#)). Foi sugerido que doses elevadas de capsaicina ativa ao máximo o canal de cátion do TRPV1, causando um grande influxo de Ca²⁺ que ativa PLC, assim a depleção do PIP₂, causando uma inibição profunda do canal do TRPV1, o qual é responsável pela perda da capacidade de resposta a capsaicina e a outros estímulos.

B₂ – via PLA₂ → TRPV1

A evidência cumulativa do número dos tipos de células demonstrou que os GPCRs podem acoplar a PLA₂, no entanto qual proteína G é usada para acoplar o receptor B₂ a PLA₂ no nociceptores não tenha ainda sido determinada, por isso a interrogação assinalada entre B₂ e PLA₂ (veja a [Figura 4.2 – B](#)).

A PLA₂ ativada cataliticamente hidrolisa os fosfolipídios liberando o *ácido araquidônico* (AA). As duas vias importantes do metabolismo do AA são as vias da *ciclooxigenase* (COX) e da *lipoxigenase* (LOX). A via da COX forma compostos intermediários que em seguida são convertidos em compostos ativos biologicamente, os quais incluem as prostaglandinas – *prostaglandina E₂* (PGE₂) e *prostaglandina I₂* (PGI₂) – enquanto a via da 12-LOX produz o ácido *12-hidroperoxieicosatetraenoico* (12-HPETE). Assim, os mediadores dos lipídios – PGE₂, PGI₂ e 12-HPETE – são conjecturados a serem produzidos em nociceptor em resposta a BK.

Apesar de estarmos considerando o papel da PGE₂, PGI₂ e 12-HPETE na mediação dos efeitos da BK, devem ser mantido em mente que estes mediadores dos lipídios não têm de ser produzidos no nociceptor onde agem. Também pode ser produzida por outras células próximas durante o ferimento tecidual – não necessariamente em resposta a bradicinina – e então difundem ao nociceptor; isto é conhecido como: *sinalização paracrina*.

12-HPETE

Primeiro, considere as evidências que apoiam a via do AA → LOX → 12-HPETE. Os experimentos com neurônios do GRD cultivados e fibras nervosas cutâneas na preparação de nervo-pele, *in vitro*, demonstraram que a BK agindo através do receptor B₂, excita terminações nervosas sensoriais ativando o canal do TRPV1 via a produção de metabólitos da LOX do AA⁴¹. Além de a BK estimular diretamente na produção de 12-HPETE, que foi mostrado em um sistema de expressão para ativar diretamente o canal do TRPV1⁴².

Não é claro até que ponto esta via normalmente contribui ao receptor B₂ mediada excitação do nociceptor dada à evidência, discutida acima, os camundongos de nocaute do TRPV1, que ativação do canal do TRPV1 não é necessária à ativação do nociceptor pela BK^{34, 35}.

PGE₂

É preciso considerar que a PGE₂ por si só provoca dor e hiperalgisia térmica. A injeção intraplantar de PGE₂, em pata traseira de camundongos, dose dependente produz de curta duração o comportamento de lamber a pata – nociceptivo – quando comparado com os animais de controle⁴³. Além disso, houve uma redução na latência da retirada de pata – hiperalgisia térmica – após a injeção de PGE₂ intraplantar, que foi significativamente reduzida em camundongos de nocaute do canal TRPV1⁴⁴. Além do mais, usando uma preparação de nervo-pele isolada, hiperalgisia térmica induzida pela BK foi mostrada a ser mediada por ativação da COX⁴⁵.

A diversidade das ações da PGE₂ é supostamente resultante da sua interação com uma família dos GPCRs, os *receptores de prostanoide E* (EP), designados EP₁ a EP₄, os quais são encontrados em neurônios do GRD⁴⁶. A identidade do receptor ou dos receptores EP que acopla a PGE₂ a hiperalgisia térmica é ainda controverso. A ativação dos receptores EP pela PGE₂ pode estimular a PKA, PKC e *proteínas quinases ativada por mitógeno* (MAPKs).

Em células transfectadas com o canal do TRPV1, as correntes ativadas de calor foram muito potencializadas pela ativação da PKA e a potenciação foi muito reduzida em células transfectadas com TRPV1 mutantes tendo mutações em locais de fosforilação da PKA⁴⁷. Além disso, a interrupção da proteína ancorada PKA, em camundongos de AKAP150, declinou a diminuição na latência da retirada de pata, os estímulos térmicos induzidos pela injeção de PGE₂ intraplantar, mas não afeta sensibilidade térmica em condições basais⁴⁸. Estes resultados sugerem que a hiperalgisia térmica induzida pela PGE₂ é em parte mediada pela PKA. O EP está acoplado a PKA via a proteína G estimulante (G_s) que ativa a enzima adenilato ciclase (AC). A enzima AC catalisa a conversão de trifosfato de adenosina (ATP) em monofosfato de adenosina cíclico (cAMP) que, por sua vez ativa PKA.

Em um estudo separado⁴⁹, a hiperalgisia térmica induzida por injeção intraplantar de PGE₂ não foi afetado com nocaute da PKCε.

PGI₂

Em contraste com a família dos receptores EP para a PGE₂, existe apenas um único *receptor fosfato de inositol* (IP) para PGI₂.

Usando o *ensaio de contorção abdominal* induzido pelo ácido acético, onde uma injeção intraperitonealmente da solução de ácido acético diluída provoca a resposta de sequencia de contrações abdominais em camundongo de tipo selvagem, os camundongos de nocaute do IP mostraram uma resposta de contorção consideravelmente reduzida em comparação com os camundongos de tipo selvagem⁵⁰.

Além do mais, a hiperalgisia térmica induzida pela injeção de PGI₂ intraplantar foi significativamente diminuída em camundongos de nocaute do TRPV1 e os camundongos de

nocautes do IP, indicando que a PGI_2 sensibiliza o canal do TRPV1 via receptores IP. Além disso, a potenciação induzida pela PGI_2 nos neurônios do GRD de ativação da capsaicina no TRPV1 foi suprimida por um inibidor da PLC e também por um inibidor da $PKC\epsilon$ sugerindo o envolvimento de um via dependente de PLC e $PKC\epsilon$ ⁴³. Na [figura 4.2](#), uma linha pontilhada partindo do PI – na [ilustração B](#) – para $Gq/11\alpha$ – da [ilustração A](#) – indica isso.

Canal do TRPV1 e do TRPA1

É importante verificar se o modelo descreve o real, *in vivo*, do acoplamento entre o receptor B_2 e o canal do TRPV1. O mecanismo de nocicepção induzido pela BK – lamber a pata – foi testado, pela injeção de BK em pata de camundongos na presença de diferentes inibidores de enzimas. Os inibidores seletivos da PLC, PKC, PLA_2 ou LOX diminuíram acentuadamente a nocicepção causado por BK, mas não da capsaicina⁵¹. Até agora estas conclusões são coerentes com o modelo apresentado na [Figura 4.2 – A – B](#).

O TRPV1 não é o único canal de cátions do TRP que desempenha um papel na ativação e sensibilização dos nociceptores pela BK, o TRPA1 também foi implicado. Em camundongos de nocaute do TRPA1, as respostas induzidas pela BK em neurônios do GRD foram reduzidas significativamente, mas não ausentes e comparáveis em camundongos de nocaute do TRPV1⁵². Em estudo comportamental, em camundongos, verificou-se que após injeção subcutânea BK intraplantar, os camundongos do tipo selvagem passaram quase três vezes mais tempo a cuidar da pata afetada que os camundongos de nocaute do TRPA1⁵³. Estes resultados sugerem que a ativação do TRPA1 desempenha um papel na dor aguda causada por BK.

Em atenção a hipersensibilidade a dor, não há evidências da hipersensibilidade térmica induzida pela BK com injeção intraplantar em camundongos de nocaute do TRPA1⁵¹. Assim TRPV1 e TRPA1 são necessários ao desenvolvimento da hiperalgesia térmica induzida pela BK.

Estudos de colocalização, utilizando anticorpos para o TRPA1 e o TRPV1 revelaram que todos os neurônios com TRPA1 positivos também expressam o TRPV1⁵⁴, indicando que as vias bioquímicas, mostradas na [Figura 4.2 – A – B](#), são utilizadas na modulação do canal do TRPA1.

B_2 – via PLA_2 – PLC- β → TRPA1

Embora a evidência experimental não seja tão extensa quanto ao canal de cátions do TRPV1, podemos sugerir que, em certa medida, as mesmas vias que modulam o canal do TRPV1 também afetam o TRPA1 (veja [Figura 4.2 – C](#)).

Usando um sistema de expressão heterólogo e neurônios do GRD, a via tanto o PLC como a PKA foram mostrados a transportar correntes potencializadas ao canal do TRPA1⁵⁵. Portanto, as vias para ativação do PLC e da PKA são as mesmas (veja [Figura 4.2 – A – B](#)). No entanto, o inibidor da PKC não preveniu a potenciação pela BK dos transportes de correntes pelo TRPA1 e o ativador da PKC não potencializou a resposta do TRPA1. Estas conclusões indicam que a

ativação PKC não contribui para a sensibilização do canal do TRPA1, que é diferente do mecanismo para sensibilização do TRPV1; por isso, a PCK ϵ não está presente na ilustração.

O Ca²⁺ intracelular é um importante mensageiro intracelular e a liberação do Ca²⁺ das lojas intracelulares – retículo endoplasmático (RE) – foi mostrado a ativar diretamente o TRPA1^{56, 57}. Assim, o IP₃ induziu a via de liberação do Ca²⁺. Estudos complementares serão necessários para elucidar a natureza exata da interação funcional entre TRPV1 e TRPA1. Uma possibilidade é que o TRPV1 e o TRPA1 combinem para formar canais hetero e multiméricos.

A ação analgésica dos anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), como a *aspirina*, é produzida por meio de sua inibição da COX, a enzima que produz as prostaglandinas. Baseado no modelo molecular, podemos concluir que um dos locais de ação do AINE é a ativação da COX pela BK nos nociceptores (veja a [Figure 4.2 – B – C](#)).

Trifosfato de Adenosina

O *trifosfato de adenosina* (ATP) é uma importante fonte de energia intracelular, onde é produzido durante a respiração celular e consumido por muitos processos celulares. As experiências em seres humanos têm mostrado que a libertação do ATP na pele provoca dor de forma dose dependente⁵⁸.

Já que o ATP é impermeável à membrana, os receptores do ATP localizado na membrana plasmática do nociceptor são necessários para detectar a liberação do ATP das células machucadas no espaço extracelular. O ATP dirige-se a dois tipos de receptores distintos da *família de receptores purinérgicos* (P2): ativa o *purinoceptor do canal de íons controlado por ligante* (P2X) e o *purinoceptor acoplado à proteína G* (P2Y). Atualmente, foram identificados sete diferentes subtipos do receptor P2X e oito subtipos do P2Y.

Receptores P2X

Normalmente, o *purinoceptor do canal de íons controlado por ligante* dois (P2X₂) e o três (P2X₃) são expressos por pequenos neurônios sensoriais do GRD. Os resultados experimentais sugerem que as correntes induzidas pelo ATP em neurônios do GRD são mediadas por receptores homoméricos P2X₃ e heteroméricos P2X₂/P2X₃.

Em camundongos de nocaute do P2X₃ houve uma perda significativa de aproximadamente 90% dos neurônios do GRD responsivos ao ATP⁵⁹. Uma pequena resposta residual sustentada ao ATP foi vista em alguns neurônios do GRD em camundongo de nocaute duplo do P2X₂/P2X₃ indicando a presença de baixos níveis de outras subunidades de receptores P2X ou P2Y em alguns neurônios⁶⁰.

A fase precoce no comportamento da dor induzida pela formalina foi significativamente reduzida em camundongos de nocaute do P2X₃, embora as respostas a outros estímulos nocivos fossem normais^{58, 61}. Por outro lado, a fase precoce no comportamento da dor

induzida pela formalina não foi atenuada em camundongos de nocaute do P2X₂⁵⁹. Estas conclusões trazidas, *in vivo*, juntamente com os resultados, *in vitro*, discutidas acima sustentam a noção de que o canal ionotrópico P2X₃ sinaliza a *dor aguda* do tecido machucado.

A-317491 é um antagonista não nucleotídeo que tem alta afinidade e seletividade ao bloqueio dos canais P2X₃ e P2X₂/P2X₃, foi encontrada a produzir uma similar redução de dor induzida pela formalina como foi produzida nos camundongos de nocaute⁶². Além disso, como nos camundongos de nocaute as respostas aos estímulos mecânico e térmico nocivos estavam normais. Tomadas em conjunto, os resultados *in vitro*, as conclusões nos camundongos de nocaute e aqueles com A-317491 forneceram forte evidência que os canais contendo P2X₃ contribuem a nocicepção.

Canal do TRPA1

Curiosamente, os camundongos de nocaute do TRPA1 apresenta uma redução significativa em todas as fases do comportamento da dor induzida pela formalina incluindo a fase precoce⁶³. A atenuação da fase precoce do comportamento da dor induzida pela formalina em camundongos de nocaute do TRPA1 é muito maior do que em camundongos de nocaute do P2X₃. No momento não é claro que tipo de relacionamento e se existir entre o canal P2X₃ e do TRPA1.

O formaldeído, ingrediente ativo da formalina, é um fixador covalente de ligações cruzadas às proteínas na forma não específica. Estas ligações cruzadas levam a uma variedade de efeitos, incluindo a lesão tecidual geral. A consideração foi que a lesão tecidual libera o ATP das células e a liberação do ATP ativa os receptores P2X₃. Em contraste, a conclusão com o canal do TRPA1 indica que há um efeito direto da formalina no TRPA1 ao invés de um efeito indireto através da lesão tecidual inespecífica⁶².

Os canais do TRPA1 são ativados por uma variedade de compostos irritantes; o mecanismo de ativação da formalina é provável que seja semelhante a estes compostos, que são o conceito da modificação covalente induzida do TRPA1 (veja a [Seção – III](#)).

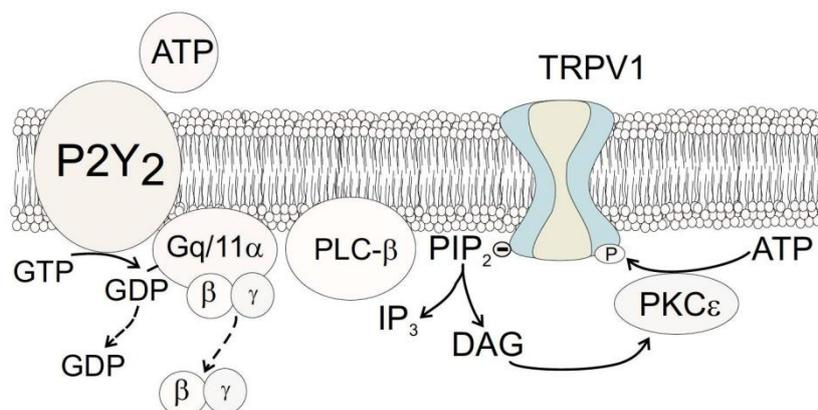
Receptores P2Y

Os neurônios do GRD expressam também o *purinoceptor acoplado à proteína G* um (P2Y₁) e o dois (P2Y₂) e foram implicados na potenciação da dor.

A injeção de ATP extracelular tem mostrado a induzir hiperalgesia térmica em camundongos. A hiperalgesia térmica⁶⁴ foi perdida em camundongos de nocaute do TRPV1 e preservada em camundongos de nocaute do P2Y₁ enquanto em camundongos de nocaute do P2Y₂ não apresentaram hiperalgesia térmica significativa⁶⁵. Além disso, camundongos de nocaute do P2Y₂ mostram déficits na sensação de calor nocivo – mas não ao frio – em comparação com os camundongos de tipo selvagem.

Canal do TRPV1

A próxima pergunta óbvia é como ativação do receptor P2Y₂ leva à hipersensibilidade térmica, a qual foi perdida nos camundongos de nocaute do TRPV1. Uma explicação simples seria que a ativação do receptor P2Y₂ faz com que o canal do TRPV1 seja modificado de modo que sua sensibilidade térmica é aumentada.



ATP – trifosfato de adenosina; **P2Y₂** – purinoceptor acoplado à proteína G dois; **GTP** – trifosfato de guanosina; **GDP** – difosfato de guanosina; **Gq/11α** – proteína G – subunidade α; **βγ** – subunidades β e γ; **PLC-β** – fosfolipase C beta; **PIP₂** – fosfatidilinositol difosfato; **IP₃** – inositol trifosfato; **DAG** – diacilglicerol; **PKCε** – proteína quinase C épsilon; **P** – fosforilação; **TRPV1** – canal do receptor de potencial transitório da vaniloide um.

Fig. 4.3 - Ativação do P2Y₂ pelo ATP causa hipersensibilidade térmica.

Dois mecanismos possíveis: por fosforilação do canal do TRPV1 ou a liberação da inibição por PIP₂.

A melhor evidência disponível sugere que o purinoceptor acoplado à proteína G dois (P2Y₂) é acoplado à enzima PLC-β via proteína de ligação nucleotídeo guanosina Gq/11. Dois mecanismos possíveis que a hidrólise do PIP₂ modula a atividade do canal do TRPV1: a modulação do TRPV1 ocorre pela fosforilação através da ativação da PKC-ε via DAG ou pela depleção do PIP₂, que normalmente atua a inibir o canal do TRPV1 (veja [Figura 4.3](#)).

Proteases

As proteases na circulação, que geradas durante o ferimento tecidual, foram mostradas a ativar uma família dos GPCRs, os receptores ativados por proteases (PARs). Estes receptores desempenham um papel na homeostasia, inflamação e dor.

As proteases clivam o domínio extracelular do terminal-N dos PARs para expor aos ligantes amarrados, os quais ligam e ativam os receptores clivados (veja a [Figura 4.5](#)). Quatro PARs foram identificados, PAR1 a PAR4, por clonagem molecular. Destes, o PAR1 e o PAR2 estão presentes em neurônios do GRD e mostraram a desempenhar um papel na inflamação neurogênica, ou seja, os sintomas inflamatórios que resultar da libertação de substâncias dos terminais do nervo primário sensorial (veja a [seguir](#)).

O PAR2 é ativado pelas proteases serina de triptase e tripsina. Apesar de a tripsina ser capaz de ativar o PAR2, a tripsina propriamente dita não está presente na maioria dos tecidos, desse modo provavelmente não é uma enzima endógena que ativa o PAR2. Contrariamente, a triptase é libertada durante a degranulação dos mastócitos em seres humanos e capaz de clivar o PAR2, em células normalmente expressando PAR2 ou em células transfectada com o receptor. Portanto, a triptase é uma candidata provável a enzima que ativa o PAR2 (veja Figura 4.5). A trombina parece ser a mais provável agonista a ativar o PAR1 neuronal.

Inflamação neurogênica

Há mais de um século foi documentado que a *estimulação antidrômica* – condução dos potenciais de ação em sentido oposto ao normal – nas fibras aferentes sensoriais resulta em *eritema* – vermelhidão da pele. A conclusão de que a ativação periférica dos neurônios aferentes sensoriais é capaz de produzir manifestação de uma resposta inflamatória conhecida como *inflamação neurogênica*.

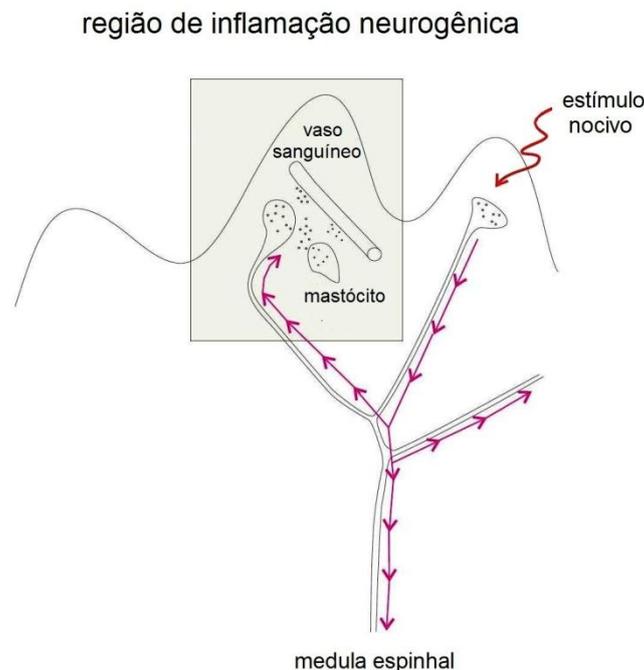


Fig. 4.4 – Esquema do processo de inflamação neurogênica.

Um estímulo nocivo causa a despolarização do terminal de um nociceptor, assim iniciando a propagação dos potenciais de ação no axônio. As setas mostram a direção da propagação. A propagação dos potenciais de ação ao longo do axônio no sentido da medula espinhal e também invade os processos de ramificações terminais próximas – *arborização* – do nociceptor.

A destruição dos neurônios sensíveis a capsaicina diminui extremamente a inflamação neurogênica produzida pela estimulação antidrômica das fibras aferentes sensoriais, implicando os nociceptores sensíveis a capsaicina na inflamação neurogênica. O resultado do estímulo nocivo na geração de uma série de potenciais de ação em nociceptores, que são

conduzidos por seus axônios à medula espinhal e após o processamento pelo cérebro, uma sensação de dor ocorre (como descrito na [Seção – I](#)). Por outro lado, os potenciais de ação vão invadir retrogradamente os processos de ramificações terminais – *arborização* – do nociceptor (veja a [Figura 4.4](#)).

A despolarização resultante no terminal causa a liberação dos neuropeptídios – *substância P* (SP) e *peptídeo relacionado ao gene da calcitonina* (CGRP) – que por sua vez atuam em células alvo na periferia, como os mastócitos e o músculo liso vascular produzindo a inflamação, a qual é caracterizada pela *vermelhidão, calor e inchaço*^{66, 67}.

Em geral o CGRP não induz a hiperalgesia de calor nos nociceptores, porém adequadamente escolhido nas linhagens de camundongos, o CGRP induz a hiperalgesia de calor⁶⁸. Portanto, dependendo da linhagem do camundongo, a inflamação neurogênica pode causar hiperalgesia. Presumivelmente, há uma variabilidade semelhante na capacidade do CGRP a induzir hiperalgesia de calor em nociceptores dos seres humanos.

PAR2

O *receptor ativado por proteases dois* (PAR2) é ativado pelas proteases serina triptase e tripsina, adicionalmente um peptídeo sintético curto, SLIGRL (SLIGRL-NH₂ – Ser-Leu-Ile-Gly-Arg-Leu-amida), com base na sequência do ligante amarrado foi mostrado a ativar o receptor e assim imitar os efeitos das proteases (veja a [Figura 4.5](#)). A Injeção de SLIGRL na pata do rato foi mostrada induzir a inflamação neurogênica, a qual depende da liberação do CGRP e da SP⁶⁹.

Algumas pesquisas têm tentado *excluir* a possibilidade que o comportamento nociceptivo e os efeitos hiperalgésicos da ativação do PAR2 podem ser secundários à resposta inflamatória neurogênica. A Injeção intraplantar de SLIGRL, em doses subinflamatória, foi encontrada a induzir hiperalgesia térmica, morder e comportamento de lambar – nociceptivo.

Canal do TRPV1

O canal do TRPV1 é necessário a hiperalgesia resultante dos estímulos nocivos intensos, o qual resulta em lesão tecidual (veja a [Seção – III](#)) e ao desenvolvimento da hipersensibilidade térmica induzida pela BK. Da mesma forma, verificou-se que a hiperalgesia induzida no PAR2 resulta da sensibilização do canal do TRPV1⁷⁰, mas foi abolido pela capsazepina – um antagonista do receptor da capsaicina – apesar de inibir a hiperalgesia térmica não inibiu a nocicepção⁷¹ – tempo gastado em lambar e morder a pata injetada – induzida no PAR2.

Outras pesquisas, em neurônios do GRD e em células HEK293 transfectadas, indicaram que o PAR2 ativa PKCε e PKA em neurônios do GRD e assim sensibiliza o canal de TRPV1⁷². Esta conclusão tem semelhança com a sensibilização do canal de TRPV1 pela BK ativando a via PKCε e PKA (consulte a [Figura 4.2](#)).

Apesar de a capsazepina ter inibido a hiperalgesia térmica induzida no PAR2, não inibiu a dor imediata, o que implica na existência de outra via que excita o nociceptor. Uma pesquisa⁷³ de inervação de neurônios nociceptivos do cólon em camundongos, a superinfusão de SLIGRL por 3 minutos, causou uma despolarização sustentada que estava associada a uma maior resistência de entrada, que durou até 60 minutos e foi bloqueada por: calfofina – um inibidor da PKC e PD98059 – inibidor de quinases reguladas por sinal extracelular um e dois (ERK_{1/2}). A despolarização da membrana e o aumento na resistência de entrada após a ativação do PAR2 provavelmente resulta do fechamento da abertura dos canais de K⁺ no potencial de membrana em repouso.

Canais K_{2P}

Os canais de potássio de dois poros (K_{2P}) são considerados ser responsáveis à permeabilidade ao K⁺ em repouso nas células, portanto são provavelmente os canais de K⁺ que são fechados após a ativação do PAR2.

O canal K_{2P}2.1 (TREK-1) é expresso em nociceptores e animais de nocaute do K_{2P}2.1 são hipersensíveis aos estímulos mecânicos³¹. Talvez o K_{2P}2.1 ou algum outro canal K_{2P} está envolvido na despolarização mediada por PAR2. Além de bloquear a permeabilidade do K⁺ em repouso, o SLIGRL suprime acentuadamente – 55% – as correntes do potássio retificador tardio⁷². A despolarização da membrana abre o canal retificador tardio, que tende a trazer o potencial de membrana de volta ao potencial de repouso, portanto a supressão do retificador tardio seria esperada a melhorar e prolongar a despolarização da membrana causada por outros canais de íons.

A injeção intraplantar, em rato, de uma dose subinflamatória de 10 µg de SLIGRL induz a uma hiperalgesia térmica e *mecânica* prolongada⁷⁴ enquanto a injeção de uma dose muito inferior produzido apenas hiperalgesia térmica⁷⁵. Posteriormente, foi “conjeturado que a hiperalgesia mecânica mediada por PAR2 requer sensibilização do TRPV4”⁷⁶. Descobriram que hiperalgesia mecânica mediada por PAR2 não foi observada em camundongos de nocaute do TRPV4. Além disso, a injeção intraplantar de agonista do TRPV4 – 4α-forbol 12,13-didecanoato (4α-PDD) produzido hiperalgesia mecânica em camundongos normais⁷⁷ que não foi observada em camundongos de nocaute do TRPV4⁷⁵. Por último, descobriram que “antagonistas da PLC-β e da PKA, PKC e PKD inibiram a sensibilização induzida por PAR2 da corrente e sinais de Ca²⁺ no TRPV4”.

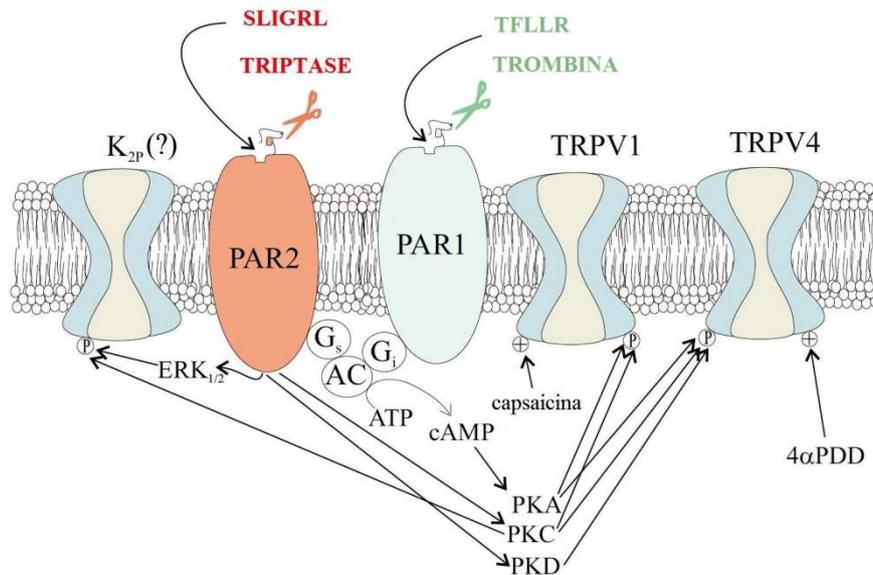
Numa tentativa de resumir os diferentes mecanismos descritos acima, pela qual a ativação do PAR2 é conceituada a causar dor e a hiperalgesia térmica e mecânica, veja a [Figura 4.5](#).

PAR1

Da mesma maneira que o PAR2 é ativado por um peptídeo sintético curto, o *receptor ativado por proteases um* (PAR1) pode ser ativado seletivamente por um peptídeo agonista, TFLLR

(TFLLR-NH₂ – Thr-Phe-Leu-Leu-Arg-amida), correspondente ao ligante amarrado ao receptor PAR1.

A injeção intraplantar de TFLLR, em dose subinflamatória, aumenta o limiar e a latência da retirada da pata aos estímulos mecânico e térmico⁷⁸. A evidência disponível de outros sistemas sugere que o PAR1 é acoplado negativamente a adenilato ciclase (AC) via proteína G inibitória (Gi), assim inibindo a ativação da PKA. Deste modo, analgesia induzida no PAR1 possivelmente pode ser explicada pela inibição do AC (veja a Figura 4.5).



SLIGRL – SLIGRL-NH₂ – Ser-Leu-Ile-Gly-Arg-Leu-amida; **Triptase**;
PAR2 – receptor ativado por proteases dois; **ERK 1/2** – quinases reguladas por sinal extracelular um e dois;
K_{2P}2.1(?) – canal de potássio de dois poros; **P** – fosforilação;
PKA – proteína quinase A; **PKC** – proteína quinase C; **PKD** – proteína quinase D;
TFLLR – TFLLR-NH₂ – Thr-Phe-Leu-Leu-Arg-amida; **Trombina**;
PAR1 – receptor ativado por proteases um; **G_s** – proteína G estimulação; **G_i** – proteína G inibitória;
AC – adenilato ciclase; **ATP** – trifosfato de adenosina; **cAMP** – monofosfato de adenosina cíclico;
TRPV1 – canal de cátions do receptor de potencial transitório da vaniloide um; **Capsaicina**;
TRPV4 – canal do receptor transitório vaniloide quatro; **4α-PDD** – 4α-forbol didecanoato 12,13-didecanoato.

Fig. 4.5 – Mecanismos de ativação e inibição do nociceptor pelo PAR1 e PAR2.

PAR4

Adicionalmente, foi identificado o *receptor ativado por proteases quatro* (PAR4) como outro importante receptor na analgesia⁷⁹.

A injeção intraplantar de um peptídeo sintético curto, GYPGKF (GYPGKF-NH₂ – Gly-Tyr-Pro-Gly-Lys-Phe-amida), com base na sequência do ligante amarrado ao PAR4, aumentou limiar nociceptivo a resposta ao estímulo nocivo térmico e mecânico. Além disso, coinjeção de GYPGKF com carragenina reduziu significativamente a resultante da hiperalgesia e alodinia.

pH Baixo

A injeção de soluções ácidas – pH 5.0 a 6.0 – causa dor em queimação intensa⁸⁰ e uma diminuição substancial do pH – 6.6 a 7.4 – no líquido sinovial pode ser encontrada nas articulações inflamadas⁸¹.

Não há consenso sobre a identidade do receptor molecular específico que é ativado por um pH baixo, em nociceptores.

Canal do TRPV1

Uma diminuição no pH extracelular tem dois efeitos no canal de cátions do TRPV1: primeiro, os prótons extracelulares abaixam o limiar de ativação do TRPV1 pela capsaicina e pelo calor; segundo, abaixa acidificação – pH 6.0 – abre diretamente o canal.

É improvável que o canal do TRPV1 seja o único sensor para prótons extracelulares porque as fibras nervosas individuais na pele do rato, as quais disparam os potenciais de ação em resposta a prótons, não são sempre disparadas em resposta a capsaicina.

Além disso, a resposta a prótons foi reduzida, mas não eliminada⁸², nos neurônios do GRD dos camundongos de nocaute do TRPV1.

ASICs

A descoberta e subsequente clonagem dos *canais de íons sensíveis a ácido* (ASICs) tornaram-se os candidatos ao sensor de prótons extracelulares. Normalmente, uma fração significativa dos neurônios do GRD de ratos exibem correntes transitórias semelhante ao ASIC em resposta a prótons – pH 5.0 – em contraste a camundongos transgênicos expressando uma forma negativa dominante do ASIC3, nenhum dos neurônios exibiu correntes transitórias semelhante ao ASIC⁸³. Surpreendentemente, em testes comportamentais de camundongos transgênicos verificou-se ser *mais* sensíveis a um número de modalidades da dor que os camundongos de tipo selvagem, tornando-se improvável que sejam transdutores diretos aos estímulos nociceptivos.

A sensibilidade aos prótons nos neurônios do GRD, em seres humanos, foi examinada pela acidificação rápida do fluido extracelular de pH 7.35 a 6.00 causando uma despolarização prolongada do potencial de membrana em todas as 40 células testadas⁸⁴. Surpreendentemente, a despolarização da membrana foi associada a uma diminuição na condutância de membrana em 27 das 40 células testadas, em vez do aumento na condutância que seria esperado com a ativação do TRPV1 ou do ASICs (consulte a [Figura 4.1](#)). Subsequentes experimentos de substituição dos íons indicaram que a diminuição na condutância após a acidificação era devido a uma diminuição da permeabilidade ao K⁺ de fundo⁸⁵.

Canais K_{p2}

Na medida em que, os canais de potássio de dois poros (K_{2p}) são considerados ser responsáveis à permeabilidade ao K^+ , em repouso nas células, é possível que um canal de K_{p2} sensível ao ácido está envolvido.

Dois canais de K_{p2} – $K_{2p3.1}$ (TASK-1) e $K_{2p5.1}$ (TASK-2) – e um canal de potássio de retificação interna – $K_{ir2.3}$, que são bloqueados por prótons, foram identificadas em neurônios GRD⁸⁴. Os canais de K_{ir} não são retificadores perfeitos; podem passar algumas correntes para fora na faixa de voltagem acima do potencial de repouso, portanto sua inibição seria esperada a melhorar e prolongar a despolarização da membrana causada por outros canais de íons.

Os efeitos dos prótons acima considerados podem envolver o efeito direto em vários canais de íons diferentes acima expostos – TRPV1, ASICs, $K_{2p3.1}$, $K_{2p5.1}$, $K_{ir2.3}$. No entanto é possível que os efeitos dos prótons sejam mediados por uma molécula receptora, a qual é separada realmente do canal de íon que está sendo modulado. Recentemente, GPCRs sensíveis a próton foram identificados⁸⁶ e posteriormente mostrados estar presente nos neurônios do GRD de pequenos diâmetros responsáveis pela nocicepção⁸⁷.

Usando um sistema de expressão ovócito *Xenopus*, a acidose externa foi mostrada modular negativa profundamente atividade do canal $K_{2p2.1}$ (TREK-1) em seres humanos⁸⁸. Os autores foram capazes de distinguir um componente rápido e lento na diminuição das correntes do canal do $K_{2p2.1}$ resultante da exposição ao baixo pH externo. O componente rápido resultou de protonação dos resíduos extracelulares no $K_{2p2.1}$. Enquanto o componente lento, da dessensibilização do $K_{2p2.1}$, foi mediado por um GPCR sensível ao próton, a qual pareceu ativar a PLC. Existe um número de vias em que a ativação da PLC poderia potencialmente modular a atividade do canal do $K_{2p2.1}$ (consulte a [Figura 4.2](#)).

O artigo original⁸⁵ descrevendo GPCR sensível ao próton mostra que o receptor foi inativo em pH 7.8 e totalmente ativado em pH 6.8. Desde modo, tornar apenas fraco para moderado à acidificação extracelular para ativar totalmente o GPCR sensível ao próton, tornando os receptores ideais a detecção da acidificação extracelular.

Ácido Lisofosfatídico

O *ácido lisofosfatídico* (LPA), o simples glicerolfosfolípido (1-acil-sn-glicerol-3-fosfato) tem um mol de ácidos graxos por mol de lipídio: onde o ácido graxo pode ser saturado ou insaturado, dependendo do tecido.

O LPA é rapidamente produzido e liberado das plaquetas ativadas e mais abundante no soro – 1 a 5 μ M – do que no plasma. Onde plasma é a parte líquida do sangue que é separada das células do sangue e soro é o fluido restante após agitação do plasma para precipitar um coágulo.

Até agora foram identificados sete GPCRs – LPA₁ a LPA₇ – específicos. As vias, as quais podem dar origem à produção do LPA, são ilustradas na [Figura 4.6](#). Em camundongos, a injeção intraplantar de LPA provoca respostas doloridas⁸⁹.

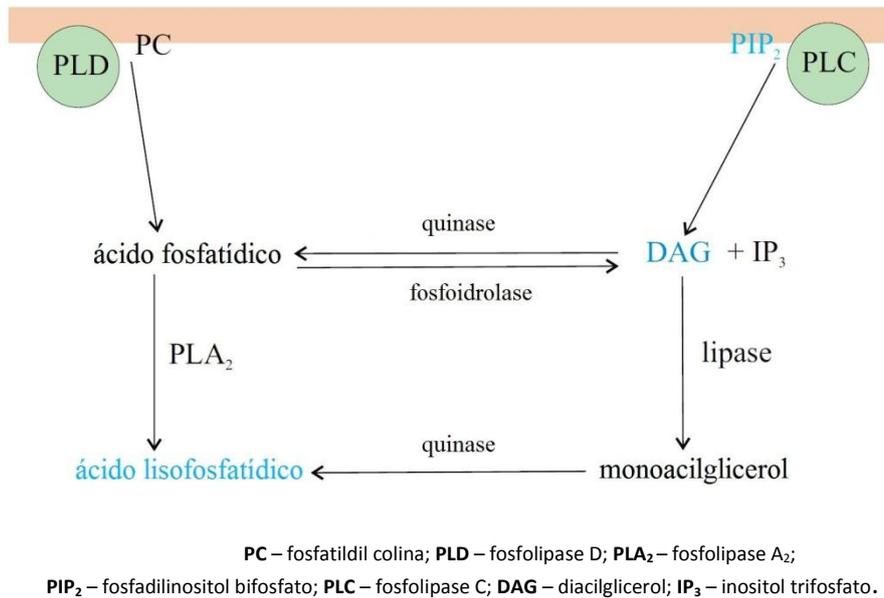


Fig. 4.6 – Vias de produção do ácido lisofosfatídico.

Canal K_{2P}

Subsequentemente, os efeitos do LPA nos canais do K_{2p}2.1 (TREK-1) foram investigados⁸⁷ através de um sistema de expressão ovócito *Xenopus*. Numa concentração fisiológica de 1 μM, o LPA diminuiu drasticamente as correntes do K_{2p}2.1; o efeito persistente por minutos e foi reversível ao ser lavado. O pré-tratamento com U73122 – um inibidor da PLC – bloqueou completamente a diminuição induzida pelo LPA nas correntes do K_{2p}2.1. Além disso, experiências indicaram que a PLC foi provavelmente ativada por receptores LPA endógenos *Xenopus*.

Correntes Na_v

Os efeitos do LPA nas correntes de sódio controlado por voltagem (Na_v) em neurônios do GRD de ratos também foram investigados⁹⁰. O LPA suprimiu as correntes do sódio sensível ao tetrodotoxina (TTX-S) quando aumentadas as correntes do sódio insensível a TTX (discutidos na [Seção – V](#)).

Fator de Crescimento Neural

O fator de crescimento neural (NGF) é um fator trófico que promove a sobrevivência dos nociceptores durante o desenvolvimento.

Para nosso propósito, as conclusões importantes são que o receptor de alta afinidade ao NGF – *receptor da tirosina quinase neurotrófica tipo um* (TRK1) ou receptor da tirosina quinase tipo A (trkA) – é expressado em nociceptores de animais adultos e que o nível do NGF está elevado na pele inflamada.

Receptor TRK1

Usando uma molécula de fusão sintética (TRK1-IgG) para sequestrar o NGF verificou que a administração de TRK1-IgG juntamente com carragenina bloqueou a hiperalgesia resultante da inflamação induzida pela carragenina⁹¹. Além disso, o receptor TRK1 medeia a hiperalgesia causada pelo NGF porque o NGF ainda pode induzir hiperalgesia térmica em camundongos em que a baixa afinidade ao receptor neurofina p75 é nocauteado⁹². Estes resultados sugerem fortemente que o NGF está envolvido na regulação da sensibilidade à dor em animais adultos. Além disso, a hiperalgesia térmica da pata traseira desenvolveu em minutos da injeção de NGF intraplantar indicando que a transcrição do gene não estava envolvida⁹³.

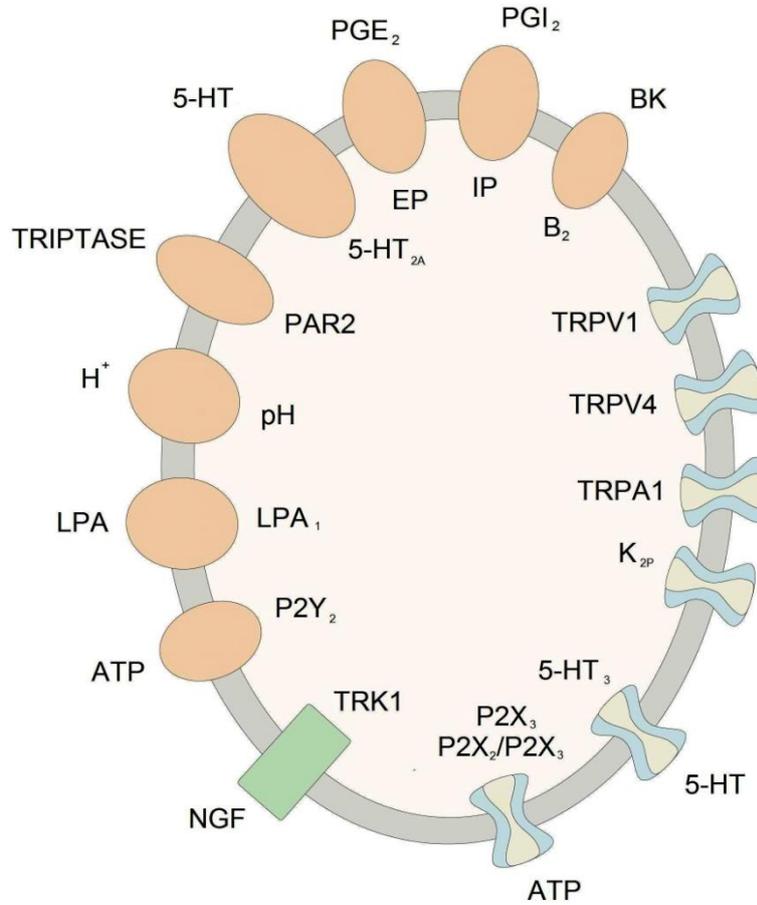
Canal do TRPV1

A fim de examinar os efeitos diretos do NGF nos nociceptores em experiências de animais adultos foram realizadas em dissociação de neurônios do GRD em cultura. Observou-se uma melhoria rápida da corrente induzida pela capsaicina com aplicação do NGF em esses neurônios do GRD isolados^{94, 95}. Estes resultados indicam claramente que um dos alvos do NGF é o canal do TRPV1.

Experimentos subsequentes, usando neurônios do GRD e sistemas de expressão, para tentar elucidar as vias de sinalização envolvidas na sensibilização pelo NGF deram até agora resultados conflitantes.

Resumo

Nesta seção foram sucintamente revistas as evidências aos mediadores químicos considerados a desempenhar um papel no nociceptor. No diagrama da [Figura 4.7](#), os canais de íons e os receptores – receptores acoplados à proteína G (GPCRs) e receptor da tirosina quinase (RTK) – considerados envolvidos na execução das ações dos mediadores químicos.



GPCRs	Receptores Acoplados à Proteína G	Mediadores Químicos
5-HT _{2A}	Receptor da serotonina do tipo dois subtipo A	5-HT Serotonina
B ₂	Receptor B2 de bradicinina	BK Bradicinina
EP	Receptor de prostanoide E	PGE ₂ Prostaglandina E
IP	Receptor fosfato de inositol	PGI ₂ Prostaglandina I2
P2Y ₂	Purinoceptor acoplado à proteína G dois	ATP Trifosfato de adenosina
PAR2	Receptor ativado por proteases dois	TRIPtase
pH	Baixo	H ⁺ Próton
LPA ₁	Receptor do ácido lisofosfatídico um	LPA Ácido lisofosfatídico
RTK	Receptor da Tirosina Quinase	Mediador Químico
TRK1	Receptor da tirosina quinase neurotrófica tipo um	NGF Fator de crescimento neural
LGICs	Canais de Íons Controlados por Ligantes	Mediadores Químicos
5-HT ₃	Receptor da serotonina do tipo três	5-HT Serotonina
P2X ₃	Purinoceptore de íons controlado por ligante, três.	ATP Trifosfato de adenosina
P2X ₂ /P2X ₃	Purinoceptores heteroméricos	ATP Trifosfato de adenosina
VGICs	Canais controlados por Voltagem	
TRPV1	Receptor de potencial transitório vaniloide um	
TRPV4	Receptor de potencial transitório vaniloide quatro	
TRPA1	Receptor de potencial transitório anquirina um	
K _{2P}	Canais de potássio de dois poros	

Fig. 4.7 – Os canais e receptores envolvidos na transdução de sinal do nociceptor.

Finalmente na [Tabela 4.1](#), para cada mediador químico foi listado o GPCRs, os canais de íons e as vias do segundo mensageiros considerados desempenhar o papel.

Tabela 4.1 – Mecanismos envolvidos na transdução de sinal do nociceptor.

Mediador Químico	Dor Aguda	Hiper-algesia	GPCRs	Canais de Íons		Vias do Segundo Mensageiro	
				Ionotrópicos	Metabotrópicos		
5-HT	Sim	Sim	5-HT _{2A}		K _{2p2.1} (?)		
				5-HT _{3A}			
BK	Sim	Sim	B ₂		TRPV1	PLC-β →	DAG → PKCε ↓ PIP ₂
						PLA ₂ →	COX → PGE ₂ → PKA LOX → 12-HPETE
					TRPA1	PLC-β →	↓ PIP ₂ ↑ IP ₃ → ↑ Ca ²⁺
						PLA ₂ →	COX → PGE ₂ → PKA
12-HPETE	Sim	----			TRPV1		
PGE ₂	Sim	Sim	EP _(?)		TRPV1		PKA
					TRPA1		
PGI ₂	Sim	Sim	IP		TRPV1	PLC	PKC
ATP	Sim	Sim	P2Y ₂		TRPV1	PLC-β →	DAG → PKCε ↓ PIP ₂
							P2X ₃
					P2X ₂ / P2X ₃	TRPA1	
Proteases	Sim	Sim	PAR2		TRPV1		PKA PKC
					TRPV4		PKA PKC PKD
					K _{2p2.1} (?)		PKC ERK ½
pH	Sim	Sim	H ⁺		K _{2p2.1} (?)	PLC	
					TRPV1		
				ASIC			
LPA	Sim	----	LPA ₁		K _{2p2.1} (?)	PLC	
NGF	----	Sim			TRPV1	(?)	

V – VGICs

Depois que ocorre a transdução do estímulo nocivo em um potencial de receptor, a resposta deve ser transformada ou codificada em uma série de potenciais de ação, os quais carregam o sinal ao terminal sináptico que culmina na liberação do neurotransmissor – ou seja, a informação é transmitida a medula espinhal.

É durante este processo que os *canais de íons controlados por voltagem* (VGICs): o canal de sódio controlado por voltagem (Na_v), canal de potássio controlado por voltagem (K_v), canal de cálcio controlado por voltagem (Ca_v) e o canal de cátions controlado por nucleotídeo cíclico ativado por hiperpolarização (HCN) dão sua contribuição.

Na medida em que os VGICs estão enriquecidos nos nociceptores em comparação com outras regiões do sistema nervoso e do organismo, servem como metas ao desenvolvimento de fármacos analgésicos ou anestésicos.

Na_v

Os *canais de sódio controlados por voltagem de subunidade alfa* (Na_v) são essenciais para codificar o potencial do receptor em uma série de potenciais de ação e conduzi-los ao longo do axônio.

Os canais de Na_v são compostos de uma subunidade alfa (α) na formação de poro e pelo menos uma subunidade beta (β) auxiliar. As subunidades β são multifuncionais: modulam a comporta do canal, regulam o nível de expressão do canal e a função como as moléculas de aderência celular interagem com a matriz extracelular e o citoesqueleto. A família da subunidade α formadora de poros tem nove tipos conhecidos, nomeados de $\text{Na}_v1.1$ a $\text{Na}_v1.9$; nem todos estão presentes nos neurônios do GRD.

Os neurônios diferem na forma dos seus potenciais de ação e também na taxa e regularidade no qual disparam os potenciais de ação. De modo geral, os nociceptores disparam os potenciais de ação tendo uma duração mais longa – vários milissegundos – e uma taxa relativamente lenta normalmente em um intervalo menor do que 10 por segundo.

Um modo de distinguir as duas classes gerais dos canais de Na_v com base na sua sensibilidade a tetrodotoxina (TTX), uma neurotoxina potente “toxina do baiacu” que bloqueia os potenciais de ação nos nervos por ligação aos poros da subunidade α . Nem todas as subunidades α são sensíveis a TTX; por conseguinte, podemos distinguir entre os canais *sensíveis* (TTX-S) e os *resistentes* (TTX-R). Os neurônios sensoriais nociceptivos são mostrados a expressar os canais de Na_v TTX-R e TTX-S. Os canais de sódio controlados por voltagem TTX-S – $\text{Na}_v1.1$, $\text{Na}_v1.3$, $\text{Na}_v1.6$ e $\text{Na}_v1.7$ – e os TTX-R – $\text{Na}_v1.8$ e $\text{Na}_v1.9$ – estão implicados no funcionamento do nociceptores em estados normais e patológicos.

A caracterização da contribuição específica dos canais de Na_v ao funcionamento dos neurônios do GRD é limitada pela falta de bloqueadores dos canais seletivos. A geração de camundongos de nocaute dos canais de Na_v específicos oferece uma solução alternativa para esse problema e estes animais podem ser caracterizados comportamentalmente. Além disso, as gravações eletrofisiológicas podem ser feitas nesses animais para caracterizar ainda mais a contribuição dos canais específicos à detecção de estímulos dolorosos.

Os canais de sódio controlados por voltagem TTX-R – $Na_v1.8$ e $Na_v1.9$ – são expressos predominantemente em pequenos neurônios do GRD, que incluem células nociceptivas e são sugeridos a desempenhar um papel importante nos mecanismos da dor. Adicionalmente a expressão preferencial do $Na_v1.8$ e do $Na_v1.9$ em pequenos neurônios do GRD sugere que estes canais são bons alvos ao tratamento farmacológico de dor.

$Na_v1.8$

O canal de sódio controlado por voltagem de subunidade alfa do tipo VIII ($Na_v1.8$) é expresso principalmente em aferentes nociceptivos de pequeno diâmetro e os camundongos de nocaute do $Na_v1.8$ apresentam um aumento pronunciado no limiar a estímulos mecânicos nocivos^{96, 97}. Os camundongos em que a toxina diftérica A (DTA) foi usada para matar os neurônios expressando o $Na_v1.8$ também mostraram um aumento pronunciado no limiar aos estímulos mecânicos nocivos⁹⁸.

Interessantemente, nestes estudos, as respostas ao calor nocivo eram semelhantes aos camundongos normais e o desenvolvimento da hiperalgesia inflamatória foi atrasado. Estas conclusões podem ser explicadas se os canais de $Na_v1.8$ foram especificamente localizados em nociceptores mecanossensitivos e determinou sua excitabilidade.

Neste contexto, os canais de sódio TTX-R são mostrados estar presente em densidades suficientemente elevadas nos terminais periféricos dos nociceptores a ser o determinante da sua excitabilidade⁹⁹. Alternativamente, o nocaute do $Na_v1.8$ pode interromper o aparelho mecanossensitivo localizado no terminal nociceptor. Além disso, estudos sobre o papel exato do canal de $Na_v1.8$ na nocicepção mecanossensitivo e o desenvolvimento de bloqueadores dos canais de $Na_v1.8$ altamente específicos ajudaria a esclarecer a situação.

Para complementar, o aumento do limiar a estímulos mecânicos nocivos, os camundongos de nocaute do canal de $Na_v1.8$ também exibiram uma perda da sensibilidade a estímulos ao frio nocivo^{97,100}. A perda da sensibilidade ao frio nocivo provavelmente ocorre porque o canal de $Na_v1.8$ parece ser o único dos canais de Na_v que permanece funcional em temperaturas muito baixas. Adicionalmente ao frio, as correntes muito inferiores eram necessárias para disparar o canal de $Na_v1.8$ gerando os potenciais de ação do que a 30°C nos terminais do nociceptor tratados com TTX¹⁰⁰.

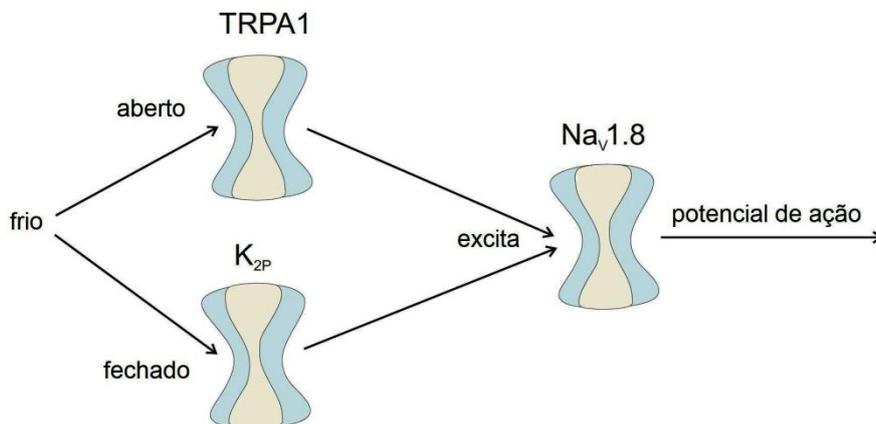
Canais de K_{2P}

A diminuição do limiar para desencadear potenciais de ação a temperaturas reduzidas provavelmente resulta de um aumento na resistência de entrada da membrana devido ao fechamento dos *canais de potássio de dois poros* (K_{2P})^{101, 102}. O fechamento dos canais de K_{2P} será a despolarização da membrana e, além disso, também vai aumentar a resistência de entrada da membrana, assim menos corrente para o interior iniciando por estímulos nocivos serão necessária para desencadear o potencial de ação (consulte a [Figura 4.1](#)).

Canais do TRP

Em relação aos canais de *receptor de potencial transitório* (TRP) considerados a serem sensores ao frio, os camundongos de DTA⁹⁸ apresentam uma expressão reduzida do sensor ao frio – TRPA1 – e apresenta uma quase completa supressão da segunda fase da resposta a formalina, que foi atribuída ativação do canal do TRPA1¹⁰³. Por outro lado, a expressão do sensor ao frio, o TRPM8 parece ser normal em camundongos de DTA.

Baseado nesses resultados pode-se fazer um modelo preliminar à transdução ao frio nocivo no nociceptores mecano-frio em camundongos (conforme ilustrado na [Figura 5.1](#)). A exposição a uma temperatura fria nociva, em torno de 0°C, resulta na ativação do canal do TRPA1 e a inibição dos canais de K_{2P} , a resultante despolarização excita o canal de $Na_v1.8$ e os potenciais de ação se propagam a medula espinhal. O aparelho mecanossentivo que é contra a corrente do $Na_v1.8$ é uma proposta de simplicidade.



TRPA1 – canal do receptor de potencial transitório da anquirina um; K_{2P} – canal de potássio de dois poros;
 $Na_v1.8$ – canal de sódio controlado por voltagem alfa VIII.

Fig. 5.1 – Modelo da exposição do nociceptor ao frio.

Uma exposição do nociceptor mecano-frio a temperatura fria, em torno de 0°C, abre os canais do TRPA1 e fecha os canais de K_{2P} , que por sua vez ativar os canais de $Na_v1.8$ e desse modo excitando o nociceptor.

Nav1.9

A maior parte dos neurônios do GRD que expressam o canal de $\text{Na}_v1.8$ também expressam¹⁰⁴ o canal de sódio controlado por voltagem de subunidade alfa do tipo IX ($\text{Na}_v1.9$), embora um número muito pequeno de células do GRD expressam também não só os canais de $\text{Na}_v1.8$ ou $\text{Na}_v1.9$.

Em camundongos no qual o canal de $\text{Na}_v1.9$ foi nocauteado, a resposta comportamental ao estímulo nocivo – mecânico, calor e frio – não foram diferentes do que nos camundongos de tipo selvagem. Adicionalmente, as experiências usando uma preparação de nervo e pele indicam que os limiares de dor mecânica e térmica foram os mesmos nos camundongos de nocaute do canal de $\text{Na}_v1.9$ e nos de tipo selvagem¹⁰⁵. Em contraste, a hipersensibilidade resultante da inflamação periférica produzida pela injeção intraplantar do adjuvante de Freund completo (CFA) é substancialmente reduzida nos camundongos de nocaute¹⁰⁶, como é a hipersensibilidade resultante da injeção intraplantar de formalina ou carragenina¹⁰⁵.

O limiar do estímulo doloroso tem demonstrado ser reduzido por múltiplos mediadores inflamatórios – como PGE_2 , BK, ATP e 5-HT – agindo através de múltiplas vias de sinalização intracelulares – por exemplo, PLC- β , PKA e PKC. Na [Seção – IV](#) foram apresentadas evidências que estas vias intracelulares são alvos dos canais do TRPV1, TRPA1, TRPV4 e K_{2p} para produzir a hipersensibilidade.

As evidências apresentadas acima sugerem que o canal de $\text{Na}_v1.9$ também pode ser um alvo para esses mediadores inflamatórios e via de sinalização intracelulares. Neste contexto, a hipersensibilidade térmica resultante da injeção intraplantar de PGE_2 foi significativamente reduzida em camundongos de nocaute do canal de $\text{Na}_v1.9$ comparados aos de tipo selvagem^{105, 106}. Não existe ainda nenhum consenso sobre a via de sinalização intracelular que tem como alvo o canal de $\text{Na}_v1.9$. Porque os mediadores inflamatórios – PGE_2 , BK, ATP e 5HT – mencionado acima, agem através dos GPCRs, a hipótese de que a ativação da proteína G era necessária para regular o canal de $\text{Na}_v1.9$ foi testada¹⁰⁷. Descobriram que a amplitude de uma corrente de sódio TTX-R, atribuída ao canal de $\text{Na}_v1.9$, gravado de pequenos neurônios do GRD tendo menos de 25 μm de diâmetro, foi aumentada mais de 3 vezes por 500 μm de GTP- γ -S intracelular – um análogo do GTP não hidrolisável. Presumivelmente, GTP- γ -S está funcionando por ligação a uma proteína G e mantendo a proteína G ao qual está ligado no estado ativo porque o GTP- γ -S é resistente à hidrólise do GDP.

Um estudo¹⁰⁸ mais recente mostrou que a natureza da corrente de sódio TTX-R de regulação positiva foi realmente no canal de $\text{Na}_v1.9$. Para reiterar, embora estas conclusões indiquem o envolvimento de uma proteína G, não apontam a via de sinalização intracelular que é ativada pela proteína G. Uma possibilidade é que ativada a proteína G, com ligação do GTP- γ -S, trabalham por interagindo diretamente com o canal de $\text{Na}_v1.9$.

Nav1.7

Em 2006, foi relatado que um grupo de indivíduos em três famílias que exibiram uma incapacidade congênita de sentir dor e eram de outra maneira aparentemente normal¹⁰⁹. A perda da capacidade de sentir dor foi mostrada como resultado de mutação desproposito no gene SCN9A, que codifica subunidade α do canal de Na_v1.7 TTX-S que são expressados em níveis elevados nos neurônios do GRD nociceptivos.

Antes dessa descoberta em seres humanos, os camundongos de nocaute do canal de Na_v1.7 foram encontrados mortos logo após o nascimento, portanto o canal de Na_v1.7 teve que ser excluído em um subconjunto de neurônios, portanto produzindo informações menos úteis do que as descobertas de nocaute global do canal de Na_v1.7 em seres humanos¹¹⁰. Obviamente, o *canal de sódio controlado por voltagem de subunidade alfa do tipo VII (Na_v1.7)* é um alvo excelente para o desenvolvimento de novos analgésicos ao tratamento de dor.

Existe agora também evidência que as mutações pontuais no SCN9A podem resultar em aumento nas sensações de dor. Os pacientes com neuropatia dolorosa herdada – eritromelalgia herdada, às vezes chamada *eritromelalgia* – com episódios de experiência da dor em queimação crônica severa, vermelhidão da pele e inchaço da face, de orelhas e extremidades. Os pacientes com eritromelalgia primária¹¹¹ têm mutações em SCN9A, o qual codifica a subunidade α do canal de Na_v1.7.

As propriedades eletrofisiológica foram estudadas em canal de Na_v1.7 mutantes e tendem as mesmas mutações encontradas em pacientes com eritromelalgia¹¹². Os canais mutantes exibiram hiperexcitabilidade provocada por uma mudança de hiperpolarização na ativação e por uma lentidão na desativação e inativação.

Nav1.3

A dor neuropática – ou neuralgia – algumas vezes desenvolve após o ferimento ou doença que lesa um nervo. Uma variedade de alterações ocorre tanto em nociceptores e também no sistema nervoso central após a lesão do nervo, entre essas alterações hiperexcitabilidade dos neurônios do GRD é bem documentado após o ferimento dos axônios periféricos do GRD.

Foi proposto que a hiperexcitabilidade dos neurônios do GRD podem contribuir para dor neuropática¹¹³ e que a regulação positiva do *canal de sódio controlado por voltagem de subunidade alfa do tipo III (Na_v1.3)* contribui para a hiperexcitabilidade anormal da ferida dos neurônios do GRD¹¹⁴.

O canal de Na_v1.3 é um canal de sódio TTX-S expresso em neurônios em todo o sistema nervoso embrionário que é substancialmente de regulação negativa em animais adultos. No entanto, níveis normais no comportamento da dor neuropática desenvolve em camundongos de nocaute do canal de Na_v1.3 sugerindo que a expressão do canal de Na_v1.3 não é necessária ao desenvolvimento da dor neuropática¹¹⁵.

Nav1.1 e Nav1.6

Embora o canal de sódio controlado por voltagem de subunidade alfa do tipo I (Nav1.1) e do tipo VI (Nav1.6) serem expressos em nociceptores suas funções específicas, se houver, na nocicepção e na sensação de dor, não são ainda claras.

K

Na Seção – IV, consideramos um número de situações nos quais os mediadores químicos parecem excitar – despolarizar – os nociceptores por bloquear a permeabilidade aos canais de potássio (K).

Canais de K_{2P}

Verificou-se que os membros da subfamília dos canais de potássio de dois poros – K_{2P}2.1 (TREK-1), K_{2P}10.1 (TREK-2) e K_{2P}4.1 (TRAAK) – são ativados por estímulos mecânicos e térmicos. Além disso, estes canais são colocalizados com os canais de cátions do receptor de potencial transitório – TRPV1, TRPV2 e TRPM8 – em neurônios do gânglio trigeminal¹¹⁶.

A atividade dos canais – K_{2P}2.1, K_{2P}10.1 e K_{2P}4.1 – são muito baixas, em torno de 24°C, e tornam-se muito ativos a 37°C. Adicionalmente¹¹⁷ a extensão da membrana aumenta a atividade dos canais a 37°C. A atividade dos três canais continua a aumentar até 42°C, a temperatura máxima para a quais medições precisas poderiam ser feita em sistemas de expressão usados.

O canal do TRPV1 é ativado a temperaturas acima de 42°C (veja a Seção – III). Supondo-se que a atividade destes canais de K_{2P} continua a aumentar acima de 42°C, então sua ativação em nociceptores tende a neutralizar excitação aumentando a permeabilidade da membrana ao K⁺. Conseqüentemente, foi sugerido que estímulos dolorosos mecânicos e térmicos em nociceptores seriam esperados a ativar os membros da subfamília dos canais de K_{2P} – K_{2P}2.1, K_{2P}10.1 e K_{2P}4.1 – assim o "ajuste" ou contrariando a excitação^{118, 119}. Ou seja, a ativação de um nociceptor por estímulos nocivos mecânicos ou térmicos é um equilíbrio entre a despolarização causada pela ativação de um dos canais de íons excitatório sensorial mecano ou termo e a hiperpolarização causada pela ativação de um membro da família do canal K_{2P}.

Morfina

A morfina alivia a dor – o principal ingrediente ativo no ópio tem sido conhecido por séculos. O efeito analgésico da morfina é principalmente atribuído à ativação dos receptores opioides no sistema nervoso central (SNC). No entanto, a morfina atua no SNC e no sistema nervoso periférico (SNP) causando analgesia. Para o nosso propósito, estamos interessados somente na sua ação em nociceptores.

Uma variedade de experiências sugeriu a existência de pelo menos três tipos de receptores opioides: mu (μ), delta (δ) e kappa (κ). Os efeitos analgésicos da morfina são drasticamente reduzidos em camundongos com falta do receptor opioide μ sugerindo que os receptores μ primariamente medeiam analgesia¹²⁰.

Além disso, estudos comportamentais em rato, os efeitos analgésicos da morfina administrada periféricamente também parecem ser mediado pelo receptor μ , mas não são facilmente detectáveis no tecido normal; os efeitos são apenas aparentes durante hiperalgesia quando os receptores estão sensibilizados¹²¹.

Utilizando uma preparação de pele-nervo de rato foram comparados os efeitos da morfina sobre as propriedades da resposta dos nociceptores únicos inervando a pele normal e a inflamada¹²². A morfina não teve nenhum efeito significativo sobre a resposta dos nociceptores aos estímulos mecânicos ou térmicos na pele normal. No entanto, os nociceptores inervando a pele inflamada apresentam limiares mais baixos aos estímulos mecânicos nocivos e as respostas aos estímulos nocivos mecânicos e térmicos foram elevados e administração de morfina periféricamente inibiu a atividade dos nociceptores cutâneos nas condições de inflamação. Estes resultados indicam que a morfina agiu sobre os receptores opioides localizados na região de transdução sensorial do nociceptor (consulte a [Figura 1.3](#)) e medeia analgesia durante a inflamação local.

Sabe-se há algum tempo que altos níveis de glicose no sangue antagonizam a analgesia da morfina e sugeriu-se que o efeito pode ser devido a níveis elevados do ATP intracelular¹²³.

Canais de K_{ir}

Subsequentemente foi demonstrado que a *glibenclamida* – um hipoglicemiante oral – bloqueador dos *canais de potássio sensível ao ATP* (K_{ATP}), antagoniza analgesia da morfina induzida em camundongos¹²⁴, sugerindo que a morfina atua ativando os canais de K_{ATP} .

Os canais de K_{ATP} são um tipo do canal de potássio – composto por quatro subunidades regulatórias do receptor sulfonilureia (SUR) e quatro poros sensíveis ao ATP – formando as subunidades do *canal de potássio de retificação interna* (K_{ir}). Os canais de K_{ATP} atuam como sensores metabólicos e quando os níveis do ATP intracelular são elevados, os canais são fechados.

Em neurônios do GRD de ratos sensíveis a capsaicina, o *diazóxido* – um relaxante da musculatura lisa – agonista do canal de K_{ATP} , reverte à sensibilização produzida pela PGE_2 , indicando que a ativação do canal de K_{ATP} pode reverter à excitabilidade realçada nos neurônios do GRD¹²⁵.

Os receptores opioides são GPCRs, o que levanta a questão de qual via o segundo mensageiro intracelular medeia à via de ação da morfina ao canal de K_{ATP} . Foi sugerido que a morfina^{126, 127} ativa canal de K_{ATP} através da via do óxido nítrico (NO) – monofosfato guanosina cíclica (cGMP) – proteína quinase G (PKG). O fechamento canais de potássio de dois poros (K_{2p}), além de despolarizarem a membrana, também aumentará a resistência de entrada membrana; assim menos corrente exógena será necessária para desencadear o potencial de ação.

Outra forma de aumentar a eficácia das correntes internas iniciada por estímulos nocivos no disparo potenciais de ação é inibir a despolarização ativada por *canais de potássio controlado por voltagem* (K_v). Nos neurônios do GRD de ratos, a PGE_2 e o estável análogo do PGI_2 – carba PGI_2 – suprimiram o tipo sustentado da corrente externa de potássio controlado por voltagem¹²⁸.

Ca_v

Os receptores opioides μ também foram localizados no terminal sináptico dos neurônios do GRD na medula espinhal^{129, 130}. Adicionalmente, a morfina aplicada na medula espinhal reduziu a liberação da substância P (SP) evocada pela estimulação do nervo ciático¹³¹. Além disso, os opioides foram encontrados a suprimir na transmissão sináptica excitatória, mas não a inibitória em neurônios da medula espinhal de ratos adultos¹³². Juntas estas constatações implicam que os opioides desempenham um papel na regulação da liberação do transmissor dos nociceptores terminais.

Dois mecanismos diferentes poderiam contribuir para a inibição pré-sináptica da liberação do transmissor pelo opioide: Em primeiro lugar, como discutido acima, a morfina poderia ativar os canais de K_{ATP} no terminal, deste modo a hiperpolarização do terminal pré-sináptico e a diminuição da resistência na entrada do terminal. Isto reduziria a capacidade de invadir potenciais de ação à despolarização do terminal e ativar os canais de Ca^{+} , que por sua vez reduz o influxo de Ca^{+} resultante e a consequente a liberação do transmissor. Em segundo lugar, os opioides poderiam inibir diretamente os *canais de cálcio controlados por voltagem* (Ca_v) no terminal sináptico.

Usando ovócitos *Xenopus* expressando os canais de Ca^{+} neuronal e os receptores opioides, a ativação do receptor da morfina com uma encefalina sintética – DAMGO – resultou em uma inibição rápida das correntes de cálcio¹³³. Os receptores opioides μ dos neurônios do GRD em ratos são acoplados negativamente a três tipos de canais de Ca^{+} de alto limiar são considerados a desempenhar um papel na transmissão sináptica¹³⁴. Foi sugerido que os receptores opioides inibem os canais de Ca^{+} por meio de uma ação direta da proteína G no canal de Ca^{+} e não através da via de um segundo mensageiro¹³⁵.

Em conclusão, a evidência disponível é consistente com os opioides inibindo a liberação de transmissor por ativação dos canais K_{ATP} e/ou inibindo os canais de Ca^{+} no terminal sináptico.

HCN

As correntes da membrana resultante de ativação dos canais *controlado por nucleotídeo cíclico ativado por hiperpolarização* (HCN) foram primeiramente descritas em neurônios do GRD isolados há mais de 25 anos¹³⁶.

Não era até os últimos anos conhecido, qual o possível papel dos canais HCN na dor neuropática periférica, tornou-se aparente¹³⁷. Aqui vamos considerar as propriedades gerais dos canais HCN, seu papel na regulação da frequência de disparo em alguns neurônios do GRD e também aquelas propriedades que irão se revelar útil para compreender seu possível papel na dor neuropática periférica – ou neuralgia periférica (na [Seção – VI](#)).

Os canais HCN são ativados por degraus de voltagem da hiperpolarização para potenciais mais negativo que -50 mV a -60 mV, o qual é próximo dos potenciais de repouso da maioria das células. Estas *correntes do HCN* (I_h) foram originalmente denominadas de I_f para “estranho” e I_q para “esquisito” porque ao contrário da maioria dos canais controlados por voltagem foram ativados por hiperpolarização ao invés da despolarização.

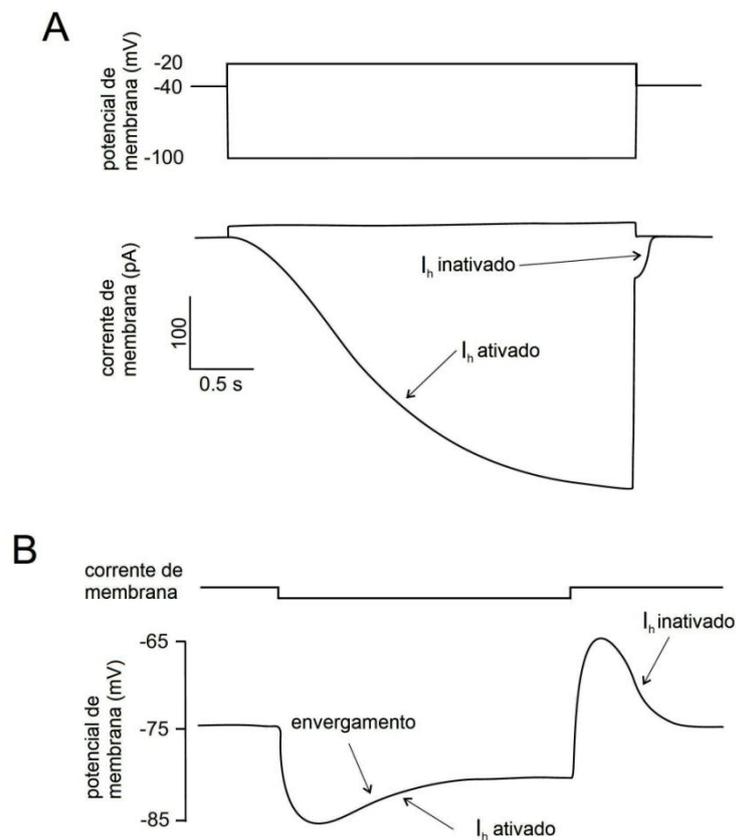


Fig. 5.2 – Ativação e desativação da corrente do HCN

Sob as condições: **A – grampo de voltagem** – a I_h é ativada por um degrau de voltagem de -40 mV a -100 mV e inativada quando a voltagem retorna a -40 mV; **B – grampo de corrente** – um pulso de corrente da hiperpolarização ativa I_h causando a despolarização “envergamento” durante a hiperpolarização da membrana.

Na [Figura 5.2 – A](#), um degrau de voltagem da hiperpolarização ativa uma corrente interna lentamente em desenvolvimento – I_h – a amplitude da qual aumenta com o aumento da hiperpolarização (não mostrado). Se a magnitude da I_h é função do potencial de membrana – relação da corrente pela voltagem (I/V) – é evidente que há uma região de retificação interna “anormal”. Por retificação interna entende-se que as correntes – cargas positivas – passam pelos canais mais facilmente para dentro da célula – direção interna – e mal na direção externa. Quando descoberta pela primeira vez a retificação interna foi chamada de retificação anômala para distingui-la da mais comumente encontradas correntes de retificação externa.

Os canais HCN não são os únicos canais de retificação interna; lembre-se que os canais de K_{ATP} têm a subunidade, o canal de potássio de retificação interna (K_{ir}). Os canais da I_h são permeáveis aos Na^+ e K^+ enquanto os canais de K_{ir} são permeáveis a K^+ .

Por um lado, ativação do canal de K_{ir} tenderá a inibir o disparo dos potenciais de ação, pois o potencial de membrana vai deslocar em direção ao E_K (≈ -85 mV). Em contraste, a ativação dos canais HCN tenderá excitar o nociceptor: dependendo da proporção de permeabilidade P_K/P_{Na} do potencial de membrana deslocará a um valor entre E_K e E_{Na} , o qual despolarizará a membrana em sentido do limiar de disparo dos potenciais de ação.

Na [Figura 5.2 – B](#), a I_h é uma corrente interna ativada por hiperpolarização além do potencial de repouso, qual é manifesta como um “envergamento” da despolarização do potencial de membrana durante a corrente de hiperpolarização. Desde que a I_h não inative com uma determinada voltagem, uma sustentada corrente interna do I_h irá desempenhar um papel na determinante no potencial de repouso e na resistência de entrada. Porque a rede de corrente da membrana com o potencial de repouso é zero, a corrente interna do I_h deve ser equilibrada por uma corrente externa. Esta corrente pode ser contribuída por uma corrente de K^+ em repouso transportado por canais de K_{2p} .

A participação da I_h em determinar o potencial de repouso tem a consequência que pode desempenhar um papel na determinação excitabilidade do neurônio. Quando a I_h está presente em uma célula com o canal de Na_v com baixo limiar e uma quantidade adequada de canais de K_{2p} há o potencial para o disparo rítmico de potenciais de ação. Em um potencial de repouso permissivo após a hiperpolarização seguindo um potencial de ação pode ser suficiente para ativar a I_h que pode ser suficiente para despolarizar a membrana de volta ao limiar do potencial de ação¹³⁸. É este potencial ao disparo rítmico que é considerado a desempenhar um papel na dor neuropática – ou neuralgia periférica (veja na [Seção – VI](#)).

HCN2 – HCN4

Uma família de quatro genes em mamíferos codifica as subunidades dos canais controlados por nucleotídeo cíclico ativado por hiperpolarização – HCN1 a HCN4 – responsáveis pela corrente – I_h . Cada subunidade do canal HCN é composta de seis segmentos transmembrana, com um sensor de voltagem e uma região formadora de poro (P). Uma importante

característica dos canais HCN é seu domínio de ligação do nucleotídeo cíclico, que sustenta sua regulação por cAMP e não requer a fosforilação da proteína.

O HCN2 e HCN4 são fortemente modulados por aumento das concentrações de cAMP, com a voltagem de ativação deslocada para potenciais mais positivos, perto de 10 mV a 20 mV, enquanto canais HCN1 e HCN3 são relativamente insensíveis ao cAMP. Consequentemente, com aumento do cAMP, um degrau de voltagem da hiperpolarização ativa HCN2 e HCN4 mais completamente.

A PGE₂ e PAR2 ativa a PKA por um aumento do cAMP (reveja a [Seção – IV](#)). Isto levanta a possibilidade de que esses mediadores químicos podem sensibilizar os nociceptores deslocando a voltagem de ativação dos canais HCN2 ou HCN4 por um aumento no cAMP. Esta possibilidade foi testada¹³⁹ em neurônios do GRD usando uma variedade de técnicas – incluindo o ZD7288 – um bloqueador potente da I_h – não seletivo entre HCN1 a HCN4. Estes autores descobriram que havia uma população de neurônios do GRD, com corpos celulares de diâmetro menores, que tinha uma I_h sensível ao cAMP. Além disso, encontraram para estes neurônios nociceptivos pequenos que aumenta os níveis de cAMP deslocando a curva de ativação de voltagem da I_h para mais potenciais de despolarização e causando uma despolarização estável do potencial de membrana em repouso, que foi bloqueado por ZD7288. Estas constatações sugerem que modulação da I_h através de um aumento do cAMP desempenha um papel importante na sensibilização do nociceptor causada pela PGE₂.

VI – Dor Neuropática

A capacidade de experiência da dor tem uma função protetora: adverte-nos contra a lesão existente ou iminente ao corpo e evoca as respostas que minimizam a lesão (veja [Seção – I](#)). Isto é, a dor aguda ou *nociceptiva* é um mecanismo de proteção necessário; em contrapartida, a dor crônica não atende a sobrevivência evidente ou funcionamento útil.

Entre diferentes tipos de dor crônica é a dor neuropática periférica – ou neuralgia periférica – a característica essencial da qual é a dor resultante de um ferimento ou uma lesão do nociceptor. A dor neuropática é frequentemente intensa, implacável e resistente ao alívio por terapias disponíveis.

A dor crônica sem qualquer evidência de uma lesão ou um machucado no nociceptor, como a enxaqueca, não é considerada dor neuropática. O ferimento pode ser em qualquer parte do nociceptor e pode ser o resultado de qualquer um de uma série de insultos possíveis ao nociceptor. Embora o insulto na dor neuropática periférica seja o nociceptor primário, as alterações subjacentes à síndrome de dor neuropática podem incluir alterações ao sistema nervoso periférico (SNP), a medula espinhal e ao sistema nervoso central (SNC).

Nesta seção, vamos focar-nos sobre as alterações que ocorrem no SNP.

Mecanismos Básicos

Os sintomas da dor neuropática periférica podem incluir a dor *persistente* ou *paroxística*, em *queimação*, *pontada*, *coceira* ou *formigamento*, a qual é independente de qualquer estímulo óbvio. Também podem existir anormalmente as sensações exaltadas, como *alodinia* – dor resultante de um estímulo normalmente inócua – e *hiperalgesia* – uma resposta realçada a um estímulo normalmente doloroso.

Intuitivamente, poderíamos pensar que quando um nervo aferente é ferido, iria falhar a transmissão de informações a medula espinhal. Isto é, se poderia sensatamente esperar uma perda das sensações, ao invés de uma sensação aumentada ou persistente. Isso é o que acontece quando uma linha de telefone é cortada; não pode fazer ou receber chamadas telefônicas. Na medida em que pode existir alguma perda de sensibilidade associada à dor neuropática periférica, analogia da linha de telefone é verdadeira. No entanto, a resposta realçada e a presença de dor na ausência de um estímulo, implicam que há algo fundamentalmente diferente entre um axônio neuronal machucado e um cabo de telefone cortado.

A questão torna-se quais os tipos de alterações ocorrem quando um nervo é machucado que possa dar origem à dor neuropática?

Funcionalmente as raízes nervosas espinhais são classicamente divididas em raízes dorsais para transmissão sensorial e raízes ventrais para transmissão motora. As raízes ventrais são consideradas compostas de axônios dos neurônios motores mielinizados. No entanto, nos seres humanos e outros mamíferos, na ordem de um terço de todos os axônios das raízes ventrais são amielinizadas, têm seus corpos celulares em GRD e são predominantemente nociceptivas (veja a [Figura 6.1](#)).

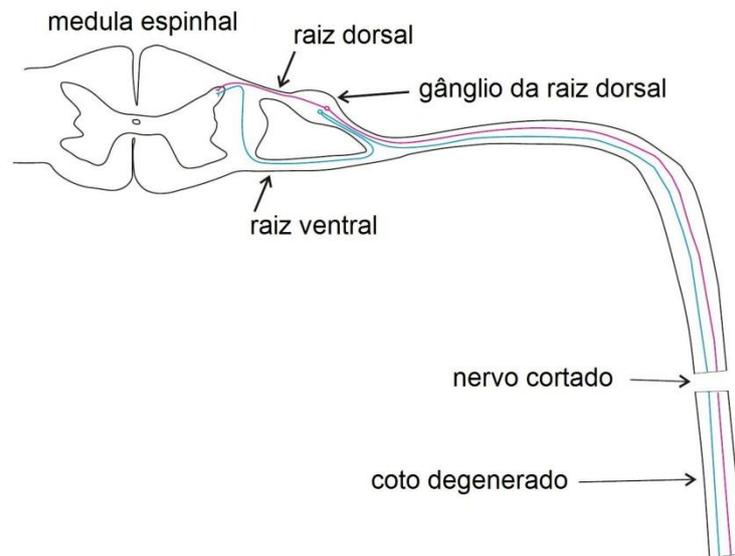


Fig. 6.1 – Gânglio da raiz dorsal mostra os corpos celulares dos nociceptores.

Na cor vermelha, o axônio entra na medula espinhal através da raiz dorsal; e na cor azul, o axônio entra através da raiz ventral. O nervo formado pelas duas raízes é mostrado seccionado distalmente.

Isso provavelmente explica porque a *rizotomia* dorsal, um processo na qual a raiz do nervo espinhal entre o GRD e a medula espinhal é interrompido, às vezes não proporciona alívio à dor crônica. Além disso, esses tipos de lesões onde às raízes dorsais tiveram prejuízos não foram considerados a causar dor neuropática nos seres humanos. Portanto, pode-se dizer que nem todas as lesões nos nociceptores resultam em dor neuropática.

Modelos de lesões nervosas

Os modelos de lesões nervosas em animais são usados para estudar a dor neuropática (veja a [Figura 6.1](#)). Quando um feixe nervoso é cortado distalmente ao GRD, o coto proximal que é a porção ainda conectada ao corpo celular fechado, sob o broto de fibras nervosas de condições mais favoráveis, irá regenerar e processar as conexões periféricas adequadas. No entanto, se a regeneração está bloqueada de alguma forma, como na amputação, o broto pode formar uma massa emaranhada – *neuroma*. A porção do axônio, no feixe nervoso cortado, separada do núcleo celular nervoso degenera em um processo chamado *degeneração Walleriana*, também conhecida como degeneração anterógrada – ocorrendo na direção normal ou externa. Quando

apenas uma fração das fibras nervosas em um feixe nervoso é machucada e submetida à *degeneração Walleriana*, os axônios intactos restantes vão ser expostos aos produtos dos axônios degenerados e também aos agentes liberados do tecido circundante que está respondendo aos axônios degenerados.

Em animais, onde um *neuroma* experimental é realizado por uma secção de axônio – *axotomia* do nervo ciático – a atividade espontânea anormal pode ser gravada das raízes dorsais e nas fibras nervosas acima do *neuroma*. A descarga espontânea é também ectópica: originando em um lugar anormal, ao invés da localização normal do termino do nervo periférico. A atividade espontânea pode estar relacionada ao desenvolvimento de dor persistente ou paroxística que ocorre com a dor neuropática.

Após *axotomia* do nervo ciático, um grande número de genes é regulado positivamente ou negativamente em neurônios do GRD^{140, 141}. Estas mudanças na expressão dos genes provavelmente levam a um aumento na excitabilidade dos neurônios do GRD, a qual é a explicação mais simples da atividade espontânea anormal.

Um prognóstico seria que uma regulação positiva dos canais de sódio controlados por voltagem (Na_v) e de cálcio controlados por voltagem (Ca_v) e uma regulação negativa dos canais de potássio controlados por voltagem, os quais se opõem aos canais excitatórios, podem ser responsáveis pela excitabilidade aumentada dos neurônios do GRD após lesão de nervos periféricos. Foi sugerido que a regulação do canal de $Na_v1.3$ contribui para a hiperexcitabilidade anormal (veja a [Seção – V](#)) e atividade espontânea dos neurônios feridos do GRD¹⁴². No entanto, um nível normal do comportamento da dor neuropática desenvolve em camundongos de nocaute do canal de $Na_v1.3$ sugerindo que a expressão aumentada do canal de $Na_v1.3$ não é necessária ao desenvolvimento de dor neuropática¹⁴³.

Os efeitos da *axotomia* do nervo ciático nas correntes dos canais de cálcio, de potássio e de controlado por nucleotídeo cíclico ativado por hiperpolarização (HCN) foram estudados em neurônios do GRD isolado de ratos, das raízes – L4 e L5 – que dão origem ao nervo ciático¹⁴⁴. As correntes transportadas pelos três tipos de canais foram reduzidas em neurônios do GRD após a *axotomia* do ciático, sugerindo que os aumentos na excitabilidade neuronal estão associados com a diminuição nas correntes do canal de potássio.

Um dos problemas no estudo de dor neuropática experimentalmente e do tratamento clínico é que podem ser causadas por várias neuropatias; conseqüentemente, os sintomas e os tratamentos podem depender da causa particular e qual nervo ou nervos estão envolvidos. O ferimento mecânico do nervo pode resultar da compressão aguda ou crônica do nervo ou mais severamente por corte parcial ou total de um nervo. Alguns modelos de ferimentos mecânicos em nervos foram desenvolvidos e se revelaram úteis no estudo experimental de dor neuropática, em roedores (veja [Figura 6.2](#)). O nervo ciático pode ser parcialmente ligado ou uma constrição crônica pode ser colocada em torno do ciático. Também podem ser cortados os nervos provenientes do ciático. Estes procedimentos têm em comum que algumas das fibras nervosas da inervação do pé permanecem intactas e permitem testes de hiperalgesia e de alodinia.

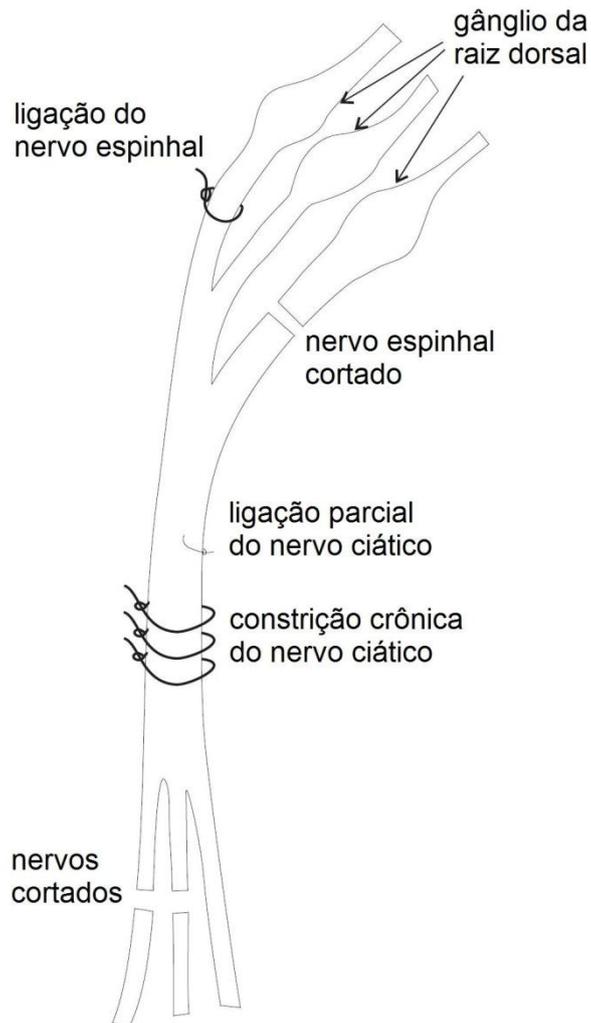


Fig. 6.2 – Modelos de ferimentos mecânicos na inervação do ciático.

É importante ter em mente que a alodinia e a hiperalgesia podem ocorrer no nociceptor e/ou mais centralmente e, por conseguinte é necessário determinar se a hipersensibilidade em um estado de dor neuropática induzida pela lesão do nervo está no todo ou em parte resulta de alterações nas propriedades dos nociceptores.

Em ratos com ligação unilateral dos nervos espinhais lombares L5/L6, a qual produziu alodinia e hipersensibilidade na perna ipsilateral, as gravações foram realizadas em única fibra distal a ligação dos nervos de inervação da perna¹⁴⁵. Os limiares das respostas aos estímulos mecânicos eram mais baixos e a amplitude das respostas aos estímulos mecânicos supralimiar foi maior nas fibras C e A δ nesses animais do que em animais *sham* operados. Somente as fibras C eram sensíveis aos estímulos de calor e seus limiares mais baixos, em animais com ligação do nervo que nos animais *sham* operados. Estes resultados indicam que os seguimentos do ferimento nervoso dos nociceptores da inervação na pele se tornam sensibilizados aos estímulos mecânicos e térmicos, proporcionando elementos de evidência que a sensibilização do nociceptor pode contribuir para a dor neuropática.

O trauma mecânico não é a única maneira de que um nervo pode ser ferido. O ferimento também pode ocorrer como resultado de uma doença metabólica – *diabetes mellitus*, uma infecção – *neuralgia pós-herpética*, doenças autoimunes ou um trauma de nervo induzido quimicamente. Complicando mais a situação é que cerca de um terço das neuropatias periféricas é considerado ser *idiopática* – isto é resultando de uma causa obscura ou desconhecida. Ainda, quando a dor crônica com alodinia, pode ocorrer na maioria dos tipos de neuropatia, é muito improvável que uma única alteração molecular irá uniformemente caracterizar os estados de dor neuropática.

Dois exemplos das síndromes de dor neuropática:

Causalgia

O termo causalgia foi utilizado pela primeira vez pelo médico civil de guerra Silas Weir Mitchell, em 1864, para descrever a dor em queimação intensa e marcada sensibilidade às vibrações ou ao toque na distribuição de um nervo periférico ferido, após ferimentos militares.

Entre 1930 a 1940, a causalgia foi associada com o sistema nervoso simpático e geralmente é aceito que a dor está associada à função eferente simpática, classificada como: dor por manutenção simpática.

Em condições normais, a atividade nas fibras simpáticas pós-ganglionares não produz dor, nem é capaz de ativar os nociceptores; no entanto, após o ferimento dos nociceptores no nervo ferido podem tornar-se excitados com a epinefrina e a estimulação do tronco simpático. Todavia não é claro se existe um efeito direto simpático sobre o nociceptor ou se o efeito é indireto.

Neuralgia do trigêmeo

A neuralgia do trigêmeo, também chamado de *tic douloureux*, é uma condição de dor crônica caracterizada por ataques repentinos – *paroxismo* – de dor facial nas áreas de distribuição do nervo trigêmeo: mandíbula, dentes, gengiva, lábios, bochechas e menos frequente em torno dos olhos e fronte.

Estes episódios de dor podem ser disparados por um leve toque em torno da boca ou da face, ou ainda falar ou comer. Pode ser causado por irritação ou estimulação do nervo trigêmeo por uma pressão do vaso sanguíneo sobre a saída do tronco cerebral. Em alguns casos, está o associado com *esclerose múltipla* ou *tumor*.

A primeira opção de tratamento de escolha para neuralgia do trigêmeo é medicação: anticonvulsivantes, como *carbamazepina*, são geralmente eficazes. Aqueles pacientes impossibilitados a tolerar os efeitos colaterais dos medicamentos ou que se tornam resistentes à medicação, a cirurgia é a próxima opção.

Alguns exemplos da diversidade dos tratamentos para dor neuropática:

Gabapentina

O fármaco antiepiléptico gabapentina foi inicialmente sintetizada para imitar a estrutura química do neurotransmissor ácido gama-aminobutírico (GABA). No entanto, atualmente a gabapentina não é considerada a atuar no mesmo receptor do cérebro como GABA. O uso como um analgésico para dor neuropática resultou do relato de casos clínicos do seu efeito analgésico em pacientes com histórias bem documentadas de dor neuropática.

Pregabalina

A pregabalina foi projetada como um sucessor mais potente da gabapentina e igualmente foi considerada a ser útil ao tratamento de dor neuropática.

Uma proteína de ligação de alta afinidade à [³H]gabapentina foi subseqüentemente isolada e em seguida identificada como a subunidade $\alpha 2\delta$ -1 do canal de cálcio controlado por voltagem (Ca_v)¹⁴⁶. A expressão da subunidade $\alpha 2\delta$ -1 foi aumentada 17 vezes no GRD ipsilateral as lesões nervosas, mas não no GRD contralateral¹⁴⁷. A maior expressão da subunidade $\alpha 2\delta$ -1 foi encontrada para preceder o aparecimento da alodinia em animais experimentais e diminuem enquanto os animais foram recuperados. Estes resultados implicam que a regulação positiva da subunidade $\alpha 2\delta$ -1 em nociceptores pode potencialmente desempenhar um papel no desenvolvimento da dor neuropática após lesão do nervo.

Se os efeitos analgésicos da gabapentina e da pregabalina resultam de sua ligação com a subunidade $\alpha 2\delta$ -1 do canal de Ca_v e se a ligação de certo modo pode ser bloqueada ou eliminada, o efeito analgésico deve ser extremamente decrescente. Acontece que a substituição da alanina por arginina na posição 217 da molécula $\alpha 2\delta$ -1 previne a ligação da gabapentina e da pregabalina. Utilizando técnicas de gene alvo, camundongos mutantes foram produzidos tendo alanina¹⁴⁸ na posição 217 da molécula $\alpha 2\delta$ -1. Os camundongos mutantes exibiram respostas normais à dor, no entanto o efeito analgésico da pregabalina durante a fase tardia da dor induzida pela formalina ou alodinia após ligadura de constrição crônica do nervo ciático foi perdida, demonstrando assim conclusivamente que as ações analgésicas da pregabalina são mediadas pela subunidade $\alpha 2\delta$ -1 dos canais de Ca_v . Deve ter em mente que a mutação na subunidade $\alpha 2\delta$ -1 diminuiu extremamente a ligação da pregabalina por todo o sistema nervoso e não apenas no GRD ipsilateral da lesão do nervo.

No estudo mostrando que o aumento da expressão da subunidade $\alpha 2\delta$ -1 precedida do ataque de alodinia após o ferimento do nervo, o ferimento foi produzido por ligação dos nervos espinhais lombares L5/L6 num ponto distal ao seu GRD e proximal a sua união para formar o nervo ciático¹⁴⁷. Em estudo subseqüente, três tipos de ferimentos mecânicos nervosos foram utilizados para determinar se a regulação positiva da subunidade $\alpha 2\delta$ -1 no GRD correlaciona com a alodinia induzida¹⁴⁹. Além disso, a ligação de L5/L6 conforme descrito acima, foram

transecionados no mesmo local e, em terceiro, o nervo ciático de um lado foi constricto por uma série de ligaduras em torno do nervo. Em todas as três situações, houve um aumento significativo na expressão da subunidade $\alpha 2\delta$ -1 no GRD e uma correspondente alodinia tátil, que foi inibida por gabapentina.

Estes autores também estudaram animais exibindo alodinia tátil resultante da neuropatia diabética e neuropatia tóxica induzida por *vincristina* – um agente utilizado na quimioterapia do câncer que funciona por inibição da congregação de microtúbulo e seu principal efeito colateral é neuropatia periférica. Nesses animais, não houve nenhuma alteração significativa na expressão da subunidade $\alpha 2\delta$ -1 no GRD, sugerindo que o nível da subunidade $\alpha 2\delta$ -1 no GRD não é o fator determinante a alodinia tátil durante todos estados de dor neuropática.

Interessantemente, em animais com neuropatia diabética existia uma alodinia tátil que foi inibida pela gabapentina, sugerindo o envolvimento da subunidade $\alpha 2\delta$ -1 em locais além do GRD. Apesar da gabapentina e pregabalina agirem pela subunidade $\alpha 2\delta$ -1 do canal de Ca_v e a expressão desta subunidade é de regulação positiva no GRD, não existe ainda nenhuma evidência convincente de que seu local de ação, como um analgésico para a dor neuropática é no nociceptor e não na medula espinhal ou no sistema nervoso central (SNC).

Artemin

As terapias atuais ao tratamento de dor neuropática têm sido descritas como insuficiente, uma vez que em muitos casos são apenas benefícios limitados e têm uma alta incidência de efeitos indesejáveis.

Na busca contínua de novas terapias, artemin (ARTN) um dos membros da família do fator neurotrófico derivado da célula glial (GDNF), foi considerado. Sinaliza através do coreceptor alfa três da família do GDNF ($GFR\alpha 3$), os complexos com o receptor RET “rearranjado durante a transfecção” da tirosina quinase. A expressão do $GFR\alpha 3$ em adultos está em grande parte restrita a células do GRD de pequeno diâmetro, os quais têm axônios amielinizados muitos dos quais são nociceptores.

Os efeitos do ARTN administrado subcutâneo na hipersensibilidade térmica e tátil, como resultado de ligação do nervo espinhal, em ratos foram examinados. Foi verificada que a administração sistêmica intermitente de ARTN produziu uma reversão dependente da dose na hipersensibilidade térmica e tátil induzida da ligação do nervo, a qual foi restabelecida após a cessação da administração de ARTN¹⁵⁰. Em estudo subsequente os efeitos do ARTN após ferimento nervoso foram especificamente estudados em fibras C porque a expressão do receptor $GFR\alpha 3$ é encontrada predominantemente em neurônios do GRD de pequeno diâmetro tendo axônios amielinizados¹⁵¹. Mostraram que ARTN protegeu contra o ferimento induzindo alterações nas propriedades histoquímica e eletrofisiológica das fibras C.

Canabinoides

A maconha foi amplamente utilizada para fins medicinais, incluindo a analgesia, nos Estados Unidos, antes de ser classificada como uma droga do Anexo I, sujeito a lei das substâncias controladas, a qual é classificada como uma droga com alto risco de abuso e não aceito de uso médico. No entanto, a passagem do referendo por diversos estados permitiu o uso da maconha para fins medicinais.

Estudos em animais têm indicado que os canabinoides (CB) produzem efeitos analgésicos em sítio periférico, bem como espinhal e supraespinhal. No entanto, o uso de CB como analgésicos em seres humanos é prejudicado por seu potencial de efeitos adversos, tais como alucinações, euforia ou disforia, em pacientes que usam. O que é necessário é uma agonista do CB que produz analgesia, mas ter efeitos adversos mínimos.

Receptores CB_1 e CB_2

Os efeitos dos CB são mediados por ligação a dois GPCRs, o receptor canabinoide tipo um (CB_1) e o tipo dois (CB_2), que inibem a adenilato ciclase (AC) levando a diminuição dos níveis do monofosfato de adenosina cíclico (cAMP) na maioria dos tecidos e células.

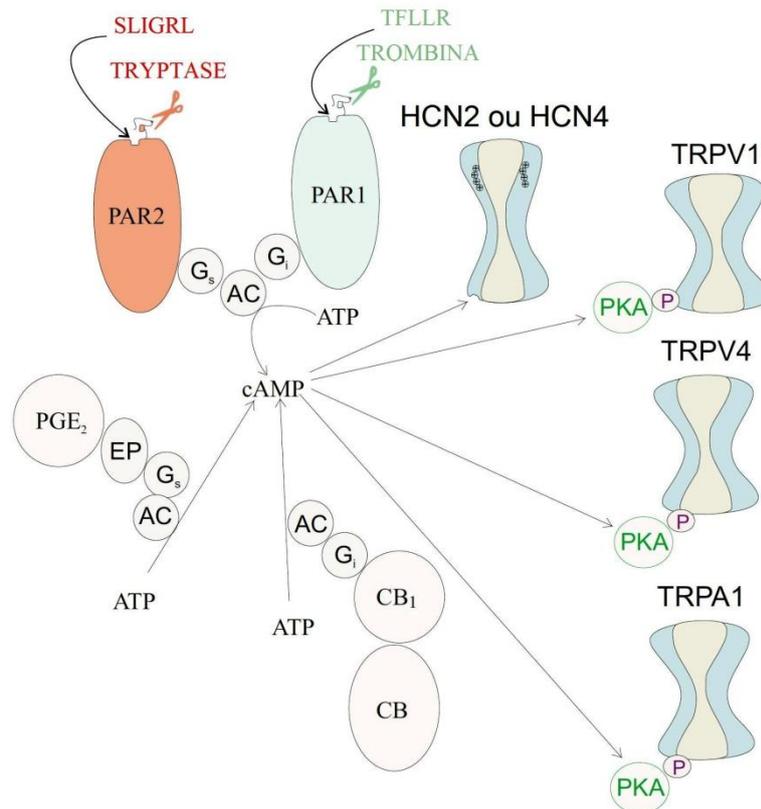
Receptor CB_1

A fim de determinar a extensão dos receptores CB_1 localizados nos nociceptores em que medida contribuiu para analgesia na dor neuropática e inflamatória, o CB_1 foi deletado dos nociceptores no SNP de camundongos, preservando a sua expressão no SNC¹⁵². Estes autores usando um modelo de dor neuropática em que lesionam dois dos três ramos terminais do nervo ciático – o nervo tibial e o fibular comum, deixando intacto o nervo sural remanescente. Analisaram os efeitos analgésicos da administração sistêmica do agonista do receptor canabinoide – WIN 55,212-2 – sobre a latência da resposta aos estímulos térmicos e o limiar mecânico em animais após a lesão do nervo. A resposta da latência ao WIN 55,212-2 foi significativamente aumentada aos estímulos térmicos e aumentou o limiar mecânico, no entanto, os efeitos foram significativamente mais fracos em camundongos de nocaute. Concluíram que os receptores CB_1 expressos em nociceptores medeiam uma parte significativa da produção da analgesia induzida pelo CB na dor neuropática. Chegaram à mesma conclusão para a analgesia produzida por WIN 55,212-2 durante a dor inflamatória. Estas conclusões argumentam fortemente ao desenvolvimento de analgésicos de ação periférica com base em CB sintéticos que não cruzem a barreira hematoencefálica.

Finalmente, vale a pena considerar como os agonistas do CB_1 que inibem a AC, levam a diminuição dos níveis do cAMP, podem causar analgesia na dor inflamatória e neuropática (veja a [Figura 6.3](#)).

Primeiro, considere os mediadores inflamatórios (discutidos na [Seção – IV](#)) que ativam a enzima AC pela proteína G estimuladora (G_s). Os ativadores da enzima AC são a prostaglandina E_2

(PGE₂) e do receptor ativado por proteases dois (PAR2). A enzima AC ativada catalisa a conversão trifosfato de adenosina (ATP) em cAMP que por sua vez modula a atividade de quatro canais – HCN, TRPV1, TRPV4 e TRPA1. A atividade dos canais de cátions do TRPV1, TRPV4 e TRPA1 são modulados por fosforilação (P) da proteína quinase A (PKA) ativada pelo cAMP. Por outro lado, os canais de cátions HCN têm um domínio de ligação do cAMP, o qual regula o canal e não requer a fosforilação da proteína. PAR1 e CB₁ inibem a AC pela proteína G inibitória (G_i) e assim tendem a inibir a ativação do nociceptor pelos mediadores inflamatórios – PG₂ e do PAR2, dessa forma inibem a dor inflamatória.



CB – canabinoides; **CB₁** – receptor canabinoide tipo um; **Gi** – proteína G inibitória;
AC – adenilato ciclase; **ATP** – trifosfato de adenosina; **cAMP** – monofosfato de adenosina cíclico;
PGE₂ – prostaglandina E₂; **EP** – receptor de prostanóide E; **G_s** – proteína G estimuladora;
PAR2 – receptor ativado por proteases dois; **PAR1** – receptor ativado por proteases um;
HCN2 – canal controlado por nucleotídeo cíclico ativado por hiperpolarização dois;
HCN4 – canal controlado por nucleotídeo cíclico ativado por hiperpolarização quatro;
PKA – proteína quinase A; **P** – fosforilação;
TRPV1 – canal do receptor de potencial transitório vaniloide um;
TRPV4 – canal do receptor de potencial transitório vaniloide quatro;
TRPA1 – canal do receptor de potencial transitório da anquirina um;

Fig. 6.3 – Regulação da função do nociceptor pelo cAMP e a PKA.

O PAR2 e a PG₂ ativam AC via G_s, assim levam ao aumento na concentração do cAMP e a ativação da PKA. Em contraste, PAR1 e CB₁ inibem AC via G_i, assim, levando a uma diminuição na concentração do cAMP e uma diminuição na atividade de PKA.

De que maneira, então os agonistas do CB₁ podem causar analgesia na dor neuropática?

Um mecanismo possível é pelos canais HCN que foram implicados na dor neuropática, veja a seguir.

Correntes em Marca-passo

O procedimento de colocação de uma ligadura em torno de um nervo espinhal para produzir uma neuropatia foi originalmente desenvolvido para ter um modelo animal para dor neuropática em que houvesse a dor crônica com alodinia e hiperalgesia¹⁵³.

Usando esse modelo foi mostrado que as fibras A parecem mediar a alodinia mecânica e a hipersensibilidade enquanto as fibras C a hiperalgesia térmica¹⁵⁴. Um mecanismo que pode dar origem a dor crônica ao estado de dor neuropática é a presença de atividade espontânea, que poderia ativar e/ou sensibilizar os neurônios espinhais e deste modo contribuir a dor, bem como alodinia e hiperalgesia. Como mencionado acima, nos animais em que um *neuroma* experimental é realizado por cortar o nervo ciático, os níveis elevados de atividade neuronal ectópica espontânea podem ser gravados.

A fim de determinar o tipo das fibras que contribuem a atividade espontânea durante a dor neuropática que existe a dor crônica com alodinia e hiperalgesia, um experimento simples foi executado¹⁵⁵. As ligaduras foram colocadas em torno do nervo ciático e as gravações de diferentes tempos pós-procedimento da fibra nervosa foram feitas das raízes lombares, as quais contribuem ao nervo ciático (veja a Figura 6.4).

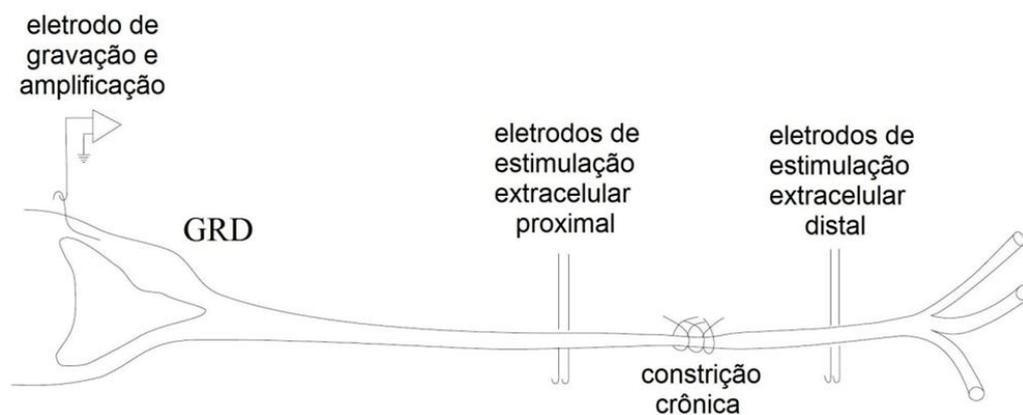


Fig. 6.4 – Sistema experimental de disparo espontâneo.

Um sistema experimental utilizado para determinar o tipo das fibras nervosas de disparo espontaneamente durante a dor neuropática.

Os eletrodos estimulantes foram colocados distal e proximal do local de ligação. A velocidade de condução da atividade espontaneamente e os axônios silenciosos podem ser determinados usando os eletrodos estimulantes proximais. Os eletrodos estimulantes distais foram utilizados para determinar quais as fibras conduziram através do local de ligação. As descargas espontâneas foram observadas em 35% das A β – 55 fibras, 89% das quais não conduzem através do local de ligação, 15% das A δ – 20 fibras, 65% das quais não conduzem através do local de ligação e apenas 3% das C – 2 fibras, as quais conduzem através do local de ligação.

Um experimento¹⁵⁶ subsequente determinava que a atividade espontânea pudesse algumas vezes originar perto ou no local da ligação além do GRD. Estes resultados indicam que após o trauma mecânico, varias fibras A β e A δ e algumas fibras C dos nervos feridos tornam-se espontaneamente ativas e a atividade espontânea pode originar no GRD, perto ou no local do ferimento. Além do mais, algumas das fibras com atividade espontânea ainda inervava a região afetada pelo nervo machucado.

Muitas das atividades espontâneas das fibras A β e A δ descritas acima exibiram um padrão de disparo rítmico regular sugerindo fortemente a possibilidade que o padrão de disparo resulta de uma corrente em marca-passo subjacente. As correntes em marca-passo (I_h) carregadas por canais HCN são encontradas em neurônios do GRD (discutido na [Seção – V](#)). Em ratos¹⁵⁷, nos quais os nervos espinhais L5 e L6 estavam ligados, a alodinia tátil resultante foi suprimida dependentemente da dose por ZD7288 – um fármaco originalmente considerado ser um bloqueador específico de I_h , não seletivo entre HCN1 e HCN4. Por outro lado, o ZD7288 diminuiu as descargas espontâneas das fibras A β e A δ . Finalmente, o ferimento nervoso aumentou as correntes em marca-passo nos grandes neurônios do GRD e o potencial de membrana em repouso desses neurônios foi significativamente mais positivo do que nos controles. Estes resultados sugerem que um aumento I_h desempenha um papel na alodinia tátil da dor neuropática. Além disso, estas conclusões apoiam a ideia que as descargas espontâneas em neurônios do GRD desempenham um papel causal na dor neuropática.

Em desacordo com as conclusões do comportamento e eletrofisiológico descrito acima; o ácido ribonucleico mensageiro (mRNA) do canal HCN e a proteína foram reduzidas em neurônios do GRD do mesmo lado da ligação. Em um estudo¹⁵⁸ subsequente, a acumulação axonal abundante da proteína do canal HCN foi encontrada nos locais de ferimento juntamente com uma ligeira diminuição dos corpos celulares neuronais no GRD. Estes resultados sugerem que acumulação de canais HCN no local do ferimento axonal ocasionam os disparos ectópicos espontâneos dos potenciais de ação, que contribuem a alodinia mecânica da dor neuropática.

As conclusões ligando I_h a indução da alodinia tátil da dor neuropática depende da especificidade do ZD7288 para I_h , a qual foi chamada em questão com a descoberta dos efeitos não específicos do ZD7288. Ficamos a aguardar resultados futuros antes de concluir que I_h desempenha um papel causal no início da alodinia tátil em dor neuropática.

O papel do HCN1 na dor neuropática foi investigado¹⁵⁹ por ligação do nervo ciático em camundongos de nocaute do HCN1. Depois da ligação do nervo, a hiperalgesia mecânica e alodinia ao frio estiveram presentes em animais de controle e nos camundongos de nocaute do HCN1, a hiperalgesia mecânica foi semelhante, mas houve uma diminuição significativa da alodinia ao frio em mais de 50% nos camundongos de nocaute. Estes resultados sugerem um papel causal para HCN1 na indução da alodinia ao frio na dor neuropática.

Atividade Espontânea

Foi mencionado anteriormente que após ferimento do nervo, os nociceptores inervando a pele tornam-se sensibilizados a estímulos mecânicos e térmicos. Desse modo fornece a evidência, que a sensibilização do nociceptor pode contribuir ao estado de dor neuropática. Desde que a alodinia e a hiperalgesia podem resultar de alterações que ocorrem centralmente, pode ser que a atividade espontânea leva a hiperalgesia mediada centralmente.

Tem sido demonstrado que a estimulação elétrica das fibras C nos seres humanos pode levar a hiperalgesia, indicando que a atividade elétrica em fibras C é suficiente para produzir hiperalgesia mediada centralmente¹⁶⁰. Apesar da atividade espontânea contínua pode logo ser suficiente para produzir a hiperalgesia mecânica, não é necessária; a gangliectomia de L5 no qual os aferentes são removidos resultou em hiperalgesia mecânica comparável a ligação do nervo espinhal¹⁶¹.

Foi estudada a possibilidade da qual a dor espontânea contínua na dor neuropática é causada por disparo espontâneo dos neurônios nociceptivos, em ratos. O comportamento de elevação espontânea da pata como um resultado da lesão do nervo foi usado como um indicador da dor espontânea¹⁶². Uma correlação foi verificada entre a elevação da pata espontânea e a taxa de disparo de nociceptores C depois do ferimento e o tratamento adjuvante de Freund completo, uma conclusão consistente com a possibilidade de uma relação causal entre os dois¹⁶³.

Embora possam existir situações em que a dor neuropática crônica é o resultado do disparo espontâneo dos aferentes nociceptivos, isso não deve ser tomado para sugerir o inverso que todos os casos de dor neuropática contínua resultam do disparo espontâneo dos nociceptores.

No entanto, o que acontece com atividade espontânea dos aferentes A β acima descrito, poderia o disparo espontânea de esses neurônios ser a causa da dor crônica, bem como alodinia e hiperalgesia secundária?

Uma fração substancial dos nociceptores da fibra A (veja a [Seção – I](#)) parecem a conduzir na faixa de velocidade da condução A β ^{164, 165}. Desse modo, o disparo espontâneo das fibras A β pode muito bem ser a causa da dor contínua, bem como alodinia e hiperalgesia secundária. Na atualidade, esta questão permanece sem resposta.

Em resumo, locais múltiplos são alterados depois do ferimento nervoso. As anormalidades podem ocorrer em nociceptores feridos e não feridos inervando a região afetada. Esses efeitos incluem atividade espontânea, bem como alodinia e hiperalgesia. Os efeitos centrais especificamente a sensibilização após o ferimento nervoso pode também ocorrer, embora seus mecanismos não sejam considerados aqui.

Toxina Botulínica Tipo A

A toxina botulínica tipo A (BTX-A) liga-se ao terminal do nervo pré-sináptico onde está incorporada na célula e, em seguida, interfere com encaixe da vesícula, desde modo a inibição da liberação de acetilcolina (Ach) e da contração muscular. Isso tem feito da BTX-A útil ao tratamento das doenças médicas decorrentes da contração muscular excessiva, que são algumas vezes dolorosas.

No entanto, a dissociação entre o relaxamento muscular e a analgesia por vezes foi observada clinicamente; sugerindo que a BTX-A poderá ter um efeito analgésico independente do seu efeito de relaxamento muscular.

O uso da BTX-A como um agente analgésico foi testado, em ratos, no qual a ligação do nervo ciático foi realizada para induzir a dor neuropática. Uma única dose atóxica ipsilateral intraplantar da BTX-A injetada, 5 ou 12 dias após a ligação do nervo ciático foi capaz de reduzir significativamente alodinia mecânica pelo menos três semanas¹⁶⁶. Estas conclusões apoiam fortemente a sugestão que a BTX-A tem efeito analgésico independentes do seu efeito de relaxamento muscular.

Estudo duplo-cego placebo controlado para a utilização da BTX-A ao tratar a dor neuropática foram efetuados em pacientes com dor pós-traumática/pós-operatória ou neuralgia pós-herpética¹⁶⁷ e outro grupo com neuropatia diabética dolorosa¹⁶⁸. Em ambos os casos, a BTX-A reduziu significativamente a dor neuropática por período de duração até três meses.

Desmielinização

A dor neuropática – ou seja, dor espontânea, hiperalgesia e alodinia – são também associadas com neuropatias desmielinizantes periféricas em seres humanos, tais como *doença de Charcot-Marie-Tooth* – amiotrofia fibular – e *síndrome de Guillain-Barré* – polirradiculoneurite aguda.

O ferimento traumático do nervo, tal como a que resulta da colocação de uma ligadura ao redor de um nervo também levará a desmielinização do nervo ferido. Conseqüentemente, é razoável considerar ou não, a desmielinização pode contribuir ao desenvolvimento do estado de dor neuropática.

A contribuição possível da desmielinização ao desenvolvimento de dor neuropática foi estudada usando o agente desmielinizante – lisolecitina (lisofosfatidilcolina) – aplicado aos nervos periféricos¹⁶⁹. Estes autores encontraram que a aplicação tópica de lisolecitina causa desmielinização focal, sem quaisquer indicações morfológicas ou imunológicas da perda axonal. Funcionalmente, encontraram a ocorrência de baixa frequência espontâneas dos potenciais de ação, sem significativa alodinia ou hiperalgesia periférica, mas com alodinia mecânica e hiperalgesia térmica central. Estes resultados sugerem que a desmielinização, e lesão não axonal, das fibras A aferentes induzem a dor neuropática central.

Praticamente ao mesmo tempo em que o trabalho com a lisolecitina, acima descrito estava sendo realizado, outro grupo independente estava investigando o papel do ácido lisofosfatídico (LPA) na dor neuropática¹⁷⁰. Estes autores encontraram que a injeção intratecal de LPA induziu a alodinia comportamental e hiperalgesia com desmielinização na raiz dorsal semelhante ao encontrado para animais após a ligadura nervo. Tenha em mente que o espaço intratecal envolve a medula espinhal e o gânglio de raiz dorsal. Além disso, descobriram que os camundongos que faltam um dos receptores do ácido lisofosfatídico – o LPA₁, não desenvolveram alodinia comportamental, hiperalgesia e desmielinização após o ferimento do nervo. Concluíram que a sinalização mediada pelo receptor LPA é crucial ao início da dor neuropática.

Para esclarecer a situação no que se refere à lisolecitina e ao LPA, o mesmo grupo analisou¹⁷¹ os efeitos da lisolecitina em camundongos de nocaute do LPA₁. Descobriram que ao contrário dos camundongos normais, aqueles sem o receptor LPA₁ não evoluíram com alodinia comportamental e hiperalgesia após a injeção intratecal de lisolecitina. Concluíram que a lisolecitina é convertida em LPA, que em seguida ativa o receptor LPA₁ para iniciar a dor neuropática. Este trabalho foi estendido pela injeção de LPA ao gânglio trigeminal de ratos¹⁷². A injeção de LPA em um gânglio trigeminal induziu alodinia mecânica ipsilateral e contralateral ao local da injeção e hiperalgesia mecânica foi observada apenas ipsilateral ao local da injeção.

O impulso para estudar o papel do LPA, na dor neuropática, foi na conclusão anterior pelo mesmo grupo¹⁷⁰, que a injeção intratecal da toxina botulínica C3 (BTX-C3), antes do ferimento do nervo periférico inibiu o desenvolvimento da hiperalgesia, em camundongos¹⁷³.

O BTX-C3 inibe via RhoA/Rho quinase (ROCK) por ribosilação do ADP de RhoA, e o RhoA é ativado pela sinalização do LPA através¹⁷⁰ da proteína G – G12/13 α . Além disso, mostraram que a indução da alodinia mecânica e hiperalgesia térmica pela injeção intratecal do LPA era inibida dependentemente da dose por BTX-C3 e também por Y-27632 – um inibidor reversível do ROCK. Um eventual papel para a via RhoA/Rho quinase em neurônios feridos foi indicado pela constatação que mRNA do Rho neuronal e a proporção de neurônios do GRD de L5 que expressam RhoA sobe depois da *axotomia* distal¹⁷⁴.

Como mencionado acima, a BTX-A também considerada a inibir a dor neuropática; além disso, foi mostrado funcionar nos seres humanos. A BTX-A inibe a liberação de acetilcolina das sinapses colinérgicas periféricas por clivagem proteolítica da proteína SNAP-25 que é essencial para a liberação do transmissor. No entanto, tem sido demonstrado que a BTX-A também alvo de RhoB para degradação por proteasoma¹⁷⁵. RhoB como RhoA é ativado por sinalização do LPA através do GPCR. Estas conclusões fortemente apontam para a via de LPA – proteína G – Rho/Rho quinase como um alvo terapêutico potencial ao tratamento de dor neuropática.

Referências

1. Axelrod FB, Hilz MJ. **Inherited autonomic neuropathies**. *Semin Neurol* **2003**;23(4):381-90.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15088259>
2. Lawson SN. **Phenotype and function of somatic primary afferent nociceptive neurones with C-, Delta- or Aalpha/beta-fibres**. *Exp Physiol* **2002**;87(2):239-44.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11856969>
3. Djouhri L, Lawson SN. **Abeta-fiber nociceptive primary afferent neurons: a review of incidence and properties in relation to other afferent A-fiber neurons in mammals**. *Brain Res Brain Res Rev* **2004**;46(2):131-45.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15464202>
4. Bishop GH, Landau WM, Jones MH. **Evidence for a double peripheral pathway for pain**. *Science* **1958**;128(3326):712-4.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13580241>
5. Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, et al. **The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway**. *Nature* **1997**;389(6653):816-24.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-9349813>
6. Caterina MJ, Leffler A, Malmberg AB, et al. **Impaired nociception and pain sensation in mice lacking the capsaicin receptor**. *Science* **2000**;288(5464):306-13.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-10764638>
7. Park JJ, Lee J, Kim MA, et al. **Induction of total insensitivity to capsaicin and hypersensitivity to garlic extract in human by decreased expression of TRPV1**. *Neurosci Lett* **2007**;411(2):87-91.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17110039>
8. Trevisani M, Smart D, Gunthorpe MJ, et al. **Ethanol elicits and potentiates nociceptor responses via the vanilloid receptor-1**. *Nat Neurosci* **2002**;5(6):546-51.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11992116>
9. Binshtok AM, Bean BP, Woolf CJ. **Inhibition of nociceptors by TRPV1-mediated entry of impermeant sodium channel blockers**. *Nature* **2007**;449(7162):607-10.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17914397>
10. Todaka H, Taniguchi J, Satoh J, et al. **Warm temperature-sensitive transient receptor potential vanilloid 4 (TRPV4) plays an essential role in thermal hyperalgesia**. *J Biol Chem* **2004**;279(34):35133-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15187078>
11. Lee H, Iida T, Mizuno A, et al. **Altered thermal selection behavior in mice lacking transient receptor potential vanilloid 4**. *J Neurosci* **2005**;25(5):1304-10.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15689568>
12. Story GM, Peier AM, Reeve AJ, et al. **ANKTM1, a TRP-like channel expressed in nociceptive neurons, is activated by cold temperatures**. *Cell* **2003**;112(6):819-29.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12654248>

-
13. Jordt SE, Bautista DM, Chuang HH, et al. **Mustard oils and cannabinoids excite sensory nerve fibres through the TRP channel ANKTM1.** *Nature* **2004**;427(6971):260-5.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-14712238>
 14. Nagata K, Duggan A, Kumar G, et al. **Nociceptor and hair cell transducer properties of TRPA1, a channel for pain and hearing.** *J Neurosci* **2005**;25(16):4052-61.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15843607>
 15. Sawada Y, Hosokawa H, Hori A, et al. **Cold sensitivity of recombinant TRPA1 channels.** *Brain Res* **2007**;1160:39-46.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17588549>
 16. Bautista DM, Jordt SE, Nikai T, et al. **TRPA1 mediates the inflammatory actions of environmental irritants and proalgesic agents.** *Cell* **2006**;124(6):1269-82.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-16564016>
 17. Kwan KY, Allchorne AJ, Vollrath MA, et al. **TRPA1 contributes to cold, mechanical, and chemical nociception but is not essential for hair-cell transduction.** *Neuron* **2006**;50(2):277-89.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-16630838>
 18. Abrahamsen B, Zhao J, Asante CO, et al. **The cell and molecular basis of mechanical, cold, and inflammatory pain.** *Science* **2008**; 321(5889):702-5.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-18669863>
 19. Karashima Y, Talavera K, Everaerts W, et al. **TRPA1 acts as a cold sensor in vitro and in vivo.** *Proc Natl Acad Sci U S A* **2009**;106(4):1273-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-19144922>
 20. Bautista DM, Siemens J, Glazer JM, et al. **The menthol receptor TRPM8 is the principal detector of environmental cold.** *Nature* **2007**;448(7150):204-8
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17538622>
 21. Dhaka A, Murray AN, Mathur J, et al. **TRPM8 is required for cold sensation in mice.** *Neuron* **2007**;54(3):371-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17481391>
 22. Colburn RW, Lubin ML, Stone DJ, et al. **Attenuated cold sensitivity in TRPM8 null mice.** *Neuron* **2007**;54(3):379-86.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17481392>
 23. Schmeltz M, Osiander G, Blunk J, et al. **Intracutaneous injections of platelets cause acute pain and protracted hyperalgesia.** *Neurosci Lett* **1997**;226(3):171-4.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-9175594>
 24. Maurer-Spurej E, Pittendreigh C, Solomons K. **The influence of selective serotonin reuptake inhibitors on human platelet serotonin.** *Thromb Haemost* **2004**;91(1):119-28.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-14691577>

-
25. Tokunaga A, Saika M, Senba E. **5-HT_{2A} receptor subtype is involved in the thermal hyperalgesic mechanism of serotonin in the periphery.** Pain **1998**;76(3):349-55.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-9718253>
 26. Sasaki M, Obata H, Kawahara K, et al. **Peripheral 5-HT_{2A} receptor antagonism attenuates primary thermal hyperalgesia and secondary mechanical allodynia after thermal injury in rats.** Pain **2006**;122(1-2):130-6.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-16527395>
 27. Okamoto K, Imbe H, Morikawa Y, et al. **5-HT_{2A} receptor subtype in the peripheral branch of sensory fibers is involved in the potentiation of inflammatory pain in rats.** Pain **2002**;99(1-2):133-43.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12237191>
 28. Wei H, Chen Y, Hong Y. **The contribution of peripheral 5-hydroxytryptamine 2A receptor to carrageenan-evoked hyperalgesia, inflammation and spinal Fos protein expression in the rat.** Neuroscience **2005**;132(4):1073-82.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15857711>
 29. Todorovic SM, Scroggs RS, Anderson EG. **Cationic modulation of 5-HT₂ and 5-HT₃ receptors in rat sensory neurons: the role of K⁺, Ca²⁺ and Mg²⁺.** Brain Res **1997**;765(2):291-300.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-9313902>
 30. Chemin J, Girard C, Duprat F, et al. **Mechanisms underlying excitatory effects of group I metabotropic glutamate receptors via inhibition of 2P domain K⁺ channels.** EMBO J **2003**;22(20):5403-11.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-14532113>
 31. Alloui A, Zimmermann K, Mamet J, et al. **TREK-1, a K⁺ channel involved in polymodal pain perception.** EMBO J **2006**;25(11):2368-76.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-16675954>
 32. Zeitz KP, Guy N, Malmberg AB, et al. **The 5-HT₃ subtype of serotonin receptor contributes to nociceptive processing via a novel subset of myelinated and unmyelinated nociceptors.** J Neurosci **2002**;22(3):1010-9.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11826129>
 33. Manning DC, Raja SN, Meyer RA, et al. **Pain and hyperalgesia after intradermal injection of bradykinin in humans.** Clin Pharmacol Ther **1991**;50(6):721-9.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-1752117>
 34. Kollarik M, Udem BJ. **Activation of bronchopulmonary vagal afferent nerves with bradykinin, acid and vanilloid receptor agonists in wild-type and TRPV1^{-/-} mice.** J Physiol **2004**;555(Pt1):115-23.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-14634201>
 35. Rong W, Hillsley K, Davis JB, et al. **Jejunal afferent nerve sensitivity in wild-type and TRPV1 knockout mice.** J Physiol **2004**;560(Pt 3):867-81.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15331673>

-
36. Chuang HH, Prescott ED, Kong H, et al. **Bradykinin and nerve growth factor release the capsaicin receptor from PtdIns(4,5)P2-mediated inhibition.** *Nature* 2001;411(6840):957-62.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11418861>
 37. Cesare P, McNaughton P. **A novel heat-activated current in nociceptive neurons and its sensitization by bradykinin.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93(26):15435-9.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-8986829>
 38. Sugiura T, Tominaga M, Katsuya H, et al. **Bradykinin lowers the threshold temperature for heat activation of vanilloid receptor 1.** *J Neurophysiol* 2002;88(1):544-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12091579>
 39. Cesare P, Dekker LV, Sardini A, et al. **Specific involvement of PKC-epsilon in sensitization of the neuronal response to painful heat.** *Neuron* 1999;23(3):617-24.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-10433272>
 40. Lukacs V, Thyagarajan B, Varnai P, et al. **Dual regulation of TRPV1 by phosphoinositides.** *J Neurosci* 2007;27(26):7070-80.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17596456>
 41. Shin J, Cho H, Hwang SW, et al. **Bradykinin-12-lipoxygenase-VR1 signaling pathway for inflammatory hyperalgesia.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99(15):10150-5.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12097645>
 42. Hwang SW, Cho H, Kwak J, et al. **Direct activation of capsaicin receptors by products of lipoxygenases: endogenous capsaicin-like substances.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97(11):6155-60.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-10823958>
 43. Kassuya CA, Ferreira J, Claudino RF, et al. **Intraplantar PGE₂ causes nociceptive behaviour and mechanical allodynia: the role of prostanoid E receptors and protein kinases.** *Br J Pharmacol* 2007; 150(6): 727-37.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17310141>
 44. Moriyama T, Higashi T, Togashi K, et al. **Sensitization of TRPV1 by EP1 and IP reveals peripheral nociceptive mechanism of prostaglandins.** *Mol Pain* 2005;1:3.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15813989>
 45. Petho G, Derow A, Reeh PW. **Bradykinin-induced nociceptor sensitization to heat is mediated by cyclooxygenase products in isolated rat skin.** *Eur J Neurosci* 2001;14(2):210-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11553274>
 46. Southall MD, Vasko MR. **Prostaglandin receptor subtypes, EP₃C and EP₄, mediate the prostaglandin E₂-induced cAMP production and sensitization of sensory neurons.** *J Biol Chem* 2001;276(19):16083-91.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11278900>
 47. Rathee PK, Distler C, Obreja O, et al. **PKA/AKAP/VR-1 module: A common link of Gs-mediated signaling to thermal hyperalgesia.** *J Neurosci* 2002;22(11):4740-5.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12040081>

-
48. Schnizler K, Shutov LP, Van Kanegan MJ, et al. **Protein kinase A anchoring via AKAP150 is essential for TRPV1 modulation by forskolin and prostaglandin E2 in mouse sensory neurons.** *J Neurosci* **2008**;28(19):4904-17.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-18463244>
 49. Khasar SG, Lin YH, Martin A, et al. **A novel nociceptor signaling pathway revealed in protein kinase C epsilon mutant mice.** *Neuron* **1999**;24(1):253-60.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-10677042>
 50. Murata T, Ushikubi F, Matsuoka T, et al. **Altered pain perception and inflammatory response in mice lacking prostacyclin receptor.** *Nature* **1997**;388(6643):678-82.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-9262402>
 51. Ferreira J, da Silva GL, Calixto JB. **Contribution of vanilloid receptors to the overt nociception induced by B₂ kinin receptor activation in mice.** *Br J Pharmacol* **2004**;141(5):787-94.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-14967737>
 52. Bautista DM, Jordt SE, Nikai T, et al. **TRPA1 mediates the inflammatory actions of environmental irritants and proalgesic agents.** *Cell* **2006**;124(6):1269-82.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-16564016>
 53. Kwan KY, Allchorne AJ, Vollrath MA, et al. **TRPA1 contributes to cold, mechanical, and chemical nociception but is not essential for hair-cell transduction.** *Neuron* **2006**;50(2):277-89.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-16630838>
 54. Bautista DM, Movahed P, Hinman A, et al. **Pungent products from garlic activate the sensory ion channel TRPA1.** *Proc Natl Acad Sci U S A* **2005**;102(34):12248-52.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-16103371>
 55. Wang S, Dai Y, Fukuoka T, et al. **Phospholipase C and protein kinase A mediate bradykinin sensitization of TRPA1: a molecular mechanism of inflammatory pain.** *Brain* **2008**;131(Pt5):1241-51.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-18356188>
 56. Jordt SE, Bautista DM, Chuang HH, et al. **Mustard oils and cannabinoids excite sensory nerve fibres through the TRP channel ANKTM1.** *Nature* **2004**;427(6971):260-5.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-14712238>
 57. Zurborg S, Yurgionas B, Jira JA, et al. **Direct activation of the ion channel TRPA1 by Ca²⁺.** *Nat Neurosci* **2007**;10(3):277-9.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17259981>
 58. Hamilton SG, Warburton J, Bhattacharjee A, et al. **ATP in human skin elicits a dose-related pain response which is potentiated under conditions of hyperalgesia.** *Brain* **2000**;123(Pt6):1238-46.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-10825361>
 59. Cockayne DA, Hamilton SG, Zhu QM, et al. **Urinary bladder hyporeflexia and reduced pain-related behaviour in P2X₃-deficient mice.** *Nature* **2000**;407(6807):1011-5.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11069181>

-
60. Cockayne DA, Dunn PM, Zhong Y, et al. **P2X₂ knockout mice and P2X₂/P2X₃ double knockout mice reveal a role for the P2X₂ receptor subunit in mediating multiple sensory effects of ATP.** *J Physiol* **2005**;567(Pt 2):621-39.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15961431>
61. Souslova V, Cesare P, Ding Y, et al. **Warm-coding deficits and aberrant inflammatory pain in mice lacking P2X₃ receptors.** *Nature* **2000**;407(6807):1015-7.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11069182>
62. Jarvis MF, Burgard EC, McGaraughty S, et al. **A-317491, a novel potent and selective non-nucleotide antagonist of P2X₃ and P2X_{2/3} receptors, reduces chronic inflammatory and neuropathic pain in the rat.** *Proc Natl Acad Sci U S A* **2002**;99(26):17179-84.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12482951>
63. McNamara CR, Mandel-Brehm J, Bautista DM, et al. **TRPA1 mediates formalin-induced pain.** *Proc Natl Acad Sci U S A* **2007**;104(33):13525-30.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17686976>
64. Moriyama T, Iida T, Kobayashi K, et al. **Possible involvement of P2Y₂ metabotropic receptors in ATP-induced transient receptor potential vanilloid receptor 1-mediated thermal hypersensitivity.** *J Neurosci* **2003**;23(14):6058-62.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12853424>
65. Malin SA, Davis BM, Koerber HR, et al. **Thermal nociception and TRPV1 function are attenuated in mice lacking the nucleotide receptor P2Y₂.** *Pain* **2008**;138(3):484-96.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-18343036>
66. Schmelz M, Petersen LJ. **Neurogenic inflammation in human and rodent skin.** *News Physiol Sci* **2001**;16:33-7.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11390944>
67. Richardson JD, Vasko MR. **Cellular mechanisms of neurogenic inflammation.** *J Pharmacol Exp Ther* **2002**;302(3):839-45.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12183638>
68. Mogil JS, Miermeister F, Seifert F, et al. **Variable sensitivity to noxious heat is mediated by differential expression of the CGRP gene.** *Proc Natl Acad Sci U S A* **2005**;102(36):12938-43.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-16118273>
69. Steinhoff M, Vergnolle N, Young SH, et al. **Agonists of proteinase-activated receptor 2 induce inflammation by a neurogenic mechanism.** *Nat Med* **2000**;6(2):151-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-10655102>
70. Amadesi S, Nie J, Vergnolle N, et al. **Protease-activated receptor 2 sensitizes the capsaicin receptor transient receptor potential vanilloid receptor 1 to induce hyperalgesia.** *J Neurosci* **2004**;24(18):4300-12.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15128844>
71. Kawao N, Shimada C, Itoh H, et al. **Capsazepine inhibits thermal hyperalgesia but not nociception triggered by protease-activated receptor-2 in rats.** *Jpn J Pharmacol* **2002**;89(2):184-7.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12120762>

-
72. Amadesi S, Cottrell GS, Divino L, et al. **Protease-activated receptor 2 sensitizes TRPV1 by protein kinase Cepsilon- and A-dependent mechanisms in rats and mice.** *J Physiol* **2006**;575(Pt2):555-71.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-16793902>
 73. Kayssi A, Amadesi S, Bautista F, et al. **Mechanisms of protease-activated receptor 2-evoked hyperexcitability of nociceptive neurons innervating the mouse colon.** *J Physiol* **2007**;580(Pt.3):977-91.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17289784>
 74. Vergnolle N, Bunnett NW, Sharkey KA, et al. **Proteinase-activated receptor-2 and hyperalgesia: A novel pain pathway.** *Nat Med* **2001**;7(7):821-6.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11433347>
 75. Kawabata A, Kawao N, Kuroda R, et al. **Peripheral PAR-2 triggers thermal hyperalgesia and nociceptive responses in rats.** *Neuroreport* **2001**;12(4):715-9.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11277570>
 76. Grant AD, Cottrell GS, Amadesi S, et al. **Protease-activated receptor 2 sensitizes the transient receptor potential vanilloid 4 ion channel to cause mechanical hyperalgesia in mice.** *J Physiol* **2007**;578(Pt 3):715-33.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17124270>
 77. Watanabe H, Davis JB, Smart D, et al. **Activation of TRPV4 channels (hVRL-2/mTRP12) by phorbol derivatives.** *J Biol Chem* **2002**;277(16):13569-77.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11827975>
 78. Asfaha S, Brussee V, Chapman K, et al. **Proteinase-activated receptor-1 agonists attenuate nociception in response to noxious stimuli.** *Br J Pharmacol* **2002**;135(5):1101-6.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11877315>
 79. Asfaha S, Cenac N, Houle S, et al. **Protease-activated receptor-4: a novel mechanism of inflammatory pain modulation.** *Br J Pharmacol* **2007**;150(2):176-85.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17179954>
 80. Issberner U, Reeh PW, Steen KH. **Pain due to tissue acidosis: a mechanism for inflammatory and ischemic myalgia?** *Neurosci Lett* **1996**;208(3):191-4.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-8733302>
 81. Treuhaft PS, MCCarty DJ. **Synovial fluid pH, lactate, oxygen and carbon dioxide partial pressure in various joint diseases.** *Arthritis Rheum* **1971**;14(4):475-84.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-5564921>
 82. Caterina MJ, Leffler A, Malmberg AB, et al. **Impaired nociception and pain sensation in mice lacking the capsaicin receptor.** *Science* **2000**;288(5464):306-13.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-10764638>
 83. Mogil JS, Breese NM, Witty MF, et al. **Transgenic expression of a dominant-negative ASIC3 subunit leads to increased sensitivity to mechanical and inflammatory stimuli.** *J Neurosci* **2005**;25(43):9893-901.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-16251436>

-
84. Baumann TK, Burchiel KJ, Ingram SL, et al. **Responses of adult human dorsal root ganglion neurons in culture to capsaicin and low pH.** *Pain* **1996**;65(1):31-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-8826487>
 85. Baumann TK, Chaudhary P, Martenson ME. **Background potassium channel block and TRPV1 activation contribute to proton depolarization of sensory neurons from humans with neuropathic pain.** *Eur J Neurosci* **2004**;19(5):1343-51.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15016092>
 86. Ludwig MG, Vanek M, Guerini D, et al. **Proton-sensing G-protein-coupled receptors.** *Nature* **2003**;425(6953):93-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12955148>
 87. Huang CW, Tzeng JN, Chen YJ, et al. **Nociceptors of dorsal root ganglion express proton-sensing G-protein-coupled receptors.** *Mol Cell Neurosci* **2007**;36(2):195-210.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17720533>
 88. Cohen A, Sagron R, Somech E, et al. **Pain-associated signals, acidosis and lysophosphatidic acid, modulate the neuronal K(2P)2.1 channel.** *Mol Cell Neurosci* **2009**;40(3):382-9.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-19130888>
 89. Renback K, Inoue M, Ueda H. **Lysophosphatidic acid-induced, pertussis toxin-sensitive nociception through a substance P release from peripheral nerve endings in mice.** *Neurosci Lett* **1999**;270(1):59-61.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-10454146>
 90. Seung Lee W, Hong MP, Hoon Kim T, et al. **Effects of lysophosphatidic acid on sodium currents in rat dorsal root ganglion neurons.** *Brain Res* **2005**;1035(1):100-4.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15713282>
 91. McMahon SB, Bennett DL, Priestley JV, et al. **The biological effects of endogenous nerve growth factor on adult sensory neurons revealed by a trkA-IgG fusion molecule.** *Nat Med* **1995**;1(8):774-80.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-7585179>
 92. Bergmann I, Reiter R, Toyka KV, et al. **Nerve growth factor evokes hyperalgesia in mice lacking the low-affinity neurotrophin receptor p75.** *Neurosci Lett* **1998**;255(2):87-90.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-9835221>
 93. Lewin GR, Ritter AM, Mendell LM. **Nerve growth factor-induced hyperalgesia in the neonatal and adult rat.** *J Neurosci* **1993**;13(5):2136-48.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-8478693>
 94. Shu X, Mendell LM. **Nerve growth factor acutely sensitizes the response of adult rat sensory neurons to capsaicin.** *Neurosci Lett* **1999**;274(3):159-62.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-10548414>
 95. Shu X, Mendell LM. **Acute sensitization by NGF of the response of small-diameter sensory neurons to capsaicin.** *J Neurophysiol* **2001**;86(6):2931-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11731549>

-
96. Akopian AN, Souslova V, England S, et al. **The tetrodotoxin-resistant sodium channel SNS has a specialized function in pain pathways.** *Nat Neurosci* **1999**;2(6):541-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-10448219>
 97. Matthews EA, Wood JN, Dickenson AH. **Na(v) 1.8-null mice show stimulus-dependent deficits in spinal neuronal activity.** *Mol Pain* **2006**;2:5.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-16478543>
 98. Abrahamsen B, Zhao J, Asante CO, et al. **The cell and molecular basis of mechanical, cold, and inflammatory pain.** *Science* **2008**;321(5889):702-5.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-18669863>
 99. Brock JA, McLachlan EM, Belmonte C. **Tetrodotoxin-resistant impulses in single nociceptor nerve terminals in guinea-pig cornea.** *J Physiol* **1998**;512(Pt1):211-7.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-9729630>
 100. Zimmermann K, Leffler A, Babes A., et al. **Sensory neuron sodium channel Nav1.8 is essential for pain at low temperatures.** *Nature* **2007**;447(7146):855-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17568746>
 101. Maingret F, Lauritzen I, Patel AJ, et al. **TREK-1 is a heat-activated background K(+) channel.** *EMBO J* **2000**;19(11):2483-91.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-10835347>
 102. Reid G, Flonta M. **Cold transduction by inhibition of a background potassium conductance in rat primary sensory neurones.** *Neurosci Lett* **2001**;297(3):171-4.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11137755>
 103. McNamara CR, Mandel-Brehm J, Bautista DM, et al. **TRPA1 mediates formalin-induced pain.** *Proc Natl Acad Sci U S A* **2007**;104(33):13525-30.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17686976>
 104. Amaya F, Decosterd I, Samad TA, et al. **Diversity of expression of the sensory neuron-specific TTX-resistant voltage-gated sodium ion channels SNS and SNS2.** *Mol Cell Neurosci* **2000**;15(4):331-42.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-10845770>
 105. Priest BT, Murphy BA, Lindia JA, et al. **Contribution of the tetrodotoxin-resistant voltage-gated sodium channel Na_v1.9 to sensory transmission and nociceptive behavior.** *Proc Natl Acad Sci U S A* **2005**;102(26):9382-7.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15964986>
 106. Amaya F, Wang H, Costigan M, et al. **The voltage-gated sodium channel Na(v)1.9 is an effector of peripheral inflammatory pain hypersensitivity.** *J Neurosci* **2006**;26(50):12852-60.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17167076>
 107. Baker MD, Chandra SY, Ding Y, et al. **GTP-induced tetrodotoxin-resistant Na⁺ current regulates excitability in mouse and rat small diameter sensory neurones.** *J Physiol* **2003**;548(Pt2):373-82.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12651922>

-
108. Ostman JA, Nassar MA, Wood JN, et al. **GTP up-regulated persistent Na⁺ current and enhanced nociceptor excitability require Nav1.9.** *J Physiol* **2008**;586(4):1077-87.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-18096591>
109. Cox JJ, Reimann F, Nicholas AK, et al. **An SCN9A channelopathy causes congenital inability to experience pain.** *Nature* **2006**;444(7121):894-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17167479>
110. Nassar MA; Stirling LC; Forlani G, et al. **Nociceptor-specific gene deletion reveals a major role for Nav1.7 (PN1) in acute and inflammatory pain.** *Proc Natl Acad Sci U S A* **2004**;101(34):12706-11.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15314237>
111. Yang Y, Wang Y, Li S, et al. **Mutations in SCN9A, encoding a sodium channel alpha subunit, in patients with primary erythralgia.** *J Med Genet* **2004**;41(3):171-4.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-14985375>
112. Cummins TR, Dib-Hajj SD, Waxman SG. **Electrophysiological properties of mutant Nav1.7 sodium channels in a painful inherited neuropathy.** *J Neurosci* **2004**;24(38):8232-6.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15385606>
113. Devor M. **Neuropathic pain: what do we do with all these theories?** *Acta Anaesthesiol Scand* **2001**;45(9):1121-7.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11683663>
114. Black JA, Cummins TR, Plumpton C, et al. **Upregulation of a silent sodium channel after peripheral, but not central, nerve injury in DRG neurons.** *J Neurophysiol* **1999**;82(5):2776-85.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-10561444>
115. Nassar MA, Baker MD, Levato A, et al. **Nerve injury induces robust allodynia and ectopic discharges in Nav1.3 null mutant mice.** *Mol Pain* **2006**;2:33.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17052333>
116. Yamamoto Y, Hatakeyama T, Taniguchi K. **Immunohistochemical colocalization of TREK-1, TREK-2 and TRAAK with TRP channels in the trigeminal ganglion cells.** *Neurosci Lett* **2009**;454(2):129-33.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-19429069>
117. Kang D, C Choe, et al. **Thermosensitivity of the two-pore domain K⁺ channels TREK-2 and TRAAK.** *J Physiol* **2005**;564(Pt1):103-16.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>
118. Honore E. **The neuronal background K2P channels: focus on TREK1.** *Nat Rev Neurosci* **2007**;8(4):251-61.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17375039>
119. Noel J, Zimmermann K, Busserolles J, et al. **The mechano-activated K⁺ channels TRAAK and TREK-1 control both warm and cold perception.** *EMBO J* **2009**;28(9):1308-18.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-19279663>
120. Loh HH, Liu HC, Cavalli A, et al. **Mu-opioid receptor knockout in mice: effects on ligand-induced analgesia and morphine lethality.** *Brain Res Mol Brain Res* **1998**;54(2):321-6.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-9555078>

-
121. Levine JD, Taiwo YO. **Involvement of the mu-opiate receptor in peripheral analgesia.** *Neuroscience* **1989**;32(3):571-5.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-2557556>
122. Wenk HN, Brederson JD, Honda CN. **Morphine directly inhibits nociceptors in inflamed skin.** *J Neurophysiol* **2006**;95(4):2083-97.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-16339007>
123. Singh IS, Chatterjee TK, Ghosh JJ. **Modification of morphine antinociceptive response by blood glucose status: possible involvement of cellular energetics.** *Eur J Pharmacol* **1983**;90(4):437-9.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-6350025>
124. Ocana M, Del Pozo E, Barrios M, et al. **An ATP-dependent potassium channel blocker antagonizes morphine analgesia.** *Eur J Pharmacol* **1990**;186(2-3):377-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-2127024>
125. Chi XX, Jiang X, Nicol GD. **ATP-sensitive potassium currents reduce the PGE₂-mediated enhancement of excitability in adult rat sensory neurons.** *Brain Res* **2007**;1145:28-40.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17320840>
126. Granados-Soto V, Rufino MO, Gomes Lopes LD, et al. **Evidence for the involvement of the nitric oxide-cGMP pathway in the antinociception of morphine in the formalin test.** *Eur J Pharmacol* **1997**;340(2-3):177-80.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-9537812>
127. Sachs D, Cunha FQ, Ferreira SH. **Peripheral analgesic blockade of hypernociception: activation of arginine/NO/cGMP/protein kinase G/ATP-sensitive K⁺ channel pathway.** *Proc Natl Acad Sci U S A* **2004**;101(10):3680-5.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-14990791>
128. Nicol GD, Vasko MR, Evans AR. **Prostaglandins suppress an outward potassium current in embryonic rat sensory neurons.** *J Neurophysiol* **1997**;77(1):167-76.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-9120557>
129. Besse D, Lombard MC, Zajac JM, et al. **Pre- and postsynaptic distribution of mu, delta and kappa opioid receptors in the superficial layers of the cervical dorsal horn of the rat spinal cord.** *Brain Res* **1990**;521(1-2):15-22.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-2169958>
130. Arvidsson U, Riedl M, Chakrabarti S, et al. **Distribution and targeting of a mu-opioid receptor (MOR1) in brain and spinal cord.** *J Neurosci* **1995**;15(5Pt1):3328-41.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-7751913>
131. Go VL, Yaksh TL. **Release of substance P from the cat spinal cord.** *J Physiol* **1987**;391:141-67.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-2451003>
132. Kohno T, Kumamoto E, Higashi H, et al. **Actions of opioids on excitatory and inhibitory transmission in substantia gelatinosa of adult rat spinal cord.** *J Physiol* **1999**;518(Pt3):803-13.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-10420016>

-
133. Bourinet E, Soong TW, Stea A, et al. **Determinants of the G protein-dependent opioid modulation of neuronal calcium channels.** Proc Natl Acad Sci U S A **1996**;93(4):1486-91.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-8643659>
134. Rusin KI, Moises HC. **mu-Opioid receptor activation reduces multiple components of high-threshold calcium current in rat sensory neurons.** J Neurosci **1995**;15(6):4315-27.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-7540671>
135. Dolphin AC. The G.L. Brown Prize Lecture. **Voltage-dependent calcium channels and their modulation by neurotransmitters and G proteins.** Exp Physiol **1995**;80(1):1-36.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-7734129>
136. Mayer ML, Westbrook GL. **A voltage-clamp analysis of inward (anomalous) rectification in mouse spinal sensory ganglion neurones.** J Physiol **1983**;340:19-45.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-6887047>
137. Jiang YQ, Sun Q, Tu HY, et al. **Characteristics of HCN channels and their participation in neuropathic pain.** Neurochem Res **2008**;33(10):1979-89.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-18461446>
138. Robinson RB, Siegelbaum SA. **Hyperpolarization-activated cation currents: from molecules to physiological function.** Annu Rev Physiol **2003**;65:453-80.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12471170>
139. Momin A, Cadiou H, Mason A, et al. **Role of the hyperpolarization-activated current I_h in somatosensory neurons.** J Physiol **2008**;586(Pt24):5911-29.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-18936078>
140. Costigan M, Befort K, Karchewski L, et al. **Replicate high-density rat genome oligonucleotide microarrays reveal hundreds of regulated genes in the dorsal root ganglion after peripheral nerve injury.** BMC Neurosci **2002**;3:16.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12401135>
141. Xiao HS, Huang QH, Zhang FX, et al. **Identification of gene expression profile of dorsal root ganglion in the rat peripheral axotomy model of neuropathic pain.** Proc Natl Acad Sci U S A **2002**;99(12):8360-5.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12060780>
142. Black JA, Cummins TR, Plumpton C, et al. **Upregulation of a silent sodium channel after peripheral, but not central, nerve injury in DRG neurons.** J Neurophysiol **1999**;82(5):2776-85.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-10561444>
143. Nassar MA, Baker MD, Levato A, et al. **Nerve injury induces robust allodynia and ectopic discharges in Nav1.3 null mutant mice.** Mol Pain **2006**;2: 33.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17052333>
144. Abdulla FA, Smith PA. **Axotomy- and autotomy-induced changes in Ca²⁺ and K⁺ channel currents of rat dorsal root ganglion neurons.** J Neurophysiol **2001**;85(2):644-58.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11160500>

-
145. Shim B, Kim DW, Kim BH, et al. **Mechanical and heat sensitization of cutaneous nociceptors in rats with experimental peripheral neuropathy.** *Neuroscience* **2005**;132(1):193-201.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15780478>
 146. Gee NS, Brown JP, Dissanayake VU, et al. **The novel anticonvulsant drug, gabapentin (Neurontin), binds to the alpha2delta subunit of a calcium channel.** *J Biol Chem* **1996**;271(10):5768-76.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-8621444>
 147. Luo ZD, Chaplan SR, Higuera ES, et al. **Upregulation of dorsal root ganglion (alpha)2(delta) calcium channel subunit and its correlation with allodynia in spinal nerve-injured rats.** *J Neurosci* **2001**;21(6):1868-75.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11245671>
 148. Field MJ, Cox PJ, Stott E, et al. **Identification of the alpha2-delta-1 subunit of voltage-dependent calcium channels as a molecular target for pain mediating the analgesic actions of pregabalin.** *Proc Natl Acad Sci U S A* **2006**;103(46):17537-42.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17088553>
 149. Luo ZD, Calcutt NA, Higuera ES. **Injury type-specific calcium channel alpha 2 delta-1 subunit up-regulation in rat neuropathic pain models correlates with antiallodynic effects of gabapentin.** *J Pharmacol Exp Ther* **2002**;303(3):1199-205.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12438544>
 150. Gardell LR; Wang R; Ehrenfels C, et al. **Multiple actions of systemic artemin in experimental neuropathy.** *Nat Med* **2003**;9(11):1383-9.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-14528299>
 151. Bennett DL, Boucher TJ, Michael GJ, et al. **Artemin has potent neurotrophic actions on injured C-fibres.** *J Peripher Nerv Syst* **2006**;11(4):330-45.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17117942>
 152. Agarwal N, Pacher P, Tegeder I, et al. **Cannabinoids mediate analgesia largely via peripheral type 1 cannabinoid receptors in nociceptors.** *Nat Neurosci* **2007**;10(7):870-9.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17558404>
 153. Bennett GJ, Xie YK. **A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man.** *Pain* **1988**;33(1):87-107.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-2837713>
 154. Shir Y, Seltzer Z. **A-fibers mediate mechanical hyperesthesia and allodynia and C-fibers mediate thermal hyperalgesia in a new model of causalgiform pain disorders in rats.** *Neurosci Lett* **1990**;115(1):62-7.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-2216058>
 155. Kajander KC, Bennett GJ. **Onset of a painful peripheral neuropathy in rat: a partial and differential deafferentation and spontaneous discharge in A beta and A delta primary afferent neurons.** *J Neurophysiol* **1992**;68(3):734-44.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-1331353>

-
156. Tal M, Eliav E. **Abnormal discharge originates at the site of nerve injury in experimental constriction neuropathy (CCI) in the rat.** *Pain* **1996**;64(3):511-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-8783316>
157. Chaplan SR, Guo HQ, Lee DH, et al. **Neuronal hyperpolarization-activated pacemaker channels drive neuropathic pain.** *J Neurosci* **2003**;23(4):1169-78.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12598605>
158. Jiang YQ, Xing GG, Wang SL, et al. **Axonal accumulation of hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated cation channels contributes to mechanical allodynia after peripheral nerve injury in rat.** *Pain* **2008**;137(3):495-506.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-18179873>
159. Momin A, Cadiou H, Mason A, et al. **Role of the hyperpolarization-activated current I_h in somatosensory neurons.** *J Physiol* **2008**;586(Pt 24):5911-29.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-18936078>
160. Klede M, Handwerker HO, Schmelz M. **Central origin of secondary mechanical hyperalgesia.** *J Neurophysiol* **2003**;90(1):353-9.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12843313>
161. Sheth RN, Dorsi MJ, Li Y, et al. **Mechanical hyperalgesia after an L5 ventral rhizotomy or an L5 ganglionectomy in the rat.** *Pain* **2002**;96(1-2):63-72.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11932062>
162. Choi Y, Yoon YW, Na HS, Kim SH, et al. **Behavioral signs of ongoing pain and cold allodynia in a rat model of neuropathic pain.** *Pain* **1994**;59(3): 369-76.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-7708411>
163. Djouhri L, Koutsikou S, Fang X, et al. **Spontaneous pain, both neuropathic and inflammatory, is related to frequency of spontaneous firing in intact C-fiber nociceptors.** *J Neurosci* **2006**;26(4):1281-92.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-16436616>
164. Lawson SN. **Phenotype and function of somatic primary afferent nociceptive neurones with C-, A δ - or A α /beta-fibres.** *Exp Physiol* **2002**;87(2):239-44.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-11856969>
165. Djouhri L, Lawson SN. **A β -fiber nociceptive primary afferent neurons: a review of incidence and properties in relation to other afferent A-fiber neurons in mammals.** *Brain Res Brain Res Rev* **2004**;46(2):131-45.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15464202>
166. Luvisetto S, Marinelli S, Cobianchi S, et al. **Anti-allodynic efficacy of botulinum neurotoxin A in a model of neuropathic pain.** *Neuroscience* **2007**;145(1):1-4.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-17218063>
167. Ranoux D, Attal N, Morain F, et al. **Botulinum toxin type A induces direct analgesic effects in chronic neuropathic pain.** *Ann Neurol* **2008**;64(3):274-83.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-18546285>

-
168. Yuan RY, Sheu JJ, Yu JM, et al. **Botulinum toxin for diabetic neuropathic pain: a randomized double-blind crossover trial.** *Neurology* **2009**;72(17):1473-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-19246421>
169. Wallace VC, Cottrell DF, Brophy PJ, et al. **Focal lysolecithin-induced demyelination of peripheral afferents results in neuropathic pain behavior that is attenuated by cannabinoids.** *J Neurosci* **2003**;23(8):3221-33.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-12716929>
170. Inoue M, Rashid MH, Fujita R, et al. **Initiation of neuropathic pain requires lysophosphatidic acid receptor signaling.** *Nat Med* **2004**;10(7):712-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15195086>
171. Inoue M, Xie W, Matsushita Y, et al. **Lysophosphatidylcholine induces neuropathic pain through an action of autotaxin to generate lysophosphatidic acid.** *Neuroscience* **2008**;152(2):296-8.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-18280050>
172. Ahn DK, Lee SY, Han SR, et al. **Intratrigeminal ganglionic injection of LPA causes neuropathic pain-like behavior and demyelination in rats.** *Pain* **2009**;146(1-2):114-20.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-19665300>
173. Ye X, Inoue M, Ueda H. **Botulinum toxin C3 inhibits hyperalgesia in mice with partial sciatic nerve injury.** *Jpn J Pharmacol* **2000**;83(2):161-3.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-10928331>
174. Cheng C, Webber CA, Wang J, et al. **Activated RHOA and peripheral axon regeneration.** *Exp Neurol* **2008**;212(2):358-69.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-18554585>
175. Ishida H, Zhang X, Erickson K, et al. **Botulinum toxin type A targets RhoB to inhibit lysophosphatidic acid-stimulated actin reorganization and acetylcholine release in nerve growth factor-treated PC12 cells.** *J Pharmacol Exp Ther* **2004**;310(3):881-9.
<http://pesquisa.bvsalud.org/regional/resources/mdl-15140914>