



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

Juliete Palandi

**MEDIADORES DA DOR E INFLAMAÇÃO NAS FASES AGUDA E CRÔNICA EM
MODELOS ANIMAIS DA SÍNDROME DA DOR REGIONAL COMPLEXA –
REVISÃO DE ESCOPO E ESTUDO EXPERIMENTAL**

Florianópolis

2022

Juliete Palandi

**MEDIADORES DA DOR E INFLAMAÇÃO NAS FASES AGUDA E CRÔNICA EM
MODELOS ANIMAIS DA SÍNDROME DA DOR REGIONAL COMPLEXA –
REVISÃO DE ESCOPO E ESTUDO EXPERIMENTAL**

Tese submetida ao Programa de Pós-
Graduação em Neurociências da Universidade
Federal de Santa Catarina para a obtenção do
título de Doutora em Neurociências.
Orientador: Prof. Marcelo Farina, Dr.
Coorientadora: Prof. Franciane Bobinski, Dra.

Florianópolis

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Palandi, Juliete

Mediadores da dor e inflamação nas fases aguda e crônica em modelos animais da síndrome da dor regional complexa - revisão de escopo e estudo experimental / Juliete Palandi ; orientador, Marcelo Farina, coorientadora, Franciane Bobinski, 2022.

195 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós Graduação em Neurociências, Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Neurociências. 2. Dor crônica. 3. Inflamação. 4. Síndrome da dor regional complexa. 5. Modelos animais. I. Farina, Marcelo. II. Bobinski, Franciane. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós Graduação em Neurociências. IV. Título.

Juliete Palandi

Mediadores da dor e inflamação nas fases aguda e crônica em modelos animais da síndrome da dor regional complexa – revisão de escopo e estudo experimental

O presente trabalho em nível de doutorado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Leidiane Mazzardo Martins, Dra.
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Jaqueline de Souza, Dra.
Universidade do Estado de Santa Catarina

Prof. Gabriela Trevisan, Dra.
Universidade Federal de Santa Maria

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de doutora em Neurociências.

Prof. Aderbal Silva Aguiar Júnior
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Neurociências

Prof. Marcelo Farina, Dr.
Orientador

Florianópolis, 2022.

*Dedico este trabalho aos meus pais,
Juarez e Valgarete.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, ao universo e a toda forma de energia que permitiu com que eu vivenciasse cada uma das oportunidades desta vida. Agradeço a mesma vida cedida por cada um dos animais que foram instrumento dessa e de tantas outras pesquisas em prol da ciência. Agradeço a minha vida concebida pelos meus pais, Juarez e Valgarete, enriquecida generosamente com uma família que me ofertou segurança e amor, educou meu coração para trilhar meus próprios passos, com generosidade e empatia.

Meus passos me levaram a lugares fantásticos, ao encontro de pessoas incríveis e a memórias inesquecíveis. Por isso, agradeço:

Meu namorado Wagner e meus queridos amigos, que foram tão presentes ao longo dessa jornada. Ter com quem contar, receber carinho e compreensão nos dias alegres ou nos dias sombrios é algo inexplicável.

Ao Coach Zé Murillo, Fernanda e toda família Tukaha, por serem minha segunda casa e família. Fazer parte da Tukaha é muito mais do que praticar um esporte ou ter espaço para exercer minha profissão. É aprender a erguer-se forte frente a qualquer desafio.

Meus pacientes, carinhosamente chamados de senhores e senhoras. O caminho para longe da dor não é destino, é jornada, trilhada com movimento. Obrigada por me permitirem mostrar o quão o exercício físico é mágico para nossas vidas.

Aos meus professores dessa longa e bela jornada de aprendizado: do ensino fundamental, na Escola Padre João Schiavo; do ensino médio, no Colégio Murialdo; da graduação, na Universidade de Caxias do Sul (UCS); do mestrado, na Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC). Já dizia Sêneca que “a educação exige os maiores cuidados, porque influi sobre toda a vida”. Vocês fazem parte disso, obrigada!

Agradeço aos meus orientadores, Professor Marcelo e Professora Franciane, por acreditarem no meu potencial pessoal e profissional, e me permitirem criar não só hipóteses mas minha identidade no meio acadêmico. Obrigada pela confiança e por todos os momentos de aprendizado.

Aos colegas de laboratório, Laboratório de Experimentação em Neuropatologias (LEN) e Laboratório de Neurociência Experimental (LANEX), pelos momentos de

convivência e suporte. Em especial, às minhas alunas de iniciação científica, Fernanda e Elisa, e os colaboradores da revisão, Josiel e Isabela. Obrigada pelo comprometimento e paciência. A confiança e dedicação de vocês foi fundamental para os frutos que foram e serão colhidos neste trabalho.

Ao professor Daniel, por abrir as portas do LANEX na Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL) e permitir que esse trabalho fosse realizado com a melhor infraestrutura possível.

Thank you to Dr. Brian Christie, the Christie Lab team and the University of Victoria (UVIC). In specially, my friend Essie and my host mom, Louisa. It was the best time of my life, even with everything unexpected and improbable that happened, all of you made me feel safe and supported.

Agradeço a Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e o Programa de Pós-Graduação em Neurociências por oportunizarem a realização deste trabalho, ao suporte financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC; Edital 2018/1), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES; Edital 03/PPGBQA/2019), o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq; Edital MCTI/CNPq/Universal 2018 – Proc. 421556/2018-8) e o suporte técnico do Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia (LAMEB/UFSC).

Agradeço a disponibilidade de cada um dos membros avaliadores desta tese.

*“If you know the why,
you can live any how”.*
Friedrich Nietzsche

RESUMO

A Síndrome de Dor Regional Complexa (SDRC) é uma condição clínica caracterizada por alterações sensoriais, autonômicas, motoras e tróficas, que ocorre comumente após trauma ou cirurgia. As principais alterações fisiológicas no SDRC-I são a resposta inflamatória aberrante, disfunção vasomotora e má adaptação da plasticidade neuronal. Por ser uma condição de dor crônica nociplástica, os aspectos cognitivos e emocionais relacionados vem sendo explorados. O objetivo geral do presente trabalho foi fornecer evidência a partir de uma revisão de escopo sobre modelos animais da SDRC e um estudo experimental pré-clínico sobre os mediadores da dor e inflamação em estruturas periféricas e centrais associadas ao desenvolvimento da SDRC-I. Para isso, realizou-se uma revisão de escopo sobre os modelos animais da SDRC. As etapas de triagem, elegibilidade e extração foram realizadas por dois pesquisadores e as discrepâncias resolvidas por um terceiro. A revisão de escopo incluiu 91 estudos. O principal objetivo dos estudos incluídos foi o entendimento do modelo, seguido de testes farmacológicos. Ratos, machos e adultos, expostos a indução não traumática por isquemia/reperusão da pata ou traumática por fratura de tíbia foram as características mais comuns. A avaliação nociceptiva dos monofilamentos de von Frey foi a mais utilizada nos estudos. Análises de amostras biológicas também foram presentes em grande parte dos estudos, com destaque para análises bioquímicas. Os modelos animais devem se concentrar em abranger a heterogeneidade apresentada pelos indivíduos com SDRC, bem como aprimorar a qualidade metodológica. No estudo experimental, foram utilizados camundongos *Swiss*, machos, adultos, submetidos à isquemia/reperusão da pata traseira direita. Posteriormente, durante um período de duas semanas, foram avaliadas quanto aos sinais clássicos da SDRC-I e comportamentos relacionados a dor. Os animais foram sacrificados em 2, 7 ou 14 dias após a indução da SDRC-I e amostras de soro, pele e músculo da pata, medula espinal lombar, tronco encefálico e córtex pré-frontal foram coletadas para análises bioquímicas. O presente estudo mostrou que os sinais clássicos de edema, hiperemia e respostas nociceptivas reflexas e a ausência de comportamentos cognitivos e emocionais relacionados a dor, relacionam-se não só ao aumento do TNF na pele em fase aguda, como também ao aumento dos receptores μ -opioides no córtex pré-frontal em fase crônica.

Palavras-chave: Síndrome da Dor Regional Complexa Tipo I; dor crônica; inflamação; modelos animais.

ABSTRACT

Complex Regional Pain Syndrome (CRPS) is a clinical condition characterized by sensory, autonomic, motor and trophic changes, which commonly occurs after trauma or surgery. The main physiological changes in CRPS-I are the aberrant inflammatory response, vasomotor dysfunction and maladaptive neuronal plasticity. As a chronic nociplastic pain condition, it's related to cognitive and emotional aspects. The main goal of the present work was to provide evidence from a scoping review about animal models of CRPS and a preclinical experimental study about mediators of pain and inflammation in peripheral and central structures associated with behaviors and the development of CRPS-I. For this, a scoping review was carried out about animal models of the CRPS. The screening, eligibility, and extraction phases were performed by two researchers and discrepancies resolved by a third. The scoping review included 91 studies. The main objective of the included studies was to understand the model, followed by pharmacological goals. Rats, males and adults, exposed to non-traumatic induction by ischemia and reperfusion of the paw or traumatic by tibial fracture were the most common features. The mechanical nociceptive assessment of von Frey monofilaments was the most used in the studies. Analyzes of biological samples were also present in most of the studies, with emphasis on biochemical analyses. Animal models should focus on covering the heterogeneity presented by individuals with CRPS, as well as improving methodological quality. In the experimental study, adult male Swiss mice were submitted to ischemia/reperfusion of the right hind paw. Subsequently, over a two-week period, they were evaluated for classic signs of CRPS-I and pain-related behaviors. The animals were sacrificed at 2, 7 or 14 days after the induction of CRPS-I and samples of serum, skin and muscle from the paw, lumbar spinal cord, brainstem and prefrontal cortex were collected for biochemical analysis. The present study showed that the classic signs of edema, hyperemia and reflex nociceptive responses and the absence of cognitive and emotional behaviors related to pain are related not only to the increase in TNF in the skin in the acute phase, but also to the increase in receptors μ -opioids in the prefrontal cortex in the chronic phase.

Keywords: Complex Regional Pain Syndrome Type I; chronic pain; inflammation; animal models.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mudanças identificadas nas diferentes regiões do encéfalo de indivíduos com dor crônica.	27
Figura 2 – Esquema de hipótese patofisiológica para a SDRC.	38
Figura 3 – Fluxograma de busca.	58
Figura 4 – Publicações por ano e por periódico.	60
Figura 5 – Objetivos, número de animais por grupo e modelos de indução da SDRC utilizados nos estudos incluídos na revisão.	68
Figura 6 – Espécies, linhagens, sexo, idade e peso dos animais utilizados para estudo da SDRC.	70
Figura 7 – Avaliações categorizadas da SDRC.	82
Figura 8 – Avaliações utilizadas para verificar sinais clássicos da SDRC.	84
Figura 9 – Avaliações utilizadas para verificar sinais clássicos da SDRC.	85
Figura 10 – Sumário do risco de viés por item avaliado.	86
Figura 11 – Risco de viés por estudo.	87
Figura 12 – Delineamento experimental para análises de comportamentos e bioquímicas no modelo animal de SDRC-I.	104
Figura 13- SDRC-I induz alterações de edema, temperatura e nocicepção mecânica e térmica ao frio.	112
Figura 14 – Modelo experimental da SDRC-I não altera a locomoção espontânea de camundongos.	113
Figura 15– Comportamentos supraespinais relacionados a dor não são alterados no modelo experimental da SDRC-I.	115
Figura 16 – Modelo experimental da SDRC-I não altera as expressões faciais de dor em camundongos.	116
Figura 17 – Indução da SDRC-I promove aumento dos níveis de TNF na pele da pata.	117
Figura 18 – As concentrações de TNF na medula espinal lombar, tronco encefálico e córtex pré-frontal não são afetadas pela indução da SDRC-I.	118
Figura 19 – As concentrações de BDNF na medula espinal lombar, tronco encefálico e córtex pré-frontal não são alteradas pela indução da SDRC-I.	119
Figura 20 – A indução da SDRC-I não altera as concentrações de IL-4, MCP-1 e IL-6 na medula espinal.	120
Figura 21 – A indução do modelo da SDRC-I aumenta o imunoconteúdo do receptor μ -opioide no córtex pré-frontal.	121

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Mediadores inflamatórios analisados em modelos animais da SDRC.....	45
Tabela 2 – Objetivo e características dos animais utilizados em modelos da SDRC. ...	62
Tabela 3 – Avaliações utilizadas para verificar os sinais clássicos da SDRC.....	72
Tabela 4 – Proporção de itens completos (%) do guia ARRIVE por ano de publicação dos estudos.....	92

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

4-HNE	4-hidroxinonenal
8 OhdG	8-hidroxi-guanosina
AKT	Proteína quinase B
AMPA	Receptor alfa-amino-3-hidroxi-5-4-isoxazolpropionico
ANOVA	Análise de variância
ANXA2	Anexina A2
ARRIVE	Pesquisa com animais: reporte de estudos <i>in vivo</i>
BDNF	Fator neurotrófico derivado do encéfalo
BSA	Albumina de soro bovino
C5B-9	Complexo de complemento 5B-9
CALCA	Polipeptídeo alfa relacionado com calcitonina
CALCB	Polipeptídeo beta relacionado com calcitonina
CALCRL	Receptor tipo receptor de calcitonina
CAMK2	Proteína quinase II dependente de calmodulina
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CAT	Catalase
CCA	Córtex cingulado anterior
CCL-2	Proteína-1 quimioatraente de monócitos
CCMOTIF	Quimiocina
CD163	Agrupamento de diferenciação 163
CD3	Agrupamento de diferenciação 3
CD4	Agrupamento de diferenciação 4
CD43	Agrupamento de diferenciação 43
CD68	Agrupamento de diferenciação 68
CD8	Agrupamento de diferenciação 8
CGRP	Peptídeo relacionado com o gene da calcitonina
CGRPr	Receptor peptídico relacionado ao gene da calcitonina
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CPF	Córtex pré-frontal
CSF1r	Receptor do fator 1 estimulador de colônias
CytC	Citocromo C;
DRG	Gânglios da raiz dorsal
EDTA	Etilenodiamina tetracético
EEF1A1	Fator de alongamento de tradução eucariótica 1 alfa 1
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática
ENO3	Enolase 3;
ERK	Quinases reguladas por sinal extracelular
ERK1	Quinase 1 regulada por sinal extracelular
ERK2	Quinase 2 regulada por sinal extracelular
Est	Resultados e estimativas
FAPESC	Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina
Fin	Financiamento
GABA	Ácido gama-aminobutírico inibitório típico
Gen	Generalização ou translação

GFAP	Proteína ácida fibrilar glial
GM-CSF	Fator estimulador de colônia de granulócitos-macrófagos
GRIN2B	Subunidade 2B do receptor ionotrópico de glutamato tipo NMDA
GRK2	Receptor quinase 2 acoplado à proteína G
GSH	Glutaciona
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HIF-1 α	Fator 1-alfa induzível por hipóxia
IASP	Associação Internacional para Estudo da Dor
IBA1	Molécula adaptadora de ligação ao cálcio ionizada 1
IgG	Imunoglobulina G
IL-1	Interleucina-1
IL-10	Interleucina-10
IL-1 β	Interleucina-1beta
IL-2	Interleucina-2
IL-4	Interleucina-4
IL-6	Interleucina-6
IP	Intraperitoneal
KRT16	Queratina 16
LAMEB	Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia
LANEX	Laboratório de Neurociência Experimental
LEN	Laboratório de Experimentação em Neuropatologias
MAPK	Quinase de proteína ativada por mitógeno
MBP	Proteína básica de mielina
MCP-1	Proteína quimioatrativa de monócitos-1
MDA	Malondialdeído
MMP3	Metaloproteinase-3 de matriz
MPO	Mieloperoxidase
NADH	Dinucleotídeo de nicotinamida adenina
NADPH	Fosfato de dinucleótido de nicotinamida adenosina
NAGase	N-acetil-beta-D-glucosaminidase
NEP	Endopeptidase neutra
NF200	Neurofilamento 200
NF κ B	Fator nuclear kappa B
NGF	Fator de crescimento do nervo
NK-1	Neuroquinina-1
NMDA	Receptor N-metil-D-aspartato
NR1	Receptor de N-metil D-aspartato tipo 1
NR2B	Receptor de N-metil D-aspartato subtipo 2B
p-ERK1	Quinase 1 regulada por sinal extracelular fosforilada
p-ERK2	Quinase 2 regulada por sinal extracelular fosforilada
p-GLUN1	Subunidade zeta-1 do receptor de glutamato fosforilada
p-JNK	Quinase N-terminal c-Jun fosforilada
p-NR1	Subunidade 1 do receptor N-metil D-aspartato fosforilada
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PMSF	Fluoreto de fenilmetilsulfonil
PRISMA-ScR	Itens preferíveis para relato de revisões sistemáticas e meta-análises para revisões de escopo

RAMP1	Proteína modificadora da atividade do receptor 1
Res	Resultados experimentais
rETA	Receptor de endotelina tipo A
rETB	Receptor de endotelina tipo B
S1	Córtex somatossensorial primário
S2	Córtex somatossensorial secundário
SDRC	Síndrome da Dor Regional Complexa
SDRC-I	Síndrome da Dor Regional Complexa Tipo I
SDRC-II	Síndrome da Dor Regional Complexa Tipo II
SMA	Actina do músculo liso
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Sistema Nervoso Periférico
SOD	Superóxido dismutase
SYP	Sinaptofisina;
SYRCLE	Centro de revisões sistemáticas para experimentação de animais de
laboratório	
SYRF	Instalação para revisões sistemáticas
TAC1	Precursor de taquicinina 1
TAC1R	Receptor de taquicinina 1
TC	Tomografia computadorizada
TNF	Fator de necrose tumoral
TRPA1	Receptor de potencial transitório ankirina 1
TRPV1	Receptor de potencial transitório vaniloide 1
TUJ	Beta-tubulina de classe III específica de neurônio
UCS	Universidade de Caxias do Sul
UDESC	Universidade do Estado de Santa Catarina
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
UNISUL	Universidade do Sul de Santa Catarina
WB	Western Blotting
α 1-AR	Receptor adrenérgico alfa-1
β 2-AR	Receptor adrenérgico beta-2

PRODUÇÃO CIENTÍFICA DURANTE O PERÍODO DE DOUTORAMENTO

Artigos científicos publicados em periódicos

1. OMURA, C. M.; LÜDTKE, D. D.; HOREWICZ, V. V.; FERNANDES, P. F.; GALASSI, T. O.; SALGADO, A. S. I.; **PALANDI, J.**; BALDANÇA, H. S.; BITTENCOURT, E. B.; MACK, J. M.; SEIM, L. A.; MARTINS, D. F.; BOBINSKI, F. Decrease of IL-1 β and TNF in the Spinal Cord Mediates Analgesia Produced by Ankle Joint Mobilization in Complete Freund Adjuvant-Induced Inflammation Mice Model. *Frontiers in Physiology*, v. 12, p. 1, 2022.
2. YAMADA, E. F.; DOS SANTOS STEIN, C.; MORESCO, R. N.; BOBINSKI, F.; **PALANDI, J.**; FERNANDES, P. F.; FOLMER, V.; DA SILVA, M. D. Photobiomodulation and Sida tuberculata combination declines the inflammation's markers in knee-induced osteoarthritis. *Lasers In Medical Science*, v. 000, p. 1, 2021.
3. DE CAMARGO, R. W.; DA SILVA, M. G.; DAROS, G. C.; DE MEDEIROS, F. D.; DA ROSA, N.; MENSCHHEIN MEDEIROS, C. L.; DE MEDEIROS PERETTI, E.; **PALANDI, J.**; BOBINSKI, F.; FORTUNATO, J. J.; DE BITENCOURT, R. M. Effects of Chronic Administration of P-Cymene in an Animal Model of LPS-Induced Autism. *Planta Medica International Open*, v. 8, p. e104-e113, 2021.
4. DE SOUZA, F.; DA SILVA, L. A.; FERREIRA, G. S.; DE SOUZA, M. M. M.; BOBINSKI, F.; **PALANDI, J.**; MARCON, C. E. M.; MARTINS, D. F.; SCHUELTER-TREVISOL, F.; TREVISOL, D. J. Karate Training Improves Metabolic Health in Overweight and Obese Adolescents: A Randomized Clinical Trial. *Pediatric Exercise Science*, v. 1, p. 1-11, 2021.
5. **PALANDI, J.**; BOBINSKI, F.; DE OLIVEIRA, G. M.; ILHA, J. Neuropathic pain after spinal cord injury and physical exercise in animal models: A systematic review and meta-analysis. *Neuroscience And Biobehavioral Reviews*, v. 108, p. 781-795, 2020.
6. PEREIRA DE SOUZA GOLDI, M.; DELLA GIUSTINA, A.; MATHIAS, K.; DE OLIVEIRA JUNIOR, A.; FILETI, M. E.; DE CARLI, R.; ZARBATO, G.; GARBOSSA, L.; DA ROSA, N.;

OLIVEIRA, J.; VIEIRA, A.; GENEROSO, J.; OLIVEIRA, B. H.; FERREIRA, N.; **PALANDI, J.**; BOBINSKI, F.; MARTINS, D. F. ; FORTUNATO, J.; BARICHELLO, T.; QUEVEDO, J.; DAL-PIZZOL, F.; PETRONILHO, F. Sickness Behavior Score Is Associated with Neuroinflammation and Late Behavioral Changes in Polymicrobial Sepsis Animal Model. *Inflammation*, v. 43, p. 1019-1034, 2020.

7. MARTINS, G. H. C.; **PALANDI, J.**; DE CAMPOS, V. H. K; BONORINO, K. C.; HIZUME KUNZLER, D. C. Effects of physical exercise on lung inflammation in animal models of chronic allergic lung inflammation: a systematic review. *Experimental Animals*, v. 1, p. 1, 2020.

8. GIUSTINA, A. D.; DE SOUZA GOLDIM, M. P.; DANIELSKI, L. G.; GARBOSSA, L.; JUNIOR, A. N. O.; CIDREIRA, T.; DENICOL, T.; BONFANTE, S.; DA ROSA, N.; FORTUNATO, J. J.; **PALANDI, J.**; DE OLIVEIRA, B. H.; MARTINS, D. F.; BOBINSKI, F.; GARCEZ, M.; BELLETTINI-SANTOS, T.; BUDNI, J.; COLPO, G.; SCAINI, G.; GIRIDHARAN, V.V. ; BARICHELLO, T.; PETRONILHO, F. Lipoic Acid and Fish Oil Combination Potentiates Neuroinflammation and Oxidative Stress Regulation and Prevents Cognitive Decline of Rats After Sepsis. *Molecular Neurobiology*, v. 57, p. 4451-4466, 2020.

9. YAMADA, E. F.; BOBINSKI, F.; MARTINS, D. F.; **PALANDI, J.**; FOLMER, V.; DA SILVA, M. D. Photobiomodulation therapy in knee osteoarthritis reduces oxidative stress and inflammatory cytokines in rats. *Journal of Biophotonics*, v. 1, p. 1-14, 2019.

10. BONETTI, L. V.; GRISA, N. C.; **PALANDI, J.**; FINGER, A. L. T.; DE MARCHI, T.; TADIELLO, G. S. Isokinetic performance of ankle evertor and invertor muscles in adolescent female volleyball athletes. *Motriz*, v. 24, p. 1, 2018.

11. DELLA GIUSTINA, A.; GOLDIM, M. P.; DANIELSKI, L. G.; FLORENTINO, D.; GARBOSSA, L.; JOAQUIM, L.; OLIVEIRA JUNIOR, A. N.; MATHIAS, K.; FILETI, M. E.; ZARBATO, G. F.; DA ROSA, N.; LAURENTINO, A. O. M.; FORTUNATO, J. J. ; **PALANDI,**

J.; DE OLIVEIRA, B. H.; MARTINS, D. F.; BONBINSKI, F.; BELLETTINI-SANTOS, T.; GARCEZ, M.; BUDNI, J.; BARICHELLO, T.; PETRONILHO, F. Fish oil-rich lipid emulsion modulates neuroinflammation and prevents long-term cognitive dysfunction after sepsis. *Nutrition*, v. 000, p. 1-9, 2018.

Apresentação de trabalhos

1. OMURA, C. M.; LUDTKE, D. D.; HOREWICZ, V. V.; FERNANDES, P. F.; GALASSI, T. O.; SILVEIRA, F. F.; **PALANDI, J.**; ROSA, A. B.; BELLE, F.; MARTINS, D. F.; BOBINSKI, F. EFEITO DA MOBILIZAÇÃO ARTICULAR SOBRE OS PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS INDUZIDOS PELO ADJUVANTE COMPLETO DE FREUND INTRAPLANTAR. 2020. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).

2. **PALANDI, J.**; MACK, J. M.; ARAUJO, I. L.; BOBINSKI, F.; FARINA, M. ANIMAL MODELS OF COMPLEX REGIONAL PAIN SYNDROME: A SYSTEMATIC REVIEW. 2020. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).

3. **PALANDI, J.**; SILVEIRA, F. F.; BOBINSKI, F.; FARINA, M. Physical exercise prior to complex regional pain syndrome type I in animal model. 2019. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

4. **PALANDI, J.**; SILVEIRA, F. F.; MARTINS, D. F. ; FARINA, M. ; BOBINSKI, F. Exercício físico prévio a síndrome da dor regional complexa tipo I em modelo animal. 2019. (Apresentação de Trabalho/Outra).

5. **PALANDI, J.**; BOBINSKI, F; DE OLIVEIRA, G. M.; ILHA, J. DOR NEUROPÁTICA APÓS LESÃO MEDULAR ESPINAL E EXERCÍCIO FÍSICO EM MODELOS ANIMAIS. 2018. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

6. **PALANDI, J.**; BOBINSKI, F.; DE OLIVEIRA, G. M.; HOREWICZ, V. V.; ILHA, J. EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO PRÉVIO A LESÃO MEDULAR ESPINAL EM MODELO ANIMAL. 2018. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	24
1.1	DOR CRÔNICA	24
1.1.1	Alterações no SNC	25
1.1.2	Alterações no sistema opioide endógeno	29
1.2	SÍNDROME DA DOR REGIONAL COMPLEXA	31
1.2.1	Fisiopatologia	35
1.2.1.1	Fatores relacionados ao trauma inicial	35
1.2.1.2	Alterações simpático-reflexas	39
1.2.1.3	Sensibilização central e periférica	40
1.2.1.4	Fatores inflamatórios e imunes	41
1.2.1.5	Fatores psicológicos e sociais	48
1.3	MODELOS ANIMAIS NO ESTUDO DA DOR	48
2	JUSTIFICATIVA	51
3	OBJETIVO GERAL	53
4	CAPÍTULO I	54
4.1	OBJETIVO ESPECÍFICO	55
4.2	MÉTODOS	55
4.2.1	Protocolo e registro	55
4.2.2	Critérios de elegibilidade	55
4.2.3	Fontes de informação e busca	56
4.2.4	Seleção das fontes de evidência	56
4.2.5	Processo de coleta e organização de dados	56
4.2.6	Avaliação crítica da evidência	57
4.2.7	Síntese de resultados	57
4.3	RESULTADOS	58
4.4	DISCUSSÃO	93
4.5	CONCLUSÃO	99
5	CAPÍTULO II	100
5.1	OBJETIVO ESPECÍFICO	101
5.2	MÉTODOS	102
5.2.1	Aspectos éticos	102
5.2.2	Animais	102

5.2.3	Delineamento experimental e cálculo amostral	102
5.2.4	Indução do modelo experimental de SDRC-I por isquemia/reperfusão..	104
5.2.5	Análises comportamentais de sinais da SDRC-I	105
5.2.5.1	Edema	105
5.2.5.2	Hiperemia	105
5.2.5.3	Nocicepção	106
5.2.5.3.1	<i>Nocicepção mecânica</i>	106
5.2.5.3.2	<i>Nocicepção ao frio</i>	106
5.2.5.3.3	<i>Locomoção espontânea</i>	106
5.2.5.3.4	<i>Teste de esquiva ao estímulo mecânico</i>	107
5.2.5.3.5	<i>Teste de fuga/esquiva</i>	108
5.2.5.3.6	<i>Escala de expressões faciais de dor</i>	108
5.2.6	Análises bioquímicas.....	109
5.2.6.1	ELISA	109
5.2.6.2	Western Blotting	110
5.2.7	Análise estatística	110
5.3	RESULTADOS	111
5.4	DISCUSSÃO	122
5.5	CONCLUSÃO	129
6	CONCLUSÃO	130
	REFERÊNCIAS	131
	Apêndice A – Protocolo de registro da revisão na plataforma PROSPERO	151
	Apêndice B – Protocolo de registro na plataforma SYRF	162
	Apêndice C – Estratégia de busca detalhada	167
	Apêndice D – Lista de estudos na etapa de elegibilidade	168
	Apêndice E – Estatísticas descritivas e inferenciais	188
	Anexo A – Certificado Comissão de Ética no Uso de Animais UFSC	193
	Anexo B – Certificado Comissão de Ética no Uso de Animais UNISUL	195

1 INTRODUÇÃO

1.1 DOR CRÔNICA

A dor, atualmente, é definida como uma experiência sensorial e emocional desagradável, associada, ou semelhante àquela associada, a uma lesão tecidual real ou potencial (RAJA; CARR; COHEN; FINNERUP *et al.*, 2020). A dor é sempre uma experiência subjetiva, e o diagnóstico é feito por meio do que o indivíduo relata por diferentes medidas de avaliação (COHEN; VASE; HOOTEN, 2021). A dor aguda ocorre geralmente em resposta a um trauma tecidual e a processos inflamatórios, com função de proteção à integridade física (COHEN; VASE; HOOTEN, 2021). Uma vez que o estímulo agudo seja resolvido e a dor persistir, não sendo mais uma necessidade, esta torna-se uma doença (COHEN; VASE; HOOTEN, 2021). A dor crônica apresenta fisiopatologia característica, com sensibilização periférica e central, desenvolvimento de novas conexões neurais e alterações encefálicas específicas (TREEDE; RIEF; BARKE; AZIZ *et al.*, 2019). Apesar de não haver um limiar exato para a classificação de aguda para crônica, a literatura sugere que para ser dor crônica, esta deve persistir por um período maior do que o esperado para resolução da causa inicial ou um período maior do que 3 meses (TREEDE; RIEF; BARKE; AZIZ *et al.*, 2019).

A IASP sugere três diferentes categorias para a dor crônica, que são: nociceptiva, neuropática e nociplástica (RAJA; CARR; COHEN; FINNERUP *et al.*, 2020). A dor nociceptiva é aquela que ocorre pela atividade das vias neurais, a partir de um estímulo real ou potencial de dano tecidual (RAJA; CARR; COHEN; FINNERUP *et al.*, 2020). A dor nociceptiva é a categoria mais comum de dor crônica, uma vez que engloba, por exemplo, artrite e dores na coluna (DIBONAVENTURA; SADOSKY; CONCIALDI; HOPPS *et al.*, 2017). Já a dor neuropática, é definida como aquela que ocorre a partir de dano ou doença ao sistema nervoso somatossensorial (COLLOCA; LUDMAN; BOUHASSIRA; BARON *et al.*, 2017). A dor neuropática está geralmente associada com alterações sensoriais, como alodinia e outros achados neurológicos (COLLOCA; LUDMAN; BOUHASSIRA; BARON *et al.*, 2017). Aproximadamente 15 a 25% das

condições de dor crônica são neuropáticas, incluindo comumente neuropatia diabética e radiculopatias (DIBONAVENTURA; SADOSKY; CONCIALDI; HOPPS *et al.*, 2017). Por fim, a dor nociplástica ocorre quando não há dano tecidual claro ou evidente que cause a ativação dos nociceptores periféricos ou doença/lesão em alguma parte do sistema nervoso somatossensorial (FITZCHARLES; COHEN; CLAUW; LITTLEJOHN *et al.*, 2021).

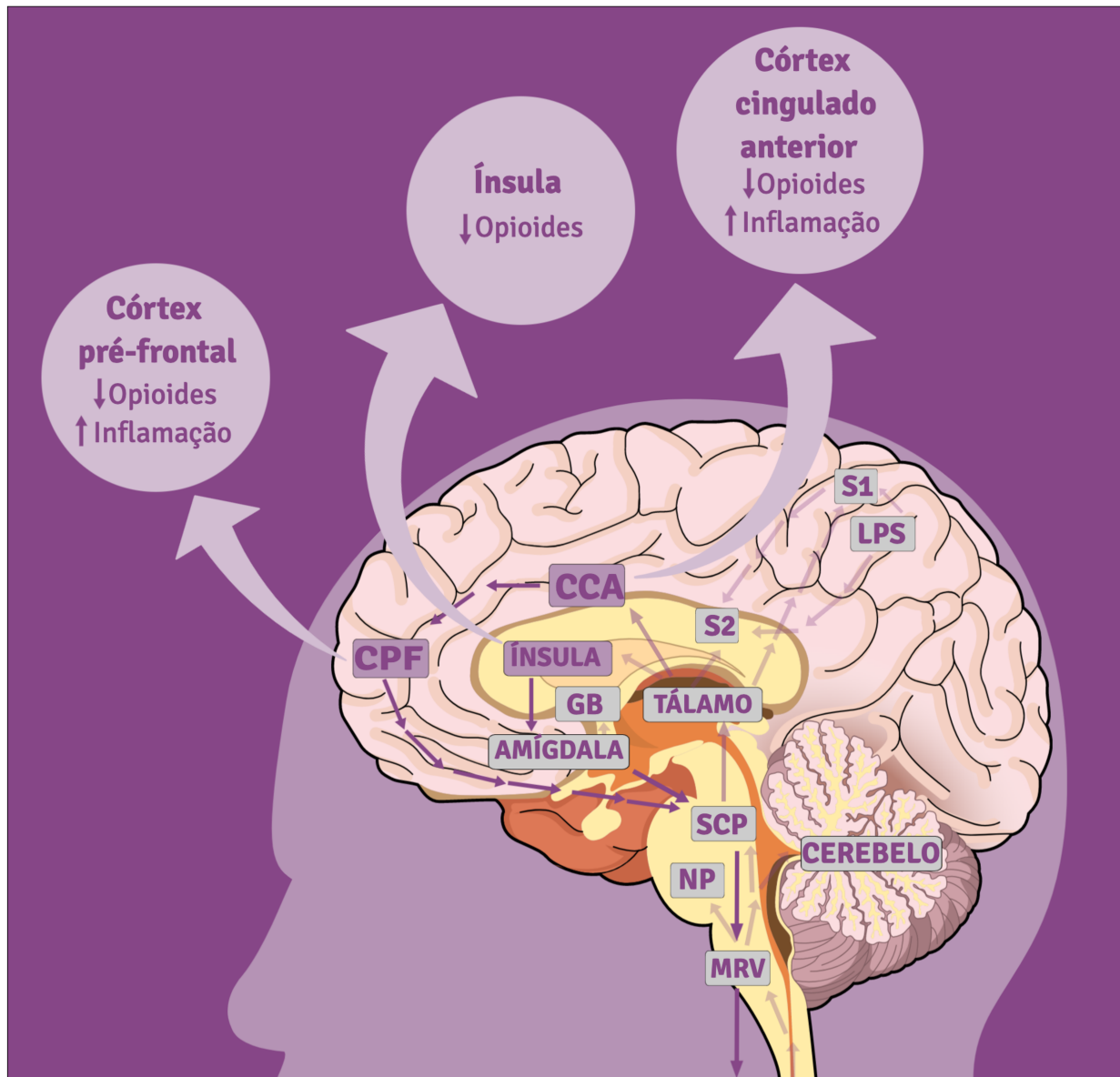
A SDRC é considerada uma condição de dor nociplástica (FITZCHARLES; COHEN; CLAUW; LITTLEJOHN *et al.*, 2021). Ela se enquadra justamente pelo fato de que a dor nociplástica abrange uma ampla gama de condições clínicas que compartilham mecanismos neurofisiológicos em diferentes sistemas (KOSEK; COHEN; BARON; GEBHART *et al.*, 2016). Há uma interação de vários mecanismos, tanto para a causa quanto para a intensificação da dor, associados ao SNP ou ao SNC (FITZCHARLES; COHEN; CLAUW; LITTLEJOHN *et al.*, 2021). Apesar disso, é possível encontrar um denominador comum na dor nociplástica que é um processamento sensorial aumentado e uma diminuição das vias inibitórias da dor (FITZCHARLES; COHEN; CLAUW; LITTLEJOHN *et al.*, 2021). Esse entendimento fez com que as alterações presentes na dor nociplástica fossem associadas com um papel fundamental às estruturas supraespinais (FITZCHARLES; COHEN; CLAUW; LITTLEJOHN *et al.*, 2021). Como outras doenças, a dor crônica apresenta suas peculiaridades, principalmente as alterações que ocorrem no SNC, e o grande impacto destas alterações sobre a qualidade de vida dos indivíduos (COHEN; VASE; HOOTEN, 2021). Mas, assim como muitas doenças têm suas repercussões negativas revertidas, a neuroplasticidade também pode reverter as alterações, desde que ocorra o manejo adequado da dor (COHEN; VASE; HOOTEN, 2021).

1.1.1 Alterações no SNC

A informação nociceptiva entra no encéfalo a partir medula espinal. Vias espinais aferentes incluem as vias espinotalâmicas, espinoreticular, espinomesencefálica, cervicotalâmica e espino-hipotalâmica. As áreas do encéfalo que são comumente ativadas por um estímulo nocivo são o córtex somatossensorial primário (S1), córtex

somatossensorial secundário (S2), córtex cingulado anterior, córtex pré-frontal, tálamo e cerebelo (APKARIAN; BUSHNELL; TREEDE; ZUBIETA, 2005). Além dessas regiões, também recebem estímulos nociceptivos o núcleo accumbens, a amígdala e a substância cinzenta periaquedutal (APKARIAN; BUSHNELL; TREEDE; ZUBIETA, 2005). Os córtex somatossensorial primário e secundário estão associados ao processamento de características de localização e duração da dor (BUSHNELL; CEKO; LOW, 2013). Já o córtex cingulado anterior e a ínsula realizam a codificação da parte emocional e motivacional da dor (BUSHNELL; CEKO; LOW, 2013). As regiões do cérebro mais ativadas em condições dolorosas são córtex da ínsula e o córtex somatossensorial bilateralmente (ONG; STOHLER; HERR, 2019). Apesar disso, a literatura é clara em ressaltar que não há região específica para a chegada das informações referentes à dor, mas sim múltiplas vias, que podem aumentar ou reduzir os sinais, desde a medula espinal até o córtex (Figura 1) (APKARIAN; BUSHNELL; TREEDE; ZUBIETA, 2005; BUSHNELL; CEKO; LOW, 2013).

Figura 1 – Mudanças identificadas nas diferentes regiões do encéfalo de indivíduos com dor crônica.



Fonte: Adaptado de Bushnell, Ceko e Low (2013).

Legenda: Esquema de alterações identificadas no cérebro de indivíduos com dor crônica. As três regiões que apresentam diminuição na massa cinzenta estão destacadas: córtex cingulado anterior (CCA), córtex pré-frontal (CPF) e ínsula. As setas roxas representam a via descendente modulatória da dor, e as setas roxas claras as vias ascendentes da dor. CPF, córtex pré-frontal; CCA, córtex cingulado anterior; GB, gânglio basal; SCP, substância cinzenta periaquedutal; MRV, bulbo rostral ventro medial; S2, córtex somatossensorial S2; S1, córtex somatossensorial S1; LPS, lobo parietal superior; NP, núcleo parabraquial.

Ao longo do tempo, a história de casos onde indivíduos não sentiram dor ou sentiram pouca dor em situações excruciantes foi relatada. O modelo clássico biomédico

de entendimento da dor como lesão ignorava esse fato. No entanto, o componente cognitivo da dor foi tomando destaque, principalmente com a adoção do modelo biopsicossocial da dor (BUSHNELL; CEKO; LOW, 2013). Hoje, sabe-se que tanto a atenção quanto a emoção são capazes de modular a dor (BUSHNELL; CEKO; LOW, 2013). Foco na dor aumenta sua intensidade, enquanto um estado emocional negativo aumenta a percepção desagradável, mas não a sua intensidade (ROY; PICHÉ; CHEN; PERETZ *et al.*, 2009). Há uma maior atividade do córtex somatosensorial S1, ínsula e córtex cingulado anterior quando o indivíduo se distrai da dor (ROY; PICHÉ; CHEN; PERETZ *et al.*, 2009). O córtex pré-frontal, recebe projeções da ínsula, referentes a intensidade da dor, e do córtex parietal, quanto a aspectos especiais (ONG; STOHLER; HERR, 2019). Projeções do tálamo e da amígdala para o córtex pré-frontal agregam fatores referentes a memórias de trabalho e medo relacionados à dor, respectivamente (ONG; STOHLER; HERR, 2019). Assim, quando suas projeções seguem para a substância cinzenta periaquedutal, há também o componente executivo de planejamento e execução de resposta à dor (ONG; STOHLER; HERR, 2019).

A via moduladora de dor mais explorada pela literatura até o momento envolve as projeções da substância cinzenta periaquedutal para os núcleos do tronco encefálico, que incluem o bulbo e o locus coeruleus, ao corno dorsal da medula espinal (APKARIAN; BUSHNELL; TREEDE; ZUBIETA, 2005; BUSHNELL; CEKO; LOW, 2013). Essa via envolve principalmente a ação de opioides endógenos, com efeito inibitório ou excitatório (BUSHNELL; CEKO; LOW, 2013). Há alteração na atividade das vias da dor com o estado de atenção, principalmente as vias relacionadas aos mediadores opioides (BUSHNELL; CEKO; LOW, 2013). Estímulos vindos do córtex cingulado, do córtex pré-frontal e da amígdala chegam à substância cinzenta periaquedutal (APKARIAN; BUSHNELL; TREEDE; ZUBIETA, 2005; BUSHNELL; CEKO; LOW, 2013). Assim, fatores relacionados a emoção e motivação podem tanto ativar quanto inibir essa via.

Em indivíduos com dor crônica, além do processo de sensibilização periférica e central, também ocorrem alterações nessas vias moduladoras da dor. Por meio de exames de imagem, podem ser constatadas mudanças estruturais e funcionais nessas vias. Em indivíduos com SDRC, em estágio agudo, há uma redução de volume da substância cinzenta e de perfusão no córtex somatossensorial e no sistema límbico

(SHOKOUHI; CLARKE; MORLEY-FORSTER; MOULIN *et al.*, 2018). Já em um estágio crônico, há um aumento da perfusão no córtex motor (SHOKOUHI; CLARKE; MORLEY-FORSTER; MOULIN *et al.*, 2018). Indivíduos com dor crônica também apresentam uma diminuição da conectividade nas regiões do tronco encefálico envolvidas em mecanismos analgésicos (FITZCHARLES; COHEN; CLAUW; LITTLEJOHN *et al.*, 2021). A ativação de receptores opioides em neurônios GABAérgicos pode levar a desinibição de neurônios no córtex pré-frontal e suas projeções para a substância cinzenta periaquedutal, diminuindo o controle anti-nociceptivo (BUSHNELL; CEKO; LOW, 2013). Além disso há aumento da neuroinflamação e alteração do sistema opioide no córtex pré-frontal (APKARIAN; BUSHNELL; TREEDE; ZUBIETA, 2005). No entanto, até o presente momento essas alterações não foram exploradas no modelo animal da SDRC.

1.1.2 Alterações no sistema opioide endógeno

O sistema opioide endógeno é um dos sistemas relacionados a dor mais explorado pela literatura. Esse sistema consiste na produção, pelos neurônios do SNC ou SNP, de três diferentes peptídeos: β -endorfinas, encefalinas e dinorfinas (HOLDEN; JEONG; FORREST, 2005). Esses opioides atuam como neurotransmissores e neuromoduladores de três principais classes de receptores, μ , δ κ , para produzir analgesia (WALDHOER; BARTLETT; WHISTLER, 2004). Os receptores opioides são receptores do tipo transmembrana acoplados a proteína G, e modulam os canais de Ca^{2+} ou K^+ , o que resulta na inibição da excitabilidade neuronal (WALDHOER; BARTLETT; WHISTLER, 2004). Esse efeito inibitório é a base da ação analgésica desses receptores ao se ligarem a opiáceos ou opioides (HOLDEN; JEONG; FORREST, 2005). Tanto os opioides quanto os opiáceos não são seletivos para um receptor específico (HOLDEN; JEONG; FORREST, 2005). De qualquer forma, apesar de ser um processo inespecífico, acabam mediando a analgesia (WALDHOER; BARTLETT; WHISTLER, 2004).

Mesmo estando presentes em todo corpo, há três áreas de destaque para a ação opioide, que são o corno dorsal da medula espinal, os nervos periféricos e estruturas supraespinais (WALDHOER; BARTLETT; WHISTLER, 2004). A partir de um trauma inicial, a informação nociceptiva percorre o trajeto até o corno dorsal da medula espinal.

As lâminas I, II e V do corno dorsal são ricas em neurônios encefalinérgicos, e também em quanto em receptores opioides (BESSE; LOMBARD; ZAJAC; ROQUES *et al.*, 1990). Os opioides endógenos também podem atuar nos nervos, principalmente em condições dolorosas inflamatórias (JANSON; STEIN, 2003). A inflamação aumenta a atividade dos receptores opioides, fazendo com que ocorra uma inibição mais eficiente do estímulo doloroso (JANSON; STEIN, 2003). Já ao que se refere a estruturas supraespinais, as principais áreas com receptores opioides são o córtex, gânglios da base, tálamo, hipotálamo, amígdala, substância cinzenta periaquedutal e bulbo rostral ventromedial (HOLDEN; JEONG; FORREST, 2005).

Vale ressaltar que dentre as estruturas supraespinais, o circuito entre a substância cinzenta periaquedutal e a bulbo rostral ventromedial é reconhecido como o circuito da analgesia (BAGLEY; INGRAM, 2020). A substância cinzenta periaquedutal integra as informações vindas das áreas corticais para modular diferentes comportamentos, como respostas de proteção a um estímulo doloroso (BAGLEY; INGRAM, 2020). Ainda, destaca-se que os neurônios da coluna ventrolateral da substância cinzenta periaquedutal são associados a analgesia por apresentarem maior densidade de terminais encefalinérgicos e receptores opioides (BAGLEY; INGRAM, 2020; LAU; WINTERS; VAUGHAN, 2020). Estes terminais se opõem a dendritos gabaérgicos ou não gabaérgicos, bem como aos neurônios eferentes que se projetam para a bulbo rostral ventromedial (BAGLEY; INGRAM, 2020; LAU; WINTERS; VAUGHAN, 2020).

Os receptores μ -opioides são os mediadores primários da analgesia (BAGLEY; INGRAM, 2020). Eles tem expressão tanto pré quanto pós-sináptica na coluna ventrolateral da substância cinzenta periaquedutal (OSSIPOV; MORIMURA; PORRECA, 2014). A ligação de opioides a receptores μ -opioides pós-sinápticos ativa canais que hiperpolarizam os neurônios da substancia cinzenta periaquedutal (OSSIPOV; MORIMURA; PORRECA, 2014). Também, receptores μ -opioides podem se acoplar a canais de cálcio e inibir a ativação (BAGLEY; INGRAM, 2020). Assim, os opioides endógenos podem atuar diretamente na inibição dos neurônios deste circuito.

O bulbo rostral ventromedial também é uma estrutura importante para a integração de informações corticais de analgesia (BAGLEY; INGRAM, 2020). Mas no que se relaciona ao circuito de analgesia, ela é a saída para a medula espinal (HEINRICHER;

BARBARO; FIELDS, 1989). Nessa estrutura, há predominantemente dois tipos de células classificadas quanto à resposta ao estímulo nocivo. As células *off*, que param o estímulo e as células *on*, que aumentam o disparo de potenciais de ação em resposta ao estímulo (HEINRICHER; BARBARO; FIELDS, 1989). Os opioides no bulbo rostral ventromedial promovem analgesia pelo controle das células *off*, uma vez que a ativação das células *on* está relacionada a hiperalgesia (HEINRICHER; BARBARO; FIELDS, 1989).

Um estímulo doloroso promove uma resposta do sistema opioide endógeno no circuito analgésico (BAGLEY; INGRAM, 2020; OSSIPOV; MORIMURA; PORRECA, 2014). Em situações de dor crônica, o controle descendente da dor associado a esse circuito é alterado (BUSHNELL; CEKO; LOW, 2013). Estudos pré-clínicos passaram então a explorar as possíveis mudanças neuroquímicas associadas ao sistema opioide em diferentes modelos animais de dor crônica. Por exemplo, há uma redução dos receptores μ -opioides na medula espinal após lesão nervosa em ratos (PORRECA; TANG; BIAN; RIEDL *et al.*, 1998). Thompson *et al.* (THOMPSON; PITCHER; STONE; TARUM *et al.*, 2018) verificaram em um modelo de dor crônica neuropática em ratos, uma redução de receptores μ -opioide na ínsula, putâmem e córtex motor, associada a comportamento tipo depressivo. A expressão diminuída de receptores opioides, bem como outras alterações, representam uma remodelação do cérebro que altera a capacidade dessas regiões de responder a opioides endógenos (BUSHNELL; CEKO; LOW, 2013). Essas alterações não foram exploradas até então no modelo experimental da SDRC-I.

1.2 SÍNDROME DA DOR REGIONAL COMPLEXA

A Síndrome da Dor Regional Complexa (SDRC) é uma condição clínica caracterizada por alterações sensoriais, autonômicas, motoras e tróficas em uma extremidade, decorrente de um trauma inicial ou de um procedimento cirúrgico (BIRKLEIN; DIMOVA, 2017). É classificada com uma condição de dor crônica, envolvendo a presença de alteração nociceptiva na extremidade afetada (TAYLOR;

NOOR; URITS; PALADINI *et al.*, 2021). Tanto sua definição quanto o diagnóstico apresentaram mudanças ao longo do tempo. Historicamente, a primeira descrição relacionada a SDRC foi feita pelo cirurgião francês Ambroise Paré no início do século XVI, que tratou um quadro de dor severa e persistente pós flebotomia (IOLASCON; DE SIRE; MORETTI; GIMIGLIANO, 2015). No entanto, uma definição mais específica da SDRC foi feita apenas no século XIX, pelo cirurgião inglês Denmark, relacionando um quadro de dor persistente após uma lesão nervosa (IOLASCON; DE SIRE; MORETTI; GIMIGLIANO, 2015). Ao longo dos anos, a SDRC também foi nomeada como causalgia, algodistrofia, atrofia de Sudeck e distrofia simpático reflexa (IOLASCON; DE SIRE; MORETTI; GIMIGLIANO, 2015).

Com o desenvolvimento da ciência médica e o avanço no estudo da dor, em 1950, John Bonica apresentou as primeiras propostas de definição da até então chamada distrofia simpático reflexa (IOLASCON; DE SIRE; MORETTI; GIMIGLIANO, 2015). Bonica definiu que haviam três diferentes estágios clínicos: estágio I – agudo, que iniciava no momento do trauma e percorria por até 3 meses, caracterizado por eritema, calor, edema, hiper-hidrose, dor, limitação da amplitude de movimento e fraqueza muscular; estágio II – distrófico, caracterizado por dor severa, e persistência e/ou agravamento dos demais sinais; e estágio III – atrófico, a partir de 6 semanas após o trauma, com presença de dor incapacitante, exacerbada ao realizar movimentos passivos (IOLASCON; DE SIRE; MORETTI; GIMIGLIANO, 2015).

Outro marco importante para o estudo da SDRC, ocorreu com a fundação da Associação Internacional para Estudo da Dor (IASP, do inglês *International Association for the Study of Pain*) e a proposta da padronização taxonômica concebida pela Associação. Em 1993, a distrofia simpático reflexa foi renomeada para SDRC (IOLASCON; DE SIRE; MORETTI; GIMIGLIANO, 2015; STANTON-HICKS; JÄNIG; HASSENBUSCH; HADDOX *et al.*, 1995). A nova nomenclatura abrange o fato da condição ser caracterizada por dor contínua espontânea ou evocada, desproporcional ao tempo ou grau de lesão (LEE; LEE; CHOY, 2018; STANTON-HICKS; JÄNIG; HASSENBUSCH; HADDOX *et al.*, 1995). A dor é regional, não necessariamente relacionada a algum dermatomo, predominantemente distal, com progressão temporal variável (STANTON-HICKS; JÄNIG; HASSENBUSCH; HADDOX *et al.*, 1995). Além da

dor, é comum a presença de outros sinais, como alterações motoras, vasomotoras e tróficas (STANTON-HICKS; JÄNIG; HASSENBUSCH; HADDOX *et al.*, 1995).

Atualmente, existem quatro ferramentas diagnósticas validadas para identificação da SDRC, que são os critérios de Valdeman, os critérios da IASP, os critérios de Budapest para pesquisa e os critérios de Budapest modificados (MESAROLI; HUNDERT; BIRNIE; CAMPBELL *et al.*, 2021). Ao longo do tempo, a utilização de diversas ferramentas diagnósticas foi sendo explorada. Dentre as ferramentas utilizadas, destaca-se a utilização dos critérios de Budapest modificados, onde para o diagnóstico: I – deve haver dor contínua, desproporcional ao evento inicial; II – relato de um sintoma em três das quatro categorias: sensorial (hiperalgesia ou alodinia), vasomotor (assimetria de temperatura ou cor da pele), sudomotor (edema ou assimetria em sudorese), motor (diminuição de amplitude de movimento ou fraqueza, tremor ou distonia, ou alterações de crescimento dos pelos, unhas e pele); III – apresentar um sinal ao momento da avaliação em duas ou mais categorias: sensorial (hiperalgesia a agulhamento ou alodinia ao toque leve, sensação térmica, pressão ou movimento articular), vasomotor (temperatura assimétrica em mais de 1°C ou assimetria de cor da pele), sudomotor (edema ou assimetria em sudorese), motor (diminuição da amplitude de movimento, fraqueza, tremor, distonia ou outras alterações tróficas); IV – não houver outro diagnóstico que melhor explique os sinais e sintomas presentes (BIRKLEIN; DIMOVA, 2017; BORCHERS; GERSHWIN, 2014; HARDEN; BRUEHL; PEREZ; BIRKLEIN *et al.*, 2010).

A SDRC é classificada em dois tipos: tipo I (SDRC-I), quando não ocorre lesão nervosa; e tipo II (SDRC-II), quando ocorre lesão nervosa (BORCHERS; GERSHWIN, 2014). Além da categorização diagnóstica, a SDRC também é associada a duas formas de apresentação distintas: quente e fria (BRUEHL, 2015; BRUEHL; MAIHÖFNER; STANTON-HICKS; PEREZ *et al.*, 2016). A SDRC quente é caracterizada por calor, vermelhidão e edema na extremidade afetada (BRUEHL; MAIHÖFNER; STANTON-HICKS; PEREZ *et al.*, 2016). Enquanto a SDRC fria, apresenta frio, coloração escura e aumento da sudorese na extremidade afetada (BRUEHL; MAIHÖFNER; STANTON-HICKS; PEREZ *et al.*, 2016). Temporalmente, a apresentação quente é mais comum em fase aguda e a fria ocorre em fase crônica, também podendo ocorrer variação das

apresentações ao longo do tempo (BRUEHL; MAIHÖFNER; STANTON-HICKS; PEREZ *et al.*, 2016). O edema e vermelhidão, causados pelo processo inflamatório inicial, são menos proeminentes conforme a duração da SDRC evolui, reforçando que a transição entre a apresentação quente e fria aconteça com a cronificação da condição (BIRKLEIN; RIEDL; SIEWEKE; WEBER *et al.*, 2000).

No que se refere ao componente sensorial, a dor espontânea é presente em 75% dos pacientes (OTT; MAIHÖFNER, 2018). A dor é descrita pelos indivíduos com SDRC com características dinâmicas (CODERRE; BENNETT, 2010). No que se refere a qualidade, as características da dor mais frequentes são de esfaqueamento/penetração, queimação e irradiação, similares a outras condições de dor neuropática (OTT; MAIHÖFNER, 2018). Quanto a intensidade, o aumento da dor relaciona-se com exposição ao movimento, toque sutil, esforço físico, permanência em ortostase bem como quanto ao período do dia, como ao anoitecer, e sob a exposição a agentes térmicos como calor ou frio (OTT; MAIHÖFNER, 2018). Também são frequentes respostas nociceptivas anormais evocadas, como hiperalgesia mecânica, alodinia mecânica, alodinia ao frio e hiperalgesia ao calor (CODERRE; BENNETT, 2010). As alterações autonômicas e tróficas mais comuns se concentram na aparência pálida ou hiperêmica da pele, crescimento aumentado dos pelos e unhas, bem como o edema e diferença de temperatura na extremidade afetada (OTT; MAIHÖFNER, 2018). Quanto aos sinais motores, a redução de força é presente em mais da metade dos indivíduos com SDRC (OTT; MAIHÖFNER, 2018). Essas características são similares tanto para a SDRC-I quanto para a SDRC-II (CODERRE; BENNETT, 2010).

Devido à grande variabilidade diagnóstica e aplicação recente dos critérios de Budapest, são poucos os dados epidemiológicos sobre a SDRC (BIRKLEIN; DIMOVA, 2017). A incidência de pacientes que desenvolvem a SDRC varia entre 5,5 a 26,2 casos a cada 100 mil indivíduos (BIRKLEIN; DIMOVA, 2017; DE MOS; DE BRUIJN; HUYGEN; DIELEMAN *et al.*, 2007; ELSHARYDAH; LOO; MINHAJUDDIN; KANDIL, 2017; OTT; MAIHÖFNER, 2018; SANDRONI; BENRUD-LARSON; MCCLELLAND; LOW, 2003). O sexo feminino é predominante nos indivíduos com SDRC, em uma proporção de 3,5 mulheres para cada 1 homem, em faixa etária entre 55 e 75 anos (DE MOS; DE BRUIJN; HUYGEN; DIELEMAN *et al.*, 2007; OTT; MAIHÖFNER, 2018; SANDRONI; BENRUD-

LARSON; MCCLELLAND; LOW, 2003). As causas primárias se concentram principalmente entre fraturas e contusões, principalmente em extremidades superiores do que inferiores (OTT; MAIHÖFNER, 2018). Estima-se que 3,8 a 8% dos indivíduos que sofram fratura em extremidades desenvolvam a SDRC (BEERTHUIZEN; STRONKS; VAN'T SPIJKER; YAKSH *et al.*, 2012). Ressalta-se ainda que a SDRC-I, onde não ocorre lesão nervosa, é mais comum e ocorre em aproximadamente 88% dos casos (OTT; MAIHÖFNER, 2018). O fato de alguns indivíduos desenvolverem a SDRC e outros não, com traumas iniciais similares, destaca ainda mais a importância do entendimento dos mecanismos fisiopatológicos por trás dessa condição.

1.2.1 Fisiopatologia

Nos dias atuais, há um consenso na literatura que a SDRC é multifatorial, envolvendo mecanismos periféricos e centrais (BRUEHL, 2015). Até os anos 90, a comunidade científica do estudo da dor relacionava a causa da SDRC apenas a hiperatividade do sistema nervoso simpático (CODERRE; BENNETT, 2010). No entanto, com o fato de que nem todos os indivíduos se beneficiavam de tratamento com simpatectomia ou bloqueio de gânglio simpático, outras possibilidades começaram a ser exploradas (BARON; LEVINE; FIELDS, 1999). Levando em conta as diferentes características diagnósticas, diferentes mecanismos podem contribuir tanto entre os diferentes indivíduos como com o decurso temporal da SDRC. Dentre os possíveis mecanismos envolvidos, destacam-se: lesão nervosa, lesão isquêmica, sensibilização central, sensibilização periférica, alterações simpáticas, fatores inflamatórios e imunes, mudanças no sistema nervoso central (SNC), fatores genéticos e psicológicos (MARINUS; MOSELEY; BIRKLEIN; BARON *et al.*, 2011; BRUEHL, 2015). Vale ressaltar também, que é possível que estes diferentes mecanismos que contribuem de maneira independente para a SDRC, também interajam entre si (BRUEHL, 2015).

1.2.1.1 Fatores relacionados ao trauma inicial

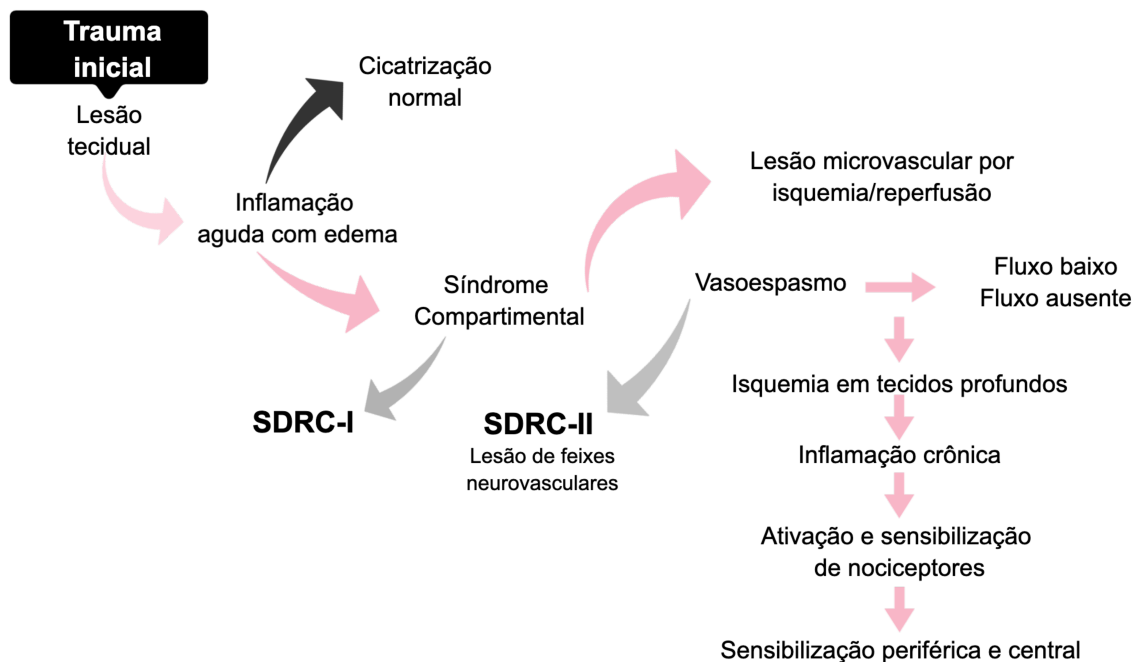
A grande maioria dos casos da SDRC se dá a partir do trauma inicial, uma lesão tecidual conhecida (OTT; MAIHÖFNER, 2018). Para que o trauma inicial apresente sua recuperação normal ou para que ocorra o desenvolvimento da SDRC, a extensão do processo inflamatório e da resposta imune é um ponto determinante (BRUEHL, 2015).

Para compreender o que ocorria com os indivíduos acometidos pela SDRC, Coderre & Bennet (2010) levantaram a hipótese de que a principal causa da dor estava relacionada a um processo isquêmico dos tecidos profundos e conseqüentemente uma reação inflamatória subsequente a lesão por isquemia e reperfusão, seqüência esquematizada na Figura 2. A partir do trauma inicial e a presença de edema demasiado, há extravasamento plasmático, aumento da densidade dos vasos perfundidos e aumento da capacidade de filtração dos capilares (LYDEN; SHORTELL; ILLIG, 2001). A pressão do acúmulo de plasma no espaço intersticial oclui os capilares dos tecidos adjacentes causando a síndrome compartimental (LYDEN; SHORTELL; ILLIG, 2001). A síndrome compartimental é uma complicação comum após fraturas, lesões ou cirurgias ortopédicas, da mesma maneira que a SDRC também é associada a essas lesões iniciais (OTT; MAIHÖFNER, 2018). O tecido isquêmico apresenta um acúmulo de enzimas oxidativas, inicialmente xantina oxidase e fosfato de dinucleótido de nicotinamida adenosina (NADPH) oxidase (CODERRE; BENNETT, 2010). Após a reperfusão, as oxidases acumuladas reduzem o oxigênio molecular e as células que compõem os capilares são expostas a altos níveis de radicais livres (CODERRE; XANTHOS; FRANCIS; BENNETT, 2004). Níveis altos de radicais livres danificam tanto as células endoteliais vasculares quanto as células da musculatura lisa (CODERRE; XANTHOS; FRANCIS; BENNETT, 2004). Esse dano ocorre tanto na microvasculatura dos músculos, quanto nos ossos e nervos da região afetada pela síndrome compartimental (CODERRE; BENNETT, 2010).

Em seqüência a lesão por isquemia/reperfusão, as células endoteliais liberam menores quantidades de óxido nítrico, e o pouco liberado é convertido em radicais livres de nitrogênio (KUROSE; WOLF; GRISHAM; GRANGER, 1994). Ocorre então um déficit na vasodilatação mediada pelo óxido nítrico, que por subsequência modula a vasoconstrição evocada pelo sistema nervoso simpático (KUROSE; WOLF; GRISHAM; GRANGER, 1994). O vasoespasmo exacerba ainda mais a isquemia e aumento da lesão

(DAYAN; SALMAN; NORMAN; VATINE *et al.*, 2008). O dano aos vasos estimula a liberação de diversos mediadores pró-inflamatórios (DAYAN; SALMAN; NORMAN; VATINE *et al.*, 2008). Os radicais livres aumentam a expressão de selectinas, moléculas de adesão, fatores complemento, entre outros (DAYAN; SALMAN; NORMAN; VATINE *et al.*, 2008). Essas moléculas são quimiotáticas e recrutam monócitos, leucócitos e plaquetas, que liberam mediadores inflamatórios, como fator de necrose tumoral (TNF), interleucina-1 (IL-1) e interleucina-6 (IL-6), que podem disseminar ainda mais a lesão tecidual (DAYAN; SALMAN; NORMAN; VATINE *et al.*, 2008).

Figura 2 – Esquema de hipótese patofisiológica para a SDRC.



Fonte: Adaptado de Coderre e Bennett (2010).

Legenda: esquema dos mecanismos fisiopatológicos hipotéticos na SDRC. Em indivíduos com SDRC, a partir do trauma inicial e lesão tecidual, ocorre o processo inflamatório com edema e a Síndrome Compartimental. A isquemia/reperfusão leva à lesão das células endoteliais microvasculares induzida por radicais livres. Esses eventos levam a vasoespasmos arteriais e fluxo baixo/ausente na microvasculatura tecidual profunda, o que produz isquemia persistente, aumentando a lesão e ocasionando um quadro de inflamação crônica. Nos músculos, ossos e nervos, a isquemia e inflamação ativam e sensibilizam os nociceptores.

Outra abordagem para explorar o tema foi feita por Li et al. (2009), com o estabelecimento do modelo de indução por fratura de tíbia seguida de imobilização. O grupo ressaltou o papel quanto a ativação de queratinócitos, alterações a nível da medula espinal e desenvolvimento de autoimunidade (MARINUS; MOSELEY; BIRKLEIN; BARON *et al.*, 2011). O trauma inicial, mesmo que pequeno, pode amplificar a liberação de citocinas (MARINUS; MOSELEY; BIRKLEIN; BARON *et al.*, 2011). Citocinas e fator de crescimento do nervo (NGF) podem excitar os nociceptores e induzir a sensibilização periférica (MARINUS; MOSELEY; BIRKLEIN; BARON *et al.*, 2011). A presença de citocinas também aumenta a liberação de neuropeptídeos inflamatórios nos neurônios aferentes primários (BIRKLEIN; SCHMELZ; SCHIFTER; WEBER, 2001). Substância P estimula os queratinócitos a produzirem ainda mais citocinas pró-inflamatórias. Assim,

os sinais de dor, edema e alteração de temperatura são estabelecidos (BIRKLEIN; SCHMELZ; SCHIFTER; WEBER, 2001).

1.2.1.2 Alterações simpático-reflexas

Historicamente, os sinais característicos da SDRC tinham seus mecanismos voltados apenas a alterações simpático-reflexas, onde alterações de temperatura e coloração eram resultado da vasoconstrição, e a dor mantida por estímulos simpáticos (BARON; LEVINE; FIELDS, 1999). A expressão de receptores adrenérgicos em neurônios nociceptivos após uma lesão nervosa, pode diretamente desencadear sinais nociceptivos (BARON; LEVINE; FIELDS, 1999). Dessa forma, o envolvimento do sistema nervoso simpático se dá principalmente pelo fato dos nociceptores aumentarem sua resposta frente a estímulos simpáticos (BRUEHL, 2015). Em resposta a algum agente estressor, há a liberação de catecolaminas, estas que se ligam aos receptores nos nociceptores produzindo ou aumentando o quadro de dor (JØRUM; ØRSTAVIK; SCHMIDT; NAMER *et al.*, 2007). Esse fenômeno é chamado de acoplamento simpático-aferente. Essa alteração na resposta simpática pode ser evidente não só na nocicepção, como também com respostas simpáticas exacerbadas como redução da temperatura, alteração de coloração, aumento da sudorese (JØRUM; ØRSTAVIK; SCHMIDT; NAMER *et al.*, 2007).

Em indivíduos com SDRC, quando há uma atividade alta do sistema nervoso simpático, há um aumento de intensidade e extensão da dor (BARON; SCHATTSCHEIDER; BINDER; SIEBRECHT *et al.*, 2002). Na fase aguda da SDRC, a inervação do sistema nervoso simpático em estruturas profundas é mais determinante do que a inervação da pele, principalmente ao que se refere ao acoplamento simpático-aferente (BARON; SCHATTSCHEIDER; BINDER; SIEBRECHT *et al.*, 2002). Embora a literatura sugira que o acoplamento simpático-aferente é relacionado ao aumento de intensidade da dor na SDRC, este fato não necessariamente se aplica a presença de outros sinais clássicos na SDRC (BRUEHL, 2010). Alterações vasomotoras na SDRC podem não estar relacionadas apenas as alterações do sistema nervoso simpático (BRUEHL, 2010).

1.2.1.3 Sensibilização central e periférica

Após um trauma, o organismo se adapta aumentando a resposta a dor e níveis de inflamação, como estratégia de proteção da área lesada, evitando possíveis atividades que possam aumentar a lesão (BRUEHL, 2015). Isso ocorre tanto no sistema nervoso periférico (SNP), quanto no SNC. Tanto a sensibilização periférica quanto central, são fortemente influenciadas pela liberação de mediadores inflamatórios e neuropeptídeos pró-nociceptivos, contribuindo para as alterações sensoriais características da SDRC, como dor espontânea, hiperalgesia ou alodinia.

A lesão produz mudanças estruturais e químicas locais, que alteram as fibras aferentes primárias, aumentando a responsividade a dor e diminuindo o limiar a estímulos mecânicos e térmicos (CHENG; JI, 2008). Também, a presença de citocinas pró-inflamatórias e neuropeptídeos leva ao aumento da responsividade dos nociceptores (BRUEHL, 2010). Essa diminuição do limiar dos neurônios nociceptivos contribui diretamente para o surgimento de hiperalgesia ou alodinia, sinais clássicos da SDRC (BRUEHL, 2010). É importante ressaltar que esse processo de sensibilização periférica é desencadeado pelo trauma inicial, ou seja, ocorre em uma fase inicial do desenvolvimento da SDRC, onde muitas vezes o diagnóstico ainda não foi definido (BRUEHL, 2010).

Um estímulo nociceptivo contínuo após lesão tecidual pode induzir a sensibilização central, caracterizada pelo aumento na excitabilidade de neurônios nociceptivos na medula espinal, e aumento da responsividade a dor (WOOLF, 2011). A sensibilização central ocorre pela liberação de mediadores nociceptivos, como substância P, bradicinina e glutamato agindo nos receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) na medula espinal (JI; NACKLEY; HUH; TERRANDO *et al.*, 2018). A literatura não define até o presente momento se a sensibilização central precede ou ocorre concomitantemente com o desenvolvimento dos outros sinais da SDRC (BRUEHL, 2010).

1.2.1.4 Fatores inflamatórios e imunes

Grande parte da literatura sobre os mecanismos da SDRC é focada na influência da inflamação e da resposta imune. Os mecanismos clássicos da inflamação podem contribuir por meio da ativação das células imunes, como linfócitos e mastócitos, que após o trauma liberam mediadores pró-inflamatórios (COOPER; CLARK, 2013). A literatura demonstra aumento das concentrações de mediadores e neuropeptídeos pró-inflamatórios, como substância P, peptídeo relacionado ao gene calcitonina (CGRP), bradicinina, e citocinas, interleucina-1 β (IL-1 β), interleucina-2 (IL-2), IL-6 e TNF, tanto na circulação sistêmica, quanto no fluído cerebrospinal de indivíduos com SDRC (BIRKLEIN; SCHMELZ, 2008; BIRKLEIN; SCHMELZ; SCHIFTER; WEBER, 2001; SCHINKEL; GAERTNER; ZASPEL; ZEDLER *et al.*, 2006; UÇEYLER; EBERLE; ROLKE; BIRKLEIN *et al.*, 2007). Também ocorre aumento significativo de MDA, peroxidase e SOD, mediadores de estresse oxidativo (EISENBERG; SHTAHL; GELLER; REZNICK *et al.*, 2008). Em contrapartida, os indivíduos com SDRC têm baixos níveis sistêmicos de citocinas anti-inflamatórias, como a interleucina-10 (IL-10) (UÇEYLER; EBERLE; ROLKE; BIRKLEIN *et al.*, 2007).

Suportando as evidências encontradas em humanos, estudos pré-clínicos exploraram os mediadores inflamatórios em decurso temporal nas diferentes estruturas envolvidas no desenvolvimento da SDRC, demonstrados na Tabela 1. No modelo da SDRC-I induzida por isquemia/reperfusão da pata, há um aumento de TNF, IL-10, IL-2 e diminuição de interleucina-4 (IL-4) no soro, tanto na fase aguda (até dois dias após lesão) quanto na fase de transição e crônica (de sete a 24 dias pós-lesão) (LIMAN; CHEUNG; WONG; TAI *et al.*, 2015; MUTHURAMAN, A.; RAMESH, M.; SOOD, S., 2010; TANG; LI; TAI; YAO *et al.*, 2017). Já na pele da pata, há aumento de TNF apenas na fase aguda e aumento de IL-1 β tanto na fase aguda quanto na crônica (HEWEDY, 2018; HSIAO; LIN; WANG; TSAI *et al.*, 2016; HSIAO; LIU; WANG; LIN *et al.*, 2019; KLAFKE; DA SILVA; ROSSATO; DE PRA *et al.*, 2016; XU; TAO; HUANG; LIN *et al.*, 2020). A nível muscular, ocorre um aumento de TNF e IL-1 β na fase aguda (SANTOS; RABELO; MATOS; ANJOS *et al.*, 2021). Já na medula espinal, há um aumento de TNF e IL-1 β na fase aguda e de transição respectivamente, que apenas é mantido na fase crônica para a IL-1 β

(BELMONTE; MARTINS; SALM; EMER *et al.*, 2018; CHEN; YIN; HU; LIU *et al.*, 2020; SEO; GIL; CHOE; LEE *et al.*, 2020).

Já no modelo de indução da SDRG-I por fratura de tíbia, há um aumento de TNF, IL-1 β , IL-6, fator de crescimento do nervo (NGF), IL-4 e manutenção dos níveis de IL-10 na pele da pata na fase aguda (até 4 semanas pós-lesão) (GUO; SHI; LI; WEI *et al.*, 2021; GUO; SHI; LI; WEI *et al.*, 2019; GUO; WEI; LI; LI *et al.*, 2014; LI; SHI; WANG; GUO *et al.*, 2013; LI; GUO; SHI; BIRKLEIN *et al.*, 2018; LI; SABSOVICH; GUO; ZHAO *et al.*, 2009; SABSOVICH; GUO; WEI; ZHAO *et al.*, 2008b; WEI; GUO; LI; KINGERY *et al.*, 2016; WEI; SABSOVICH; GUO; SHI *et al.*, 2009). Alguns estudos apresentam manutenção dos níveis de TNF na pele da pata na fase aguda (LI; GUO; SHI; CZIRR *et al.*, 2014; SABSOVICH; WEI; GUO; ZHAO *et al.*, 2008b). Enquanto na fase crônica (a partir de 7 semanas pós-lesão) na pele da pata Wei et al. (2016) verificaram manutenção dos níveis de TNF, IL-6, IL-1 β e NGF, Shi et al. (2018) encontraram a manutenção dos níveis de TNF, IL-6 e NGF, e aumento apenas de IL-1 β em 7 semanas, não mantido em 9 semanas pós-lesão. A nível muscular, apenas um estudo verificou aumento TNF, IL-6, IL-1 β e NGF na fase aguda (GUO; SHI; LI; WEI *et al.*, 2019). Sabsovich et al. (2008) verificaram que não ocorre mudança nos níveis de TNF no osso da tíbia, mas há aumento no nervo isquiático em fase aguda. Na medula espinal, em fase aguda há aumento de TNF, IL-6, IL-1 β e NGF (GUO; WEI; LI; LI *et al.*, 2014; LEE; KIM; CHO; PARK, 2020; LI; GUO; SHI; SUN *et al.*, 2015; SHI; GUO; WEI; LI *et al.*, 2015; WEI; GUO; LI; KINGERY *et al.*, 2016). Ao passo que na fase crônica, Shi et al. (2018) verificaram um aumento dos níveis de TNF, IL-6, IL-1 β em 7 semanas, que foi mantido apenas para IL-6 em 9 semanas. Também em fase crônica, Wei et al. (2016) verificaram aumento de TNF, IL-1 β e NGF na medula espinal 16 semanas pós-lesão.

No modelo de indução por fratura de tíbia, dois estudos também exploraram os níveis do fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF) em estruturas do SNC. Tajerian et al. (2014) verificaram uma diminuição dos níveis de BDNF na medula espinal 7 semanas pós-lesão. Mais tarde, o mesmo grupo verificou que os níveis de BDNF não se alteram na amígdala, mas diminuem no córtex perirrinal e no hipocampo (TAJERIAN, MARAL; SAHBAIE, PEYMAN; SUN, YUAN; LEU, DAVID *et al.*, 2015).

A sinalização das citocinas é conhecida por ser direta na função neuronal por meio de receptores localizados em neurônios, micróglia e astrócitos, seja na medula espinal, gânglios ou no cérebro (GONÇALVES DOS SANTOS; DELAY; YAKSH; CORR, 2019). A terminação periférica dos nociceptores é encontrada na pele, músculos, ossos, articulações e vísceras. Essa localização, na proximidade de diferentes células, entre elas, queratinócitos e células do sistema imune, facilita com que ocorra a influência das citocinas (GONÇALVES DOS SANTOS; DELAY; YAKSH; CORR, 2019).

Dentre as vias de sinalização para que essa influência ocorra, destaca-se a cascata de sinalização do fator nuclear kappa B (NFkB) (GONÇALVES DOS SANTOS; DELAY; YAKSH; CORR, 2019). Entre os receptores que ativam essa cascata está o receptor para o TNF (COOK; CHRISTENSEN; TEWARI; MCMAHON *et al.*, 2018; GONÇALVES DOS SANTOS; DELAY; YAKSH; CORR, 2019). O TNF se liga a seu receptor, que ativa um complexo I κ B quinase, que fosforila as proteínas I κ B, levando à degradação, liberação e translocação do complexo NFkB para o núcleo (HAYDEN; GHOSH, 2008). No núcleo, o fator de transcrição induz a transcrição de genes (HAYDEN; GHOSH, 2008). Os genes podem incluir a liberação de outras citocinas pró-inflamatórias, como IL-6, IL-8 e proteína quimioatrativa de monócitos-1 (MCP-1) (GONÇALVES DOS SANTOS; DELAY; YAKSH; CORR, 2019). Outra via de sinalização envolvida com as citocinas pró-inflamatórias é a via da MAP quinase (MAPK) (GONÇALVES DOS SANTOS; DELAY; YAKSH; CORR, 2019). Essa via é ativada tanto por fatores de crescimento, como o NGF, quanto pelo TNF (CARGNELLO; ROUX, 2011). O TNF atua através de dois receptores, TNFR1 e TNFR2, que impulsionam a ativação da MAPK e aumentam ainda mais a inflamação por liberações secundárias de IL-1, IL-6 e IL-8 após a transcrição de seus genes (CARGNELLO; ROUX, 2011). A presença das citocinas, como TNF, IL-6 e IL-1 β , induz a sensibilização dos nociceptores por aumentar as correntes nos receptores α -amino-3-hidroxi-5-metil-ácido (AMPA) ou NMDA, como também por suprimir o ácido gama-aminobutírico inibitório típico (GABA) (COOK; CHRISTENSEN; TEWARI; MCMAHON *et al.*, 2018; GONÇALVES DOS SANTOS; DELAY; YAKSH; CORR, 2019).

Uma excitabilidade neuronal aumentada em resposta à dor e a presença de mediadores inflamatórios também podem levar a um aumento dos níveis de BDNF

(MILLIGAN; WATKINS, 2009). Esse fato ocorre após a liberação de um segundo conjunto de mediadores inflamatórios na medula espinal, incluindo MCP-1 (SMITH, 2014). A micróglia ativada e interagindo com segundos mediadores, permite um aumento do influxo de Ca^{2+} e maior liberação de BDNF (BEGGS; TRANG; SALTER, 2012; SMITH, 2014). Lentamente, o BDNF promove alterações na atividade neuronal do corno dorsal da medula espinal, reforçando o processo de sensibilização central ao nível da medula espinal e contribuindo para o incremento da dor (BEGGS; SALTER, 2013; SMITH, 2014).

Guo et al. (2006) mostraram, em um modelo de dor inflamatória na pata, um aumento dos níveis de BDNF na substância cinzenta periaquedutal. Bobinski et al. (2018) verificaram que após lesão de nervo periférico também ocorre aumento dos níveis de BDNF na medula espinal de camundongos, associado a presença de hiperalgesia. Da mesma forma, Yue et al. (2017) mostraram que níveis aumentados de BDNF no córtex pré-frontal estão associados a antinocicepção na dor inflamatória. Em conjunto, esses achados sugerem que o BDNF impacta na sensibilização e facilitação da resposta nociceptiva (CAPPOLI; TABOLACCI; ACETO; DELLO RUSSO, 2020).

Tabela 1 – Mediadores inflamatórios analisados em modelos animais da SDRC.

	Autor	Tempo de análise	Estrutura	Resultados
ISQUEMIA/REPERFUSÃO	Muthuraman et al. (2010)	0 dia	Soro	=TNF, =IL-10
		1 dia pós-lesão		↑TNF, ↑IL-10
		2 dias pós-lesão		↑TNF, ↑IL-10
		4 dias pós-lesão		↑TNF, ↑IL-10
		7 dias pós-lesão		↑TNF, ↑IL-10
		10 dias pós-lesão		↑TNF, ↑IL-10
		13 dias pós-lesão		↑TNF, ↑IL-10
		16 dias pós-lesão		↑TNF, ↑IL-10
	Liman et al. (2015)	2 dias pós-lesão	Soro	↑TNF, ↑IL-2
	Klafke et al. (2016)	1 dia pós-lesão	Pele da pata	↑TNF
		14 dias pós-lesão		=TNF
	Hsiao et al. (2016)	2 horas após lesão	Pele da pata	↑IL-1 β
	Tang et al. (2017)	2 dias pós-lesão	Soro	♀ ↑IL-2, ↑TNF, ↓IL-4 ♂ ↑IL-2, ↑TNF, ↓IL-4
		7 dias pós-lesão		♀ ↑IL-2, =TNF, ↓IL-4 ♂ ↑IL-2, =TNF, =IL-4
Belmonte et al. (2018)	11 dias pós-lesão	Medula espinal	=TNF, =IL-6, =IL-10, ↑IL-1 β	
Hewedy et al. (2018)	7 dias pós-lesão	Pele da pata	↑TNF, ↑IL-1 β	
Hsiao et al. (2019)	2 horas após lesão	Pele da pata	=TNF, ↑IL-1 β	
	2 dias pós-lesão		↑TNF, ↑IL-1 β	
Chen et al. (2020)	7 dias pós-lesão	Medula espinal	↑IL-1 β	
Seo et al. (2020)	2 semanas pós-lesão	Medula espinal	↑TNF	
Xu et al. (2020)	1 dia pós-lesão	Pele da pata	↑IL-1 β	

Tabela 1 – Mediadores inflamatórios analisados em modelos animais da SDRC.

	Autor	Tempo de análise	Estrutura	Resultados
FRATURA DE TÍBIA		14 dias pós-lesão		↑IL-1β
	Santos et al. (2021)	2 dias pós-lesão	Músculo da pata	↑TNF, ↑IL-1β
	Sabsovich et al. (2008)	4 semanas pós-lesão	Pele da pata	↑TNF
			Osso da tibia	=TNF
			Nervo isquiático	↑TNF
	Sabsovich et al. (2008) [2]	4 semanas pós-lesão	Pele da pata	=TNF, ↑IL-1β, ↑IL-6, =IL-10
	Li et al. (2009)	4 semanas pós-lesão	Pele da pata	↑IL-1β
	Wei et al. (2009)	4 semanas pós-lesão	Pele da pata	↑TNF, ↑IL-1β, ↑IL-6
	Li et al. (2013)	4 semanas pós-lesão	Pele da pata	↑ IL-6, ↑TNF, ↑ NGF, ↑IL-1β
	Guo et al. (2014)	4 semanas pós-lesão	Pele da pata	↑TNF, ↑IL-1β, ↑IL-6, ↑NGF
			Medula espinal	↑ IL-1β, ↑ NGF
	Li et al. (2014)	4 semanas pós-lesão	Pele da pata	↑ IL-6, =TNF, ↑NGF, ↑IL-1β
	Tajerian et al. (2014)	7 semanas pós-lesão	Medula espinal	↓ BDNF
	Li et al. (2015)	1 semana pós-lesão	Medula espinal	↑ IL-6
		4 semanas pós-lesão		↑ IL-6
	Shi et al. (2015)	4 semanas pós-lesão	Medula espinal	↑NGF, ↑TNF, ↑IL-1β, ↑IL-6
	Tajerian et al. (2015)	7 semanas pós-lesão	Amígdala	= BDNF
Córtex perirrinal			↓ BDNF	
Hipocampo			↓ BDNF	
Wei et al. (2016)	4 semanas pós-lesão	Pele da pata	↑TNF, ↑IL-1β, ↑IL-6, ↑NGF	
		Medula espinal	↑TNF, ↑IL-1β, ↑IL-6, ↑NGF	
	16 semanas pós-lesão	Pele da pata	=TNF, =IL-1β, =IL-6, =NGF	
		Medula espinal	↑TNF, ↑IL-1β, =IL-6, ↑NGF	

Tabela 1 – Mediadores inflamatórios analisados em modelos animais da SDRC.

Autor	Tempo de análise	Estrutura	Resultados
Guo et al. (2019)	4 semanas pós-lesão	Pele da pata	↑TNF, ↑IL-1β, ↑IL-6, ↑NGF
		Músculo gastrocnêmio	↑TNF, ↑IL-1β, ↑IL-6, ↑NGF
Li et al. (2018)	3 semanas pós-lesão	Pele da pata	↑TNF, ↑IL-4
Shi et al. (2018)	7 semanas pós-lesão	Pele da pata	=TNF, ↑IL-1β, =IL-6, =NGF
		Medula espinal	↑TNF, ↑IL-1β, ↑IL-6, =NGF
	9 semanas pós-lesão	Pele da pata	=TNF, =IL-1β, =IL-6, =NGF
Medula espinal		=TNF, =IL-1β, ↑IL-6, =NGF	
Lee et al. (2020)	4 semanas pós-lesão	Medula espinal	↑TNF, ↑IL-6
Guo et al. (2021)	3 semanas pós-lesão	Pele da pata	↑IL-1β, ↑IL-6

Fonte: Elaborada pela autora deste trabalho.

Legenda: TNF, fator de necrose tumoral; IL-6, interleucina-6; NGF, fator de crescimento do nervo; IL-1β, interleucina-1beta; BDNF, fator neurotrófico derivado do cérebro; IL-2, interleucina-2; IL-4, interleucina-4; ♀, sexo feminino; ♂, sexo masculino; ↑, aumento; ↓, diminuição; =, manutenção.

1.2.1.5 Fatores psicológicos e sociais

Fatores psicológicos são vastamente explorados na SDRC, principalmente por estes indivíduos apresentarem características clínicas diferentes das de outros indivíduos com dor crônica (CODERRE; BENNETT, 2010). O transtorno psiquiátrico de depressão maior, está presente em 24 a 49% dos indivíduos (OTT; MAIHÖFNER, 2018). Ansiedade, depressão e raiva podem ter impacto direto nos níveis de dor nos indivíduos com SDRC (OTT; MAIHÖFNER, 2018). Esse fator é principalmente relacionado a influência do sistema nervoso simpático e a liberação de catecolaminas, potencializando o acoplamento simpático-aferente (BRUEHL, 2015). Altos níveis de ansiedade também estão correlacionados a um maior risco de desenvolvimento da SDRC após fratura em membro superior (OTT; MAIHÖFNER, 2018).

A presença de alguns fatores de risco é determinante para o desenvolvimento tanto da dor crônica, quanto da SDRC. Dor crônica é fortemente associada com a presença de comorbidades, como obesidade, ansiedade e depressão (REIS; GUIMARÃES; NOGUEIRA; MEZIAT-FILHO *et al.*, 2019). É muito comum vincular depressão, ansiedade, alterações no sono como resultado da dor crônica e de forma discreta associar esses fatores a predisposição dos indivíduos ao desenvolvimento de dor crônica (COHEN; VASE; HOOTEN, 2021). Já quanto aos fatores sociais, destacam-se o baixo nível de educação, os fatores culturais e o suporte social insuficiente (REIS; GUIMARÃES; NOGUEIRA; MEZIAT-FILHO *et al.*, 2019).

1.3 MODELOS ANIMAIS NO ESTUDO DA DOR

Embora o maior nível de evidência venha de revisões sistemáticas e meta-análises de estudos clínicos, estudos pré-clínicos bem validados também colaboram de forma eficiente para elucidar a fisiopatologia da SDRC, como também fornecer oportunidades para testar novas estratégias de tratamento. É crucial testar hipóteses em modelos animais. Por um longo período, os modelos animais da SDRC se concentraram em modelos de dor neuropática, mimetizando a SDRC-II, quando ocorre lesão nervosa

(BRUEHL, 2010). Esses modelos variam entre lesão no nervo isquiático ou no nervo tibial, apresentando sintomas de alteração sensorial, de temperatura e tróficas, assim como na SDRC-II. Modelos animais que representassem a SDRC-I foram sendo desenvolvidos, principalmente nas últimas duas décadas. Dois modelos são utilizados para mimetizar a SDRC-I, a fratura de tibia com imobilização e a isquemia/reperfusão da pata (CODERRE; XANTHOS; FRANCIS; BENNETT, 2004; LI; SABSOVICH; GUO; ZHAO *et al.*, 2009). A literatura demonstra bom potencial em ambos os modelos para estudo da SDRC. Apesar disso, destaca-se a desvantagem da lesão ser artificial no modelo de isquemia/reperfusão, e da regressão natural dos sinais em poucas semanas no modelo de fratura de tibia (BIRKLEIN; SCHLERETH, 2015). Mesmo com suas desvantagens, os modelos utilizados até então colaboraram para que a fisiopatologia da SDRC fosse elucidada. No entanto, se faz necessário estudos que possibilitem comparações entre os modelos disponíveis de SDRC-I ou SDRC-II, validade, vantagens e desvantagens de cada um.

Muitas alterações da SDRC são relacionadas ao SNC e a respostas comportamentais complexas, que não podem ser exploradas em roedores. Como por exemplo, a classificação da dor nociplástica que não pode ser diretamente aplicada a modelos animais, já que por definição a indução do modelo está alterando a atividade dos nociceptores ou causando um dano ao sistema nervoso somatossensorial (SADLER; MOGIL; STUCKY, 2021). Apesar da indução do modelo envolver a hipersensibilização dos tecidos, não está claro quanto há de associação entre o sofrimento e incapacidade funcional do animal que possam contribuir na estabilização do quadro de dor crônica (SADLER; MOGIL; STUCKY, 2021). Assim, a grande maioria da literatura científica desse tópico se concentrou na fisiopatologia periférica e nas respostas comportamentais simples.

Testes operantes, aqueles em que o animal escolhe evitar ou escapar de um estímulo aversivo, estão sendo cada vez mais utilizados como medidas de resultado abrangendo as dimensões afetivas e cognitivas da dor (EWAN; MARTIN, 2013). Na SDRC, alguns estudos avaliaram comportamentos não evocados relacionados à dor, como escavação (DAS; KROIN; MORIC; MCCARTHY *et al.*, 2020), comportamento associado a dor espontânea ou a dor contínua (DE PRÁ; ANTONIAZZI; FERRO; KUDSI

et al., 2019), comportamentos estereotipados e nível de atividade do animal (TAJERIAN; LEU; YANG; HUANG *et al.*, 2015). Outros também abordaram o teste de campo aberto (MAZZARDO-MARTINS; SALM; WINKELMANN-DUARTE; FERREIRA *et al.*, 2018; NUCCI; MAZZARDO-MARTINS; STRAMOSK; BRETHANHA *et al.*, 2012; TEKUS; HAJNA; BORBELY; MARKOVICS *et al.*, 2014). Os aspectos que envolvem a relação da função locomotora com a dor espontânea e a exploração do ambiente com o aspecto emocional da dor crônica são abordados no teste de campo aberto (KREMER; BECKER; BARROT; YALCIN, 2021). Apesar dessas escolhas abordarem comportamentos não evocados, a abrangência dessas análises acaba sendo muito restrita a comportamentos inerentes a dor em roedores que não são passíveis de translação para humanos. Com o intuito de abranger os aspectos cognitivos-emocionais relacionados a dor, se faz necessária a aplicação de testes que necessitem do processamento da dor em áreas corticais.

2 JUSTIFICATIVA

A SDRC-I promove um quadro de alterações sensoriais, além de prejuízo das funções autonômicas e motoras, o que implica diretamente na capacidade de realização das atividades de vida diária e qualidade de vida dos indivíduos afetados. A ocorrência de SDRC após cirurgia eletiva ou emergencial, por exemplo, pode complicar a recuperação e gerenciamento pós-operatório, aumentando a probabilidade de um resultado desfavorável e mais gastos em saúde. Há uma estimativa de que os gastos com dor crônica, seja para tratamento ou por perda de produtividade, seja entre 560 a 635 bilhões de dólares por ano (COHEN; VASE; HOOTEN, 2021). A dor crônica aparece como uma das principais causas de incapacidade física destes indivíduos e contribui para o comprometimento das atividades sociais, familiares e profissionais. Sabe-se que 94,9% dos indivíduos com dor crônica afastam-se do trabalho (KRELING et al., 2006) e ainda, dados do Instituto Nacional do Seguro Social (INSS) brasileiro apontam que 20% dos benefícios concedidos por afastamento do trabalho são destinados a pacientes com dores crônicas (DATAPREV, 2014). Um revisão sistemática recente demonstrou uma prevalência de 45,59% de dor crônica no Brasil (AGUIAR, 2021). Além disso, sabe-se que nem todas as pessoas que têm dor crônica têm suas vidas afetadas da mesma maneira. Mulheres, indivíduos em cenários socioeconômicos pobres e residentes em áreas rurais são mais afetados, características muito comuns na realidade do nosso país (COHEN; VASE; HOOTEN, 2021). Assim, este é um problema de saúde pública, com um importante prejuízo socioeconômico.

No entanto, apesar do alto impacto para a saúde dos indivíduos com SDRC, e da grande parcela da sociedade afetada por quadros de dor crônica, as causas e tratamentos para a SDRC não estão completamente elucidados. A apresentação clínica da fase aguda da SDRC apoia a hipótese de que o desenvolvimento desta condição se deve a uma resposta inflamatória exagerada ao trauma. Entretanto, grande parte dos tratamentos atuais é empregada com foco na diminuição dos sintomas e não nos alvos de desenvolvimento da SDRC. Desta forma, a busca por estratégias terapêuticas com foco no desenvolvimento inicial do processo inflamatório é de extrema importância.

Há um grande número de evidências pré-clínicas explorando a SDRC, no entanto, não há até o presente momento uma síntese dessas evidências, por meio de uma revisão de escopo, para mostrar os diferentes tipos de modelos, utilizados para exploração da SDRC. Com o fornecimento de uma síntese das pesquisas pré-clínicas e respectivas lacunas existentes em determinadas áreas, este estudo apresenta extrema relevância, tanto para auxiliar no direcionamento de futuras pesquisas pré-clínicas, auxiliar na tomada de decisão para translação em pesquisas clínicas, bem como na aplicação dos princípios de redução, substituição e refinamento em pesquisa com animais. Já a elucidação dos mecanismos associados às alterações comportamentais e bioquímicas de um modelo experimental da SDRC, pode colaborar na elucidação da sua fisiopatologia, como também, para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas adequadas, com possibilidade de translação para o ambiente clínico, além de contribuir para o conhecimento dentro da grande área das Neurociências.

3 OBJETIVO GERAL

Fornecer evidência a partir de uma revisão de escopo sobre modelos animais da SDRC e um estudo experimental pré-clínico sobre os mediadores da dor e inflamação em estruturas centrais e periféricas associadas ao desenvolvimento da SDRC-I.

4 CAPÍTULO I

A SDRC leva a um quadro de dor crônica debilitante, com a presença de sinais e sintomas sensoriais, motores e tróficos (BIRKLEIN; DRUMMOND; LI; SCHLERETH *et al.*, 2014). Apesar dos avanços significativos no entendimento da dor, atualmente ainda não há causa identificada, nem etiologia fisiopatológica específica para a SDRC (KESSLER; YOO; CALISOFF, 2020). Também não há teste de imagem, laboratorial, genético ou eletrofisiológico padrão ouro para diagnóstico da SDRC (MESAROLI; HUNDERT; BIRNIE; CAMPBELL *et al.*, 2020). Isso implica diretamente em desafios não apenas para diagnosticar, mas também para definir estratégias de tratamento dos indivíduos que apresentam essa condição debilitante.

Vários estudos têm demonstrado o envolvimento mútuo do sistema imunológico, inflamação e SNC na SDRC, que hoje é considerada um distúrbio neuroimune (DAVID CLARK; TAWFIK; TAJERIAN; KINGERY, 2018). Alguns estudos modelam a fisiopatologia da SDRC classificando como mecanismos periféricos ou centrais (HALICKA; VITTERSØ; PROULX; BULTITUDE, 2020; MARINUS; MOSELEY; BIRKLEIN; BARON *et al.*, 2011). Outros estudos também definem as alterações de acordo com o decurso temporal e as características apresentadas em fases aguda ou crônica (KESSLER; YOO; CALISOFF, 2020). Este progresso veio especialmente de estudos com animais. No entanto, um desafio significativo é a ampla gama de modelos e diferentes parâmetros utilizados, tanto para induzir o modelo quanto para avaliar sinais da SDRC.

Diferentes modelos animais para o estudo da dor, e especialmente da SDRC, foram desenvolvidos nos últimos anos. Os modelos abrangeram os sinais clássicos da SDRC, como também possíveis alterações biológicas. Um modelo animal da SDRC bem delineado pode não só colaborar com o entendimento fisiopatológico da dor, como também, no desenvolvimento de tratamento apropriado. Dessa forma, essa revisão de escopo busca sumarizar as publicações de estudos pré-clínicos da SDRC e fornecer possibilidades de reflexão para o aprimoramento desta área de pesquisa.

4.1 OBJETIVO ESPECÍFICO

Desenvolver uma revisão estruturada e abrangente dos modelos animais utilizados para investigar a SDRC e categorizá-los com base nos objetivos, características dos animais, tipos de lesão e medidas de resultados.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Protocolo e registro

Esta revisão de escopo foi relatada seguindo a extensão da ferramenta PRISMA-ScR (do inglês, *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses for Scoping Reviews*) (TRICCO; LILLIE; ZARIN; O'BRIEN *et al.*, 2018). O protocolo de revisão foi desenvolvido de acordo com as diretrizes SYRCLE (do inglês, *Systematic Review Center for Laboratory Animal Experimentation*) (DE VRIES; HOOIJMANS; LANGENDAM; VAN LUIJK *et al.*, 2015) e adaptado para abordagem metodológica de revisão de escopo proposta pelo Instituto Joanna Briggs (PETERS; GODFREY; KHALIL; MCINERNEY *et al.*, 2015). O protocolo foi publicado para acesso gratuito em junho de 2019 no PROSPERO (CRD42019138839) (Apêndice A) e no SyRF (do inglês, *Systematic Reviews Facility*) (<http://syrf.org.uk/protocols/>) (Apêndice B) com a última atualização feita em abril de 2021.

4.2.2 Critérios de elegibilidade

Os critérios de elegibilidade foram desenvolvidos considerando a questão norteadora desta revisão: Quais são os modelos animais utilizados para mimetizar a SDRC? Os critérios de inclusão consistiram em todos os estudos pré-clínicos (i) desenvolvidos para induzir as características experimentais da SDRC, ou assumidas pelos autores como tal; (ii) que apresentassem um grupo controle; (iii) que realizassem avaliação comportamental relacionada à nocicepção, temperatura, edema ou função,

bem como avaliação do componente bioquímico; (iv) publicados em qualquer idioma e em qualquer data. Os critérios de exclusão compreenderam: (i) estudos pré-clínicos que não desenvolvam as características de SDRC, modelos *ex vivo*, *in vitro* e *in silico*, bem como estudos em humanos; (ii) todos os procedimentos para induzir características, mas não assumido como SDRC; (iii) estudos clínicos, revisões, estudos de caso, estudos *cross-over*, ou estudos pré-clínicos sem grupo controle.

4.2.3 Fontes de informação e busca

A busca eletrônica foi realizada nas bases de dados Medline (PubMed) e *ScienceDirect*. As buscas foram realizadas em setembro de 2019 e uma atualização foi realizada em setembro de 2021. A estratégia de busca completa é baseada em dois componentes chave: “*Complex Regional Pain Syndrome*” e “*Animal Models*”, testados e refinados pela equipe de pesquisa. Não foram aplicados filtros em nenhuma base de dados considerando tipo de publicação, idioma ou ano. A equipe de pesquisa verificou as listas de referências de estudos para verificar possíveis estudos elegíveis adicionais que não foram encontrados pela estratégia de busca. A estratégia de busca completa pode ser verificada no Apêndice C.

4.2.4 Seleção das fontes de evidência

As buscas foram realizadas por um revisor. O título e resumo dos estudos encontrados na busca foram avaliados por dois revisores para inclusão dos estudos relevantes. Ambos os revisores foram cegos quanto os autores, periódicos e resultados dos estudos. Em sequência, os revisores tiveram acesso ao texto completo dos estudos incluídos pelo título e resumo, avaliando quanto aos critérios de elegibilidade. Discordâncias e discrepâncias foram resolvidas por consenso após discussão com um terceiro revisor.

4.2.5 Processo de coleta e organização de dados

O grupo de pesquisadores determinou os dados relevantes a serem extraídos dos estudos. Uma tabela foi utilizada para extrair dados dos estudos incluídos para avaliação síntese de evidências. As informações extraídas incluíram: nome do primeiro autor, ano e periódico de publicação, objetivo principal do estudo, características do modelo animal (linhagem, sexo, idade, peso), características de indução da SDRC, avaliações comportamentais e bioquímicas e outras características relevantes. Os dados ausentes foram solicitados aos autores dos estudos.

4.2.6 Avaliação crítica da evidência

O risco de viés dos estudos incluídos foi avaliado pela ferramenta de risco de viés do SYRCLE (HOOIJMANS; ROVERS; DE VRIES; LEENAARS *et al.*, 2014) por dois revisores. Discordâncias e discrepâncias foram resolvidas por um terceiro revisor. O símbolo “+” foi usado para indicar que o critério foi descrito no estudo e implicava baixo risco de viés, “-” foi usado para indicar que o critério não foi descrito no estudo e implicava alto risco de viés e “?” foi usado para indicar que a descrição foi pouco clara no estudo e implicava um risco pouco claro de viés. Para fins desta revisão de escopo, não classificamos a qualidade dos estudos. A diretriz ARRIVE (do inglês, *Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments*) foi usada para avaliar a qualidade descritiva dos estudos incluídos nesta revisão. Dois revisores avaliaram a qualidade dos relatórios e quaisquer discordâncias ou discrepâncias foram resolvidas por um terceiro revisor. Cada item ARRIVE foi graduado em três níveis descritivos, e os itens descritos na íntegra foram expressos em frequência relativa.

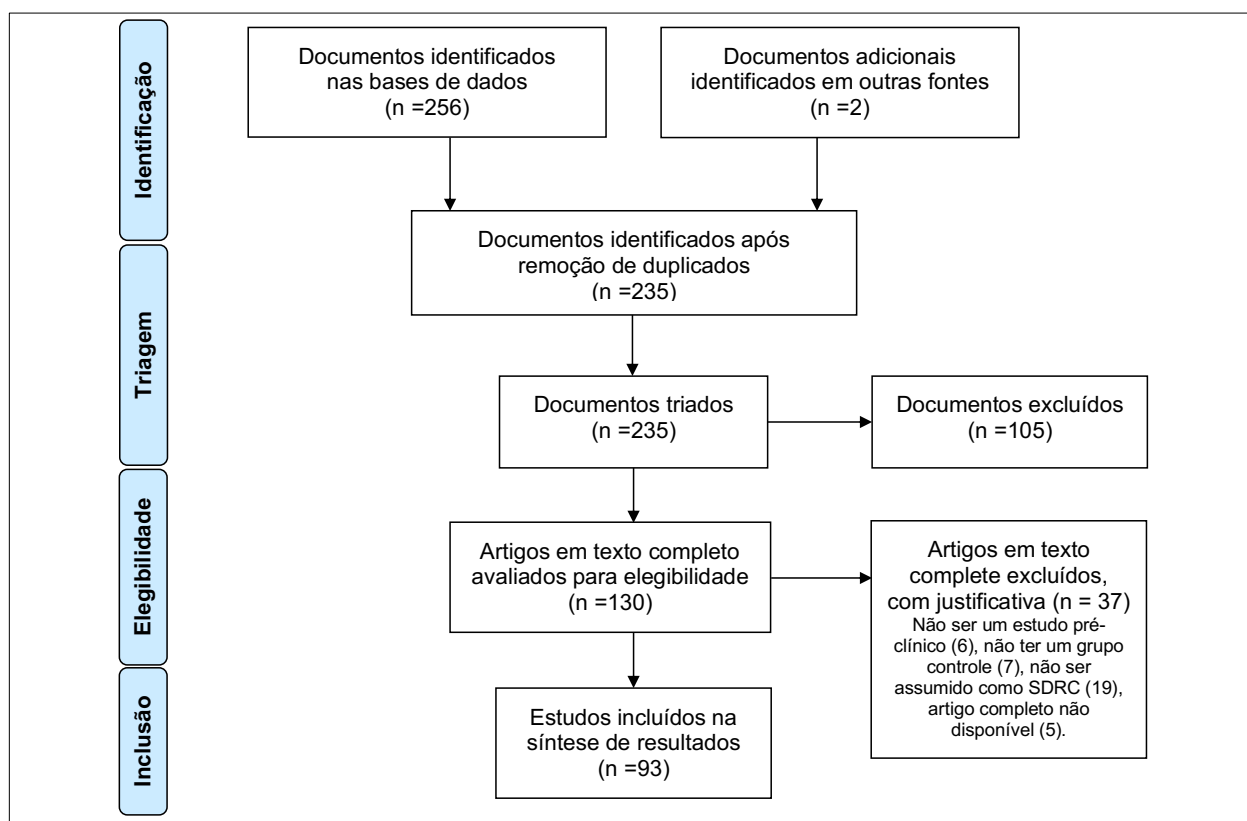
4.2.7 Síntese de resultados

A síntese dos dados foi realizada de acordo com: (i) análise numérica básica sobre o número de estudos e ano de publicação; (ii) resumo dos achados por modelos animais e de tipos de indução; (iii) resumo dos achados por medidas de resultados e (iv) síntese narrativa dos achados para facilitar futuros direcionamentos experimentais.

4.3 RESULTADOS

A busca na base de dados resultou na identificação de 256 estudos e 2 estudos foram adicionados por serem identificados em outras fontes (Figura 3). Após a retirada dos estudos duplicados, 235 estudos tiveram seus títulos e resumos analisados na fase de triagem e 130 foram considerados relevantes para a fase de elegibilidade. Na fase de elegibilidade, 37 estudos foram excluídos por não preencherem os critérios de inclusão e 93 estudos foram incluídos para síntese qualitativa nesta revisão. A lista completa de estudos incluídos na fase de elegibilidade pode ser encontrada no Apêndice D.

Figura 3 – Fluxograma de busca.

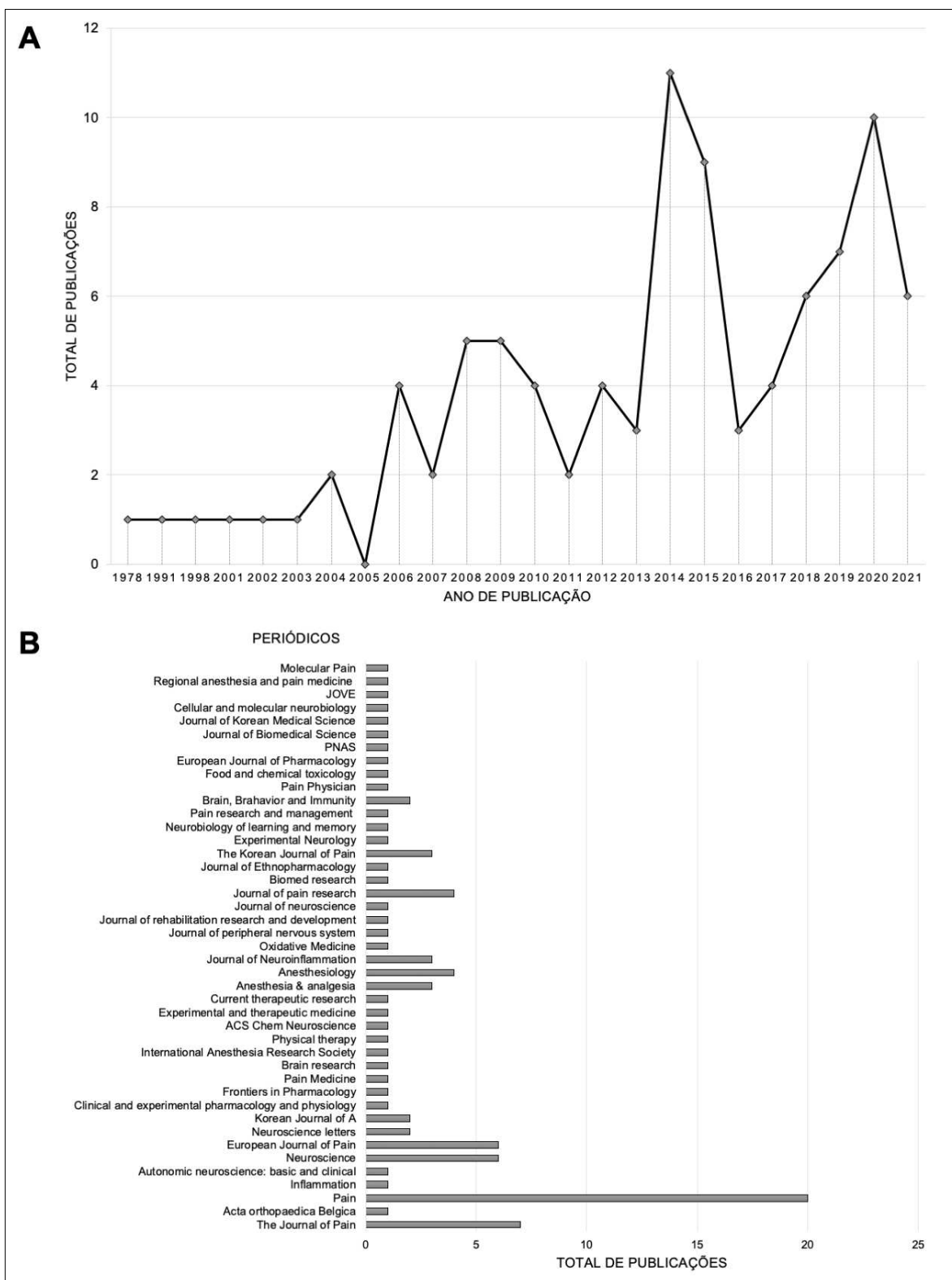


Fonte: Elaborada pela autora deste trabalho.

Os estudos incluídos nesta revisão foram publicados entre 1978 e 2021. Mais da metade (71,4%, 65 estudos) foram publicados na última década (Figura 4A). O maior registro de publicação foi em 2014 e 2020 (12,1%, 11 e 10 estudos em cada ano, respectivamente). Os 93 estudos foram publicados em 43 periódicos diferentes (Figura

4B). *Pain* e *The Journal of Pain* são os periódicos com maior número de publicações, respectivamente com 22% (20 estudos) e 7,7% (7 estudos).

Figura 4 – Publicações por ano e por periódico.



Fonte: Elaborada pela autora deste trabalho.

Legenda: (A) Número de publicações ao longo dos anos e (B) Número de publicações por periódico dos estudos incluídos.

Entre a literatura revisada neste estudo, a SDRC foi explorada para diferentes objetivos, em diferentes espécies, linhagens e características animais, bem como quanto ao modelo de indução. Essas informações estão disponíveis na Tabela 2. Dos 93 estudos pré-clínicos incluídos nesta revisão, 58% (54 estudos) apresentaram seus principais objetivos relacionado a investigação dos modelos de SDRC e suas alterações fisiológicas (Figura 5A). As intervenções farmacológicas foram o segundo objetivo mais explorado, com 28% (26 estudos) e as intervenções fisioterapêuticas foram o terceiro com 7,5% (7 estudos). Para explorar esses objetivos, a maioria dos autores utilizou um n por grupo entre 5 a 8 animais (68%, 63 estudos) (Figura 5B). Considerando que os modelos traumáticos apresentam lesão nervosa e mimetizam a SDRC-II, e os modelos não traumáticos não apresentam lesão nervosa e mimetizam a SDRC-I, 10% dos estudos utilizaram a indução da SDRC-II (11 estudos), enquanto 90% exploraram a indução da SDRC-I (84 estudos) (Figura 5C). Dentre os modelos com lesão nervosa, (três tipos diferentes de indução), a lesão do nervo isquiático é o mais utilizado (64%, 7 estudos) (Figura 5D). Embora mais modelos de indução sejam explorados para modelos da SDRC-I (dez tipos diferentes de indução), dentre os estudos que utilizaram modelos sem lesão nervosa, o modelo de isquemia/reperfusão da pata é o predominante (53,5%, 45 estudos) (Figura 5E). Apenas dois estudos usaram dois modelos de indução diferentes em um mesmo estudo. Gradl et al. (2006) utilizaram a lesão do nervo isquiático como modelo de SDRC-II e trauma tecidual na região da tibia como modelo de SDRC-I. Já Guo et al. (2014) utilizaram dois diferentes tipos de indução de SDRC-I, a fratura da tibia com imobilização e somente imobilização.

Tabela 2 – Objetivo e características dos animais utilizados em modelos da SDR.

AUTOR	OBJETIVO	CARACTERÍSTICAS DOS ANIMAIS					MODELO DE SDR	
		Espécie	Linhagem	Sexo	Idade	Peso	Tipo II	Tipo I
Belmonte et al. (2018)	Fisioterapia	Camundongos	Swiss	Macho	8 semanas	40-50g		Isquemia/Reperusão da pata
Bullens et al. (1998)	Modelo	Ratos	Lewis	Macho	<i>Não descrito</i>	250g	Lesão do nervo isquiático	
Canever et al. (2021)	Fisioterapia	Camundongos	Swiss	<i>Não descrito</i>	<i>Não descrito</i>	40-65g		Isquemia/Reperusão da pata
Chen et al. (2020)	Modelo	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	8-10 semanas	300-320g		Isquemia/Reperusão da pata
Coderre et al. (2004)	Modelo / Farmacologia	Ratos	Long Evans	Macho	<i>Não descrito</i>	275-325g		Isquemia/Reperusão da pata
Cropper et al. (2019)	Modelo	Camundongos	C57/BL6J	Macho	10-11 semanas	25g		Fratura da Tíbia com imobilização
Das et al. (2020)	Farmacologia	Camundongos	C57/BL6J	Macho	10 semanas	20g		Fratura da Tíbia com imobilização
De Mos et al. (2009)	Modelo	Ratos	Long Evans	Macho	<i>Não descrito</i>	275-300g		Isquemia/Reperusão da pata
De Prá et al. (2019)	Farmacologia	Camundongos	C57/BL6J	Macho e Fêmea	<i>Não descrito</i>	20-30g		Isquemia/Reperusão da pata
Denko & Petricevic (1978)	Modelo	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	<i>Não descrito</i>	350-450g		Injeção de cristais na pata
Dong et al. (2015)	Modelo	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	<i>Não descrito</i>	210-270g		Isquemia/Reperusão da pata
Drummond et al. (2014)	Modelo	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	9 Meses	<i>Não descrito</i>		Fratura da Tíbia com imobilização
Drummond et al. (2014) [2]	Modelo	Ratos	Wistar	<i>Não descrito</i>	6-8 semanas	<i>Não descrito</i>	Lesão do nervo isquiático	
Goebel et al. (2011)	Farmacologia	Camundongos	C57BL6	Female	6 semanas	<i>Não descrito</i>		Injeção de IgG
Gonçalves et al. (2021)	Modelo	Camundongos	Swiss	Macho e Fêmea	8-16 semanas	40-60g		Isquemia/Reperusão da pata
Gradl et al. (2006)	<i>Não Descrito</i>	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	<i>Não descrito</i>	225-250g	Lesão do nervo isquiático	Trauma tecidual na região da tíbia
Gradl et al. (2007)	Farmacologia	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	<i>Não descrito</i>	225-250g		Cateterismo na artéria femoral

Tabela 2 – Objetivo e características dos animais utilizados em modelos da SDRC.

AUTOR	OBJETIVO	CARACTERÍSTICAS DOS ANIMAIS					MODELO DE SDRC	
		Espécie	Linhagem	Sexo	Idade	Peso	Tipo II	Tipo I
Guo et al. (2004)	Modelo	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	10 Meses	<i>Não descrito</i>		Fratura da Tíbia com imobilização
Guo et al. (2006)	Farmacologia	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	10 Meses	<i>Não descrito</i>		Fratura da Tíbia com imobilização
Guo et al. (2014)	Modelo	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	9 Meses	<i>Não descrito</i>		Fratura da Tíbia com imobilização ou Imobilização
Guo et al. (2019)	Modelo	Camundongos	C57BL6	Fêmea	12 semanas	<i>Não descrito</i>		Fratura da Tíbia com imobilização
Guo et al. (2020)	Modelo	Camundongos	C57BL6	Macho	12 semanas	<i>Não descrito</i>		Fratura da Tíbia com imobilização
Guo et al. (2021)	Farmacologia	Camundongos	C57BL6	Macho	12 semanas	<i>Não descrito</i>		Fratura da Tíbia com imobilização
Han et al. (2012)	Modelo	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	<i>Não descrito</i>	280-320g		Isquemia/Reperusão da pata
Helyes et al. (2019)	Modelo	Camundongos	C57BL6	Fêmea	<i>Não descrito</i>	<i>Não descrito</i>		Incisão plantar + Injeção de IgG*
Hewedy et al. (2018)	Farmacologia	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	8-9 semanas	200-250g		Isquemia/Reperusão da pata
Hirsch et al. (2017)	Modelo	Camundongos	C57/BL6J	Macho	<i>Não descrito</i>	<i>Não descrito</i>		Fratura da Tíbia com imobilização
Hsiao et al. (2016)	<i>Não descrito</i>	Camundongos	Swiss CD1	Macho	8 semanas	<i>Não descrito</i>		Isquemia/Reperusão da pata
Hsiao et al. (2019)	Farmacologia	Camundongos	Swiss	Macho	7-8 semanas	25-30g		Isquemia/Reperusão da pata
Hu et al. (2019)	Modelo	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	8-10 semanas	300-320g		Isquemia/Reperusão da pata
Hu et al. (2020)	Modelo	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	8-10 semanas	280-320g		Isquemia/Reperusão da pata
Hu et al. (2020) [2]	<i>Fisioterapia</i>	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	8-10 semanas	300-320g		Isquemia/Reperusão da pata
Joseph et al. (2015)	<i>Não descrito</i>	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	<i>Não descrito</i>	200-250g		Isquemia/Reperusão da pata
Kim et al. (2009)	<i>Não descrito</i>	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	<i>Não descrito</i>	280-300g		Isquemia/Reperusão da pata

Tabela 2 – Objetivo e características dos animais utilizados em modelos da SDRC.

AUTOR	OBJETIVO	CARACTERÍSTICAS DOS ANIMAIS					MODELO DE SDRC	
		Espécie	Linhagem	Sexo	Idade	Peso	Tipo II	Tipo I
Kingery et al. (2001)	Farmacologia	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	<i>Não descrito</i>	300-350g	Transecção do nervo isquiático	
Kingery et al. (2002)	Modelo	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	8 semanas	<i>Não descrito</i>		Injeção de capsaicina na pata
Kingery et al. (2003)	Modelo	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	10 Meses	<i>Não descrito</i>	Transecção do nervo isquiático	
Kingery et al. (2010)	Modelo	Ratos	<i>Not described</i>	<i>Não descrito</i>	<i>Não descrito</i>	<i>Não descrito</i>		Fratura da Tíbia com imobilização
Klafke et al. (2016)	Modelo	Ratos	Wistar	Macho	4-8 semanas	200-250g		Isquemia/Reperusão da pata
Klein et al. (2012)	Modelo	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	<i>Não descrito</i>	200-250g	Lesão do nervo tibial	
Kwak et al. (2011)	Farmacologia	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	<i>Não descrito</i>	280-320g		Isquemia/Reperusão da pata
Kwak et al. (2014)	Modelo	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	<i>Não descrito</i>	280-320g		Isquemia/Reperusão da pata
Laferriere et al. (2008)	Modelo	Ratoss	<i>Não descrito</i>	<i>Não descrito</i>	<i>Não descrito</i>	<i>Não descrito</i>		Isquemia/reperusão da pata
Laferriere et al. (2014)	Farmacologia	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	<i>Não descrito</i>	225-250g		Isquemia/Reperusão da pata
Lee et al. (2020)	Farmacologia	Camundongos	C57/BL6J	Macho	12-14 semanas	<i>Não descrito</i>		Fratura da Tíbia com imobilização
Lee et al. (2020) [2]	Farmacologia	Camundongos	C57/BL6J	Macho	<i>Não descrito</i>	25-30g		Isquemia/Reperusão da pata
Li et al. (2009)	Modelo	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	9 Meses	<i>Não descrito</i>		Fratura da Tíbia com imobilização
Li et al. (2012)	<i>Não descrito</i>	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	9 Meses	480-520g		Fratura da Tíbia com imobilização
Li et al. (2013)	<i>Não descrito</i>	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	9 Meses	480-520g		Fratura da Tíbia com imobilização
Li et al. (2014)	Modelo	Camundongos	C57/BL6J	Macho	8-12 semanas	25-30g		Fratura da Tíbia com imobilização

Tabela 2 – Objetivo e características dos animais utilizados em modelos da SDRC.

AUTOR	OBJETIVO	CARACTERÍSTICAS DOS ANIMAIS					MODELO DE SDRC	
		Espécie	Linhagem	Sexo	Idade	Peso	Tipo II	Tipo I
Li et al. (2015)	Modelo	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	9 Meses	480-520g		Fratura da Tíbia com imobilização
Li et al. (2018)	Modelo	Camundongos	C57BL6	Macho	12 semanas	25-30g		Fratura da Tíbia com imobilização
Li et al. (2021)	Modelo	Camundongos	C57BL6	Macho	8-12 semanas	Não descrito		Fratura da Tíbia com imobilização
Liman et al. (2015)	Farmacologia	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	Não descrito	270-300g		Isquemia/Reperusão da pata
Martins et al. (2013)	Fisioterapia	Camundongos	Swiss	Macho	8 semanas	25-35g		Isquemia/Reperusão da pata
Martins et al. (2015)	Farmacologia	Camundongos	Swiss	Macho	8 semanas	25-35g		Isquemia/Reperusão da pata
Mazzardo-Martins et al. (2018)	Fisioterapia	Camundongos	Swiss	Fêmea	8 semanas	25-35-g		Isquemia/Reperusão da pata
Millecamps et al. (2010)	Modelo	Camundongos	Swiss	Macho	8 semanas	Não descrito		Isquemia/Reperusão da pata
Muneshige et al. (2006)	Procedimento	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	Não descrito	200-250g	Lesão do nervo isquiático	
Muthuraman et al. (2010)	Modelo	Ratos	Wistar	Macho	8-10 semanas	180-250g		Isquemia/reperusão da artéria femoral
Nahm et al. (2014)	Modelo	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	8 semanas	200-250g		Isquemia/Reperusão da pata
Nahm et al. (2019)	Modelo	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	8 semanas	200-250g		Isquemia/Reperusão da pata
Nahm et al. (2020)	Modelo	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	8 semanas	200-250g		Isquemia/Reperusão da pata
Nie et al. (2021)	Modelo	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	Não descrito	300-320g		Isquemia/Reperusão da pata
Nucci et al. (2012)	Farmacologia	Camundongos	Swiss	Macho	8 semanas	25-35-g		Isquemia/Reperusão da pata
Ota et al. (2014)	Modelo	Ratos	Wistar	Macho	10 semanas	350g	Lesão do nervo isquiático	
Ragavendran et al.(2013)	Farmacologia	Ratos	Long Evans	Macho	Não descrito	225-250g		Isquemia/Reperusão da pata
Ragavendran et al.(2014)	Farmacologia	Ratos	Long Evans	Macho	Não descrito	275-300g		Isquemia/Reperusão da pata

Tabela 2 – Objetivo e características dos animais utilizados em modelos da SDRC.

AUTOR	OBJETIVO	CARACTERÍSTICAS DOS ANIMAIS					MODELO DE SDRC	
		Espécie	Linhagem	Sexo	Idade	Peso	Tipo II	Tipo I
Ryu et al. (2010)	Modelo	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	<i>Não descrito</i>	280-320g		Isquemia/Reperusão da pata
Sabsovich et al. (2008)	Modelo	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	10 Meses	<i>Não descrito</i>		Fratura da Tíbia com imobilização
Sabsovich et al. (2008) [2]	Modelo	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	10 Meses	480-520g		Fratura da Tíbia com imobilização
Santos et al. (2021)	Farmacologia	Camundongos	Swiss	Macho	12 semanas	28-32g		Isquemia/Reperusão da pata
Schiller et al. (2015)	<i>Não descrito</i>	Ratos	Long Evans	Macho	<i>Não descrito</i>	250-450g		Isquemia/Reperusão da pata
Seo et al. (2020)	Modelo	Camundongos	C57/BL6	Macho	<i>Não descrito</i>	<i>Não descrito</i>		Isquemia/Reperusão da pata
Shi et al. (2015)	Modelo	Ratos/Camundongos	Sprague-Dawley /C57BL-6	Macho	9 Meses / 12 semanas	<i>Não descrito</i>		Fratura da Tíbia com imobilização
Shi et al. (2018)	Fisioterapia	Camundongos	C57/BL6J	Macho	12 semanas	<i>Não descrito</i>		Fratura da Tíbia com imobilização
Shir & Seltzer (1991)	Modelo	Ratos	Sabra	Macho	<i>Não descrito</i>	300-350g	Lesão do nervo isquiático	
Siegel et al. (2007)	Modelo	Ratos	Sprague-Dawley	<i>Não descrito</i>	<i>Não descrito</i>	200-250g	Lesão do nervo tibial	
Somers & Clemente (2006)	Fisioterapia	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	<i>Não descrito</i>	170-200g	Lesão do nervo isquiático	
Tajerian et al. (2014)	Modelo	Camundongos	C57/BL6	Macho	12-14 semanas	<i>Não descrito</i>		Fratura da Tíbia com imobilização
Tajerian et al. (2015)	Farmacologia	Camundongos	C57/BL6	Macho	12-14 semanas	<i>Não descrito</i>		Fratura da Tíbia com imobilização
Tajerian et al. (2015)[2]	Modelo	Camundongos	C57/B6	Macho e Fêmea	12-14 semanas	<i>Não descrito</i>		Fratura da Tíbia com imobilização

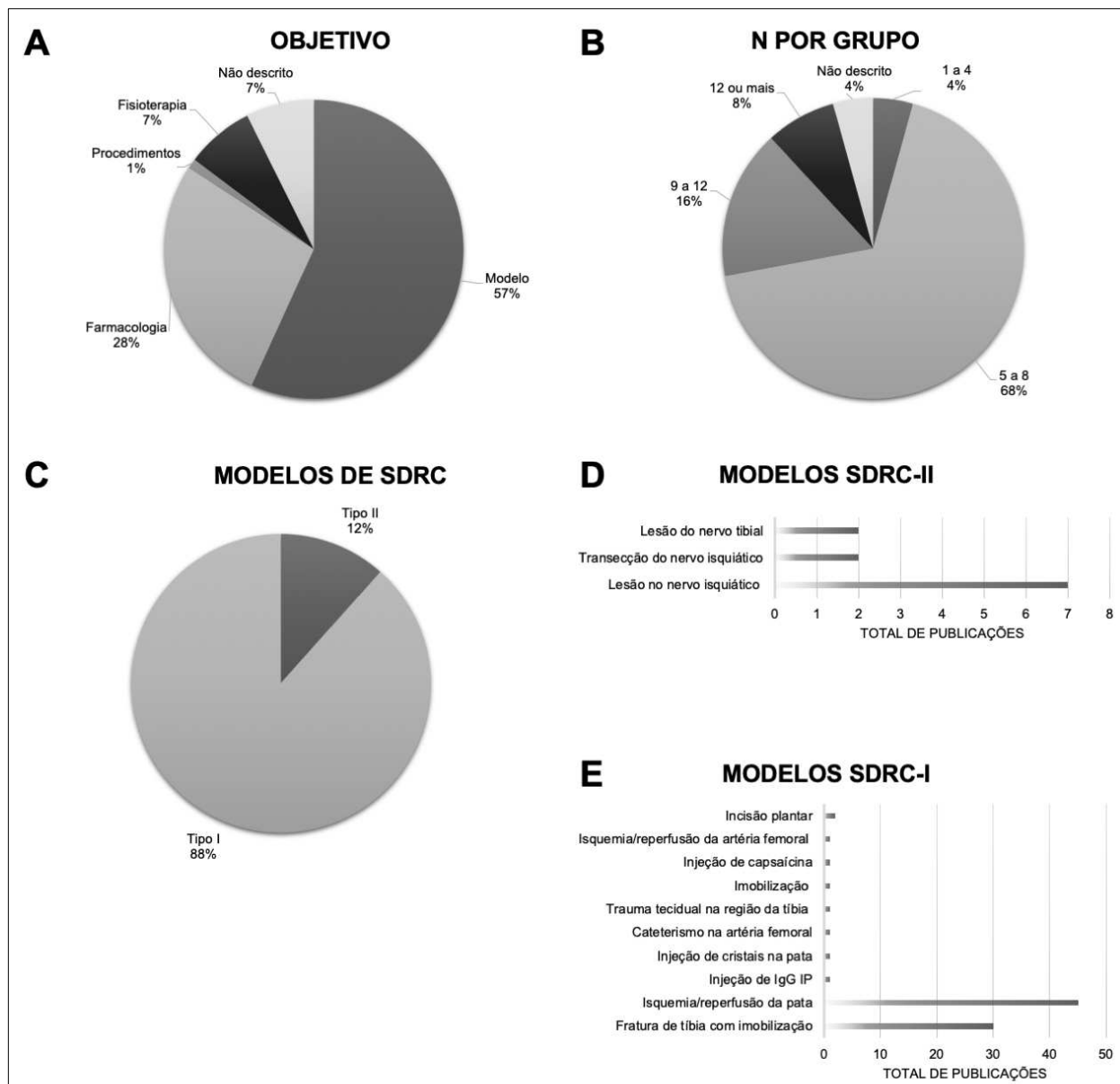
Tabela 2 – Objetivo e características dos animais utilizados em modelos da SDRC.

AUTOR	OBJETIVO	CARACTERÍSTICAS DOS ANIMAIS					MODELO DE SDRC	
		Espécie	Linhagem	Sexo	Idade	Peso	Tipo II	Tipo I
Tajerian et al. (2017)	Modelo	Camundongos	C57BL/6	Macho	12-14 semanas	<i>Não descrito</i>		Fratura da Tíbia com imobilização
Tang et al. (2017)	Modelo	Camundongos	C57BL/6	Macho e fêmea	<i>Não descrito</i>	28-30g		Isquemia/Reperusão da pata
Tékus et al. (2014)	Modelo	Camundongos	C57BL/6	Fêmea	8-10 semanas	18-23g		Incisão plantar
Wei et al. (2009)	Modelo	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	10 Meses	<i>Não descrito</i>		Fratura da Tíbia com imobilização
Wei et al. (2009) [2]	Farmacologia	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	10 Meses	480-520g		Fratura da Tíbia com imobilização
Wei et al. (2016)	Modelo	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	9 Meses	<i>Não descrito</i>		Fratura da Tíbia com imobilização
Xanthos et al. (2008)	Farmacologia	Ratos	Long Evans	Macho	<i>Não descrito</i>	275-325g		Isquemia/Reperusão da pata
Xanthos et al. (2008) [2]	Farmacologia	Ratos	Long Evans	Macho	<i>Não descrito</i>	275-325g		Isquemia/Reperusão da pata
Xu et al. (2020)	Modelo	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	6-7 semanas	200-220g		Isquemia/Reperusão da pata
Yeo et al. (2017)	Farmacologia	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	<i>Não descrito</i>	320-340g		Isquemia/Reperusão da pata
Yeo et al. (2018)	Farmacologia	Ratos	Sprague-Dawley	Macho	<i>Não descrito</i>	320-340g		Isquemia/Reperusão da pata

Fonte: Elaborada pela autora deste trabalho.

Legenda: IgG*, imunoglobulina G de indivíduos com SDRC.

Figura 5 – Objetivos, número de animais por grupo e modelos de indução da SDRC utilizados nos estudos incluídos na revisão.



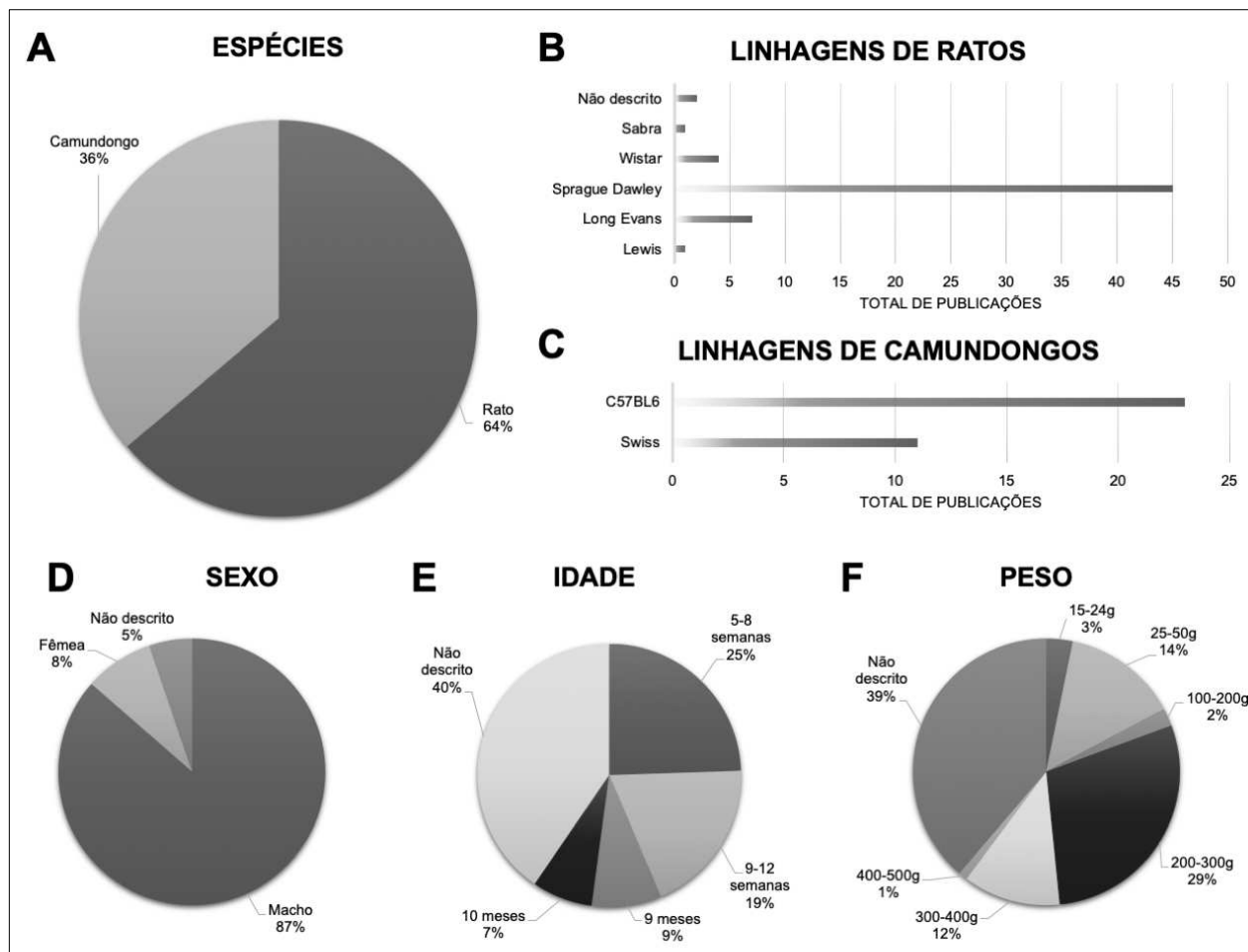
Fonte: Elaborada pela autora deste trabalho.

Legenda: (A) Frequência de objetivo principal de estudos incluídos; (B) número de animais por grupo utilizado; (C) modelo de SDRC classificado em traumático ou não traumático, (D) número de publicações para cada tipo de modelo traumático ou (E) modelo não traumático. SDRC, Síndrome da Dor Regional Complexa; IP, intraperitoneal; IgG, imunoglobulina G.

Entre as espécies animais que foram utilizadas nos estudos incluídos nesta revisão, 60 estudos utilizaram ratos (64%) e 34 estudos utilizaram camundongos (36%) (Figura 6A). Shi et al. (2015) foi o único estudo a explorar o modelo da SDRC em duas

espécies diferentes, ratos e camundongos. As linhagens escolhidas para ratos incluíram Sabra, Wistar, Lewis, Long Evans e a mais comum dentre estas, Sprague Dawley (76%, 45 estudos) (Figura 6B). Entre os 34 estudos que utilizaram camundongos, C57BL6 e Swiss foram as linhagens com 67% (23 estudos) e 33% (11 estudos) utilizadas, respectivamente (Figura 6C). A maioria dos estudos utilizou animais machos para explorar os modelos da SDRC (89%, 83 estudos), sendo que apenas 9% (8 estudos) utilizaram fêmeas (Figura 6D). Apenas três estudos (DE PRÁ; ANTONIAZZI; FERRO; KUDSI *et al.*, 2019; GONÇALVES; VIEIRA; GONÇALVES; SIMÕES *et al.*, 2021; TAJERIAN, MARAL; SAHBAIE, PEYMAN; SUN, YUAN; LEU, DAVID *et al.*, 2015) exploraram modelos animais da SDRC em machos e fêmeas. A idade mais relatada nos estudos foi de 5-8 semanas (24%, 23 estudos), apesar de a maioria dos estudos não descrever a idade dos animais (43%, 38 estudos) (Figura 6E). Da mesma forma, o peso dos animais também não foi descrito na maioria dos estudos (39%, 36 estudos), no entanto, naqueles que relataram, a faixa de peso mais citada foi de 200 a 300g (30%, 27 estudos) (Figura 6F).

Figura 6 – Espécies, linhagens, sexo, idade e peso dos animais utilizados para estudo da SDRC.



Fonte: Elaborada pela autora deste trabalho.

Legenda: (A) Frequência de espécie de animal utilizada; (B) número de publicações com cada linhagem de camundongo; (C) número de publicações com cada linhagem de rato; frequência de (D) sexo (E) idade em semanas ou meses e (F) peso em gramas.

As avaliações comportamentais foram classificadas entre os sinais clássicos da SDRC: nocicepção, edema, temperatura, função ou outros e podem ser conferidos de forma integral na Tabela 3. Apenas quatro estudos dos 93 incluídos nesta revisão (4%) não aplicaram nenhuma avaliação comportamental (BULLENS; DAEMEN; FRELING; KITSLAAR *et al.*, 1998; DRUMMOND; DRUMMOND; DAWSON; MITCHELL *et al.*, 2014; TAJERIAN, MARAL; HUNG, VICTOR; KHAN, HAMDA; LAHEY, LAUREN J. *et al.*, 2017; WEI; LI; GUO; ZHAO *et al.*, 2009) (Figura 7A). A nocicepção mecânica foi avaliada em 93,5% dos estudos (87 estudos), utilizando um ou mais testes para essa finalidade.

Edema e perda de função são, respectivamente, o segundo e o terceiro sinais mais avaliados, em 46% (43 estudos) e 38% (35 estudos) dos estudos. As avaliações biológicas incluíram qualquer tipo de análise das estruturas biológicas do animal. A avaliação biológica mais frequente foi referente a análises bioquímicas, presentes em 54 estudos (57%), incluindo testes de imunoensaio enzimático, Western Blotting e reação em cadeia da polimerase (do inglês, *polimerase chain reaction*, PCR (Figura 7B). Avaliações histológicas como coloração e marcação, e imunoistoquímica também foram exploradas em 23% (22 estudos) e 18% (17 estudos) dos estudos, respectivamente. Com relação às avaliações neurofisiológicas, apenas Hirsch et al. (2017) e Muthuraman et al. (2010) exploraram aspectos de condução neuronal, representando apenas 2,2% dos estudos incluídos nesta revisão (Figura 7C). O uso de avaliações de imagem ocorreu em 9 estudos. Dentre as técnicas estavam presentes radiografia em 4% (4 estudos) e tomografia computadorizada em 5% (5 estudos) (Figura 7D).

Tabela 3 – Avaliações utilizadas para verificar os sinais clássicos da SDRC.

AUTOR	SINAIS	MEDIDAS DE AVALIAÇÃO	
		Biológicas	Neurofisiologia ou Imagem
Belmonte et al. (2018)	Nocicepção mecânica: von Frey	Análises bioquímicas: TNF, IL-1 β , IL-6, IL-10, MDA, proteínas carboniladas, SOD, CAT, ERK1/2 e AKT1/2/3 na medula espinal	
Bullens et al. (1998)		Coloração e marcação: colinesterase axonal no nervo isquiático	
Canever et al. (2021)	Nocicepção mecânica: von Frey Nocicepção térmica ao calor: Hargreaves Hiperemia: câmara termográfica Edema: micrômetro digital Função: índice funcional do isquiático		
Chen et al. (2020)	Nocicepção mecânica: von Frey Edema: micrômetro digital	Análises bioquímicas: IL-1 β , NLRP3, CASPASE-1 e genes na medula espinal Imunofluorescência: GFAP e OX42 na medula espinal	
Coderre et al. (2004)	Nocicepção mecânica: von Frey; picada de alfinete Nocicepção térmica ao frio: teste da acetona Nocicepção térmica ao calor: Hargreaves Hiperemia: sensor de temperatura	Coloração e marcação: mastócitos no nervo tibial	
Cropper et al. (2019)	Nocicepção mecânica: von Frey Hiperemia: sensor de temperatura Edema: sensor laser Função: dispositivo de incapacidade	Coloração e marcação: radioatividade gama no sangue, medula espinal e encéfalo; CD11b e TSPO na medula espinal Imunoistoquímica: CD11-b, TSPO, GFAP, CD3 na medula espinal	TC: medula espinal, tíbia e encéfalo
Das et al. (2020)	Nocicepção mecânica: von Frey Edema: micrômetro manual Outros: atividade de escavar	Imunoistoquímica: AMPKa, mTOR, RS6, EIF2 α na medula espinal	
De Mos et al. (2009)	Nocicepção mecânica: von Frey Nocicepção térmica ao frio: teste da acetona	Análises bioquímicas: NFkB no músculo e na medula espinal	
De Prá et al. (2019)	Nocicepção mecânica: von Frey Nocicepção térmica ao frio: teste da acetona Hiperemia: termômetro infra-vermelho Edema: micrômetro digital Função: Rotarod	Análises bioquímicas: lactato, NAGase e MPO na pele Coloração e marcação: células polimorfonucleares	

Tabela 3 – Avaliações utilizadas para verificar os sinais clássicos da SDRC.

AUTOR	MEDIDAS DE AVALIAÇÃO		
	SINAIS	BIOLÓGICAS	NEUROFISIOLOGIA OU IMAGEM
	Outros: comportamento associado a dor contínua, comportamento associado a dor espontânea	Análises vasculares: fluxo de sangue por ultrassom	
Denko & Petricevic (1978)	Hiperemia: sensor de temperatura Edema: ferramenta de precisão dial		
Dong et al. (2015)	Nocicepção mecânica: von Frey Nocicepção térmica ao frio: teste da acetona	Imunoistoquímica: GRK2 nos gânglios da medula espinal	
Drummond et al. (2014)	Nocicepção mecânica: von Frey Hiperemia: sensor de temperatura Edema: sensor laser Função: dispositivo de incapacidade	Imunoistoquímica: CGRP, NF200, α 1-AR no nervo isquiático e na pele	
Drummond et al. (2014) [2]		Imunoistoquímica: α 1-AR, TUJ1, CGRP, NF200, MBP, SMA no nervo isquiático e na pele	
Goebel et al. (2011)	Nocicepção mecânica: von Frey Nocicepção térmica ao frio: placa fria Nocicepção térmica ao calor: Hargreaves Função: Rotarod		
Gonçalves et al. (2021)	Nocicepção mecânica: von Frey Nocicepção térmica ao frio: teste da acetona Edema: micrômetro digital	Análises bioquímicas: BK na medula espinal e pata	
Gradl et al. (2006)	Nocicepção mecânica: von Frey Nocicepção térmica ao calor: placa quente/fria	Coloração e marcação: NADH, leucócitos e células apoptóticas no músculo, nervo isquiático e vasos	
Gradl et al. (2007)	Nocicepção mecânica: von Frey Nocicepção térmica ao calor: placa quente/fria Hiperemia: eletrodo de superfície Edema: imersão da pata em cilindro de água	Coloração e marcação: leucócitos no músculo e vasos	
Guo et al. (2004)	Nocicepção mecânica: von Frey Nocicepção térmica ao calor: raio quente Hiperemia: sensor de temperatura Edema: micrômetro manual, sensor laser	Coloração e marcação: mastócitos na pele e músculo	Radiografia: tíbia e fêmur
Guo et al. (2006)	Nocicepção mecânica: von Frey Hiperemia: sensor de temperatura Edema: sensor laser Função: dispositivo de incapacidade	Coloração e marcação: mastócitos na pata	Radiografia: tíbia e fêmur
Guo et al. (2014)	Nocicepção mecânica: von Frey Hiperemia: sensor de temperatura Edema: sensor laser	Imunoistoquímica: BrdU e c-Fos na pele e medula espinal	

Tabela 3 – Avaliações utilizadas para verificar os sinais clássicos da SDRC.

AUTOR	SINAIS	MEDIDAS DE AVALIAÇÃO	
		BIOLÓGICAS	NEUROFISIOLOGIA OU IMAGEM
Guo et al. (2019)	Função: dispositivo de incapacidade	Análises bioquímicas: substância P, CGRP, TNF, IL-1 β , IL-6, NGF na pele, nervo isquiático e medula espinal	
	Nocicepção mecânica: von Frey	Análises bioquímicas: IL-1 β , IL-6, TNF, CCL-2, NGF, substância P, NK1, TACR1, CGRP, CALCA, CGRPb, RAMP1, CALCRL, IgM na pele, nervo isquiático e medula espinal	
Guo et al. (2020)	Função: dispositivo de incapacidade		
	Nocicepção mecânica: von Frey Hiperemia: sensor de temperatura Edema: sensor laser		
Guo et al. (2021)	Função: dispositivo de incapacidade		
	Nocicepção mecânica: von Frey Hiperemia: sensor de temperatura Edema: sensor laser	Análises bioquímicas: IL-1, IL-6, MDA, 4-hidroxinonenal, IgM na pele Coloração e marcação: linfonodos	
Han et al. (2012)	Função: dispositivo de incapacidade		
Helyes et al. (2019)	Nocicepção mecânica: von Frey	Análises bioquímicas: MDA e p-NR1 na medula espinal Análises bioquímicas: NGF, TGF- β , MPO na pele Imunofluorescência: IL-1 α , IL-1 β , Iba1 no encéfalo Imunoistoquímica: GFAP e Iba1 na medula espinal	
Hewedy et al. (2018)	Nocicepção mecânica: von Frey; picada de alfinete Nocicepção térmica ao frio: teste da acetona	Análises bioquímicas: MDA, GSH, TNF, IL-1 β na pele	
Hirsch et al. (2017)	Nocicepção mecânica: von Frey Hiperemia: sensor de temperatura Edema: sensor laser Função: dispositivo de incapacidade		Condução: atividade neuronal dos segmentos da pata na medula espinal
Hsiao et al. (2016)	Nocicepção mecânica: von Frey	Análises bioquímicas: HIF-1 α e IL-1 β na pele	
Hsiao et al. (2019)	Nocicepção mecânica: von Frey	Análises bioquímicas: HIF-1 α , IL-1 β , caspase-1, NALP-3, NFkB, Ikb- α , TNF, ROS e MPO na pele e medula espinal	
Hu et al. (2019)	Nocicepção térmica ao calor: Hargreaves		
	Nocicepção mecânica: von Frey Nocicepção térmica ao calor: Hargreaves Hiperemia: termômetro retal Edema: micrômetro digital	Análises bioquímicas: TRPV-1 na medula espinal	

Tabela 3 – Avaliações utilizadas para verificar os sinais clássicos da SDRC.

AUTOR	MEDIDAS DE AVALIAÇÃO		
	SINAIS	BIOLÓGICAS	NEUROFISIOLOGIA OU IMAGEM
	Função: Rotarod	Imunofluorescência: TRPV-1, GFAP, OX42, NeuN na medula espinal	
Hu et al. (2020)	Nocicepção mecânica: von Frey Nocicepção térmica ao calor: Hargreaves Edema: micrômetro digital Outros: comportamentos evocados por capsaïcina		
Hu et al. (2020b)	Nocicepção mecânica: analgesímetro digital Edema: micrômetro digital	Análises bioquímicas: CXCL 12, CXCR4, p-ERK, ERK na medula espinal Imunofluorescência: CXCL 12, CXCR4, GFAP, OX42, cFOS, NeuN na medula espinal	
Joseph et al. (2015)	Nocicepção mecânica: analgesímetro digital		
Kim et al. (2009)	Nocicepção mecânica: von Frey	Análises bioquímicas: CytC, SOD, p-NR1 no plasma e medula espinal	
Kingery et al. (2001)	Edema: micrômetro manual, pletismógrafo	Coloração e marcação: mastócitos na pele	
Kingery et al. (2002)	Nocicepção mecânica: von Frey Nocicepção térmica ao calor: placa Peltier Edema: micrômetro manual Outros: comportamentos autônômicos	Coloração e marcação: mastócitos na pele	
Kingery et al. (2003)	Nocicepção mecânica: von Frey Hiperemia: sensor de temperatura Edema: micrômetro manual	Coloração e marcação: mastócitos na pele	Radiografia: tibia e fêmur
Kingery et al. (2010)	Nocicepção mecânica: não descrito Hiperemia: não descrito Edema: não descrito Função: não descrito	Coloração e marcação: mastócitos, NK1, CD3, queratina, IL-1 β na pele	
Klafke et al. (2016)	Nocicepção mecânica: von Frey Nocicepção térmica ao frio: teste da acetona Nocicepção térmica ao calor: Hargreaves Edema: micrômetro digital	Análises bioquímicas: lactato, albumina, TNF, NAGase, MPO, 4-HNE, TRPA1 no soro, pele e medula espinal	
Klein et al. (2012)	Nocicepção mecânica: von Frey	Coloração e marcação: nervo tibial	
Kwak et al. (2011)	Nocicepção mecânica: von Frey	Análises bioquímicas: MDA e p-NR1 na medula espinal	
Kwak et al. (2014)	Nocicepção mecânica: von Frey	Análises bioquímicas: pNR1 na medula espinal	

Tabela 3 – Avaliações utilizadas para verificar os sinais clássicos da SDRC.

AUTOR	SINAIS	MEDIDAS DE AVALIAÇÃO	
		BIOLÓGICAS	NEUROFISIOLOGIA OU IMAGEM
Lafferriere et al. (2008)	Nocicepção mecânica: von Frey	Análises bioquímicas: TNF, IL-6, IL-1 β e NF κ B no músculo da pata Análises vasculares: fluxo sanguíneo por laser doppler na pata Coloração e marcação: neurônio na pele e no músculo da pata	
Lafferriere et al. (2014)	Nocicepção mecânica: von Frey	Análises vasculares: fluxo sanguíneo por laser doppler na pata	
Lee et al. (2020)	Nocicepção mecânica: von Frey	Análises bioquímicas: GAPDH, IL-6, TNF, CCL2 na medula espinal Imunoistoquímica: GFAP na medula espinal	
Lee et al. (2020) [2]	Nocicepção mecânica: von Frey	Imunofluorescência: GFAP na medula espinal	
Li et al. (2009)	Nocicepção mecânica: von Frey Hiperemia: sensor de temperatura Edema: sensor laser Função: dispositivo de incapacidade	Imunoistoquímica: IL-1 β e NGF na pele Análises bioquímicas: cálcio, fósforo, sódio, potássio, cloreto, glicose, nitrogênio ureico, creatinina, albumina, proteína total, colesterol, triglicerídeos, HDL, fosfatase alcalina, alanina fosfatase, aspartato transaminase, glutamil transpeptidase, bilirrubina total, creatinina fosfoquinase no soro	TC: fêmur e vértebra lombar
Li et al. (2012)	Nocicepção mecânica: von Frey Hiperemia: sensor de temperatura Edema: sensor laser	Coloração e marcação: mastócitos, queratinócitos, glicoproteínas, receptores NK-1 na pele	
Li et al. (2013)	Nocicepção mecânica: von Frey Hiperemia: sensor de temperatura Edema: sensor laser Função: dispositivo de incapacidade	Análises bioquímicas: IL-6, IL-1 β , TNF, NGF, β 2AR, p-38, p-ERK, p-JNK, NF κ B, p-65 na pele	
Li et al. (2014)	Nocicepção mecânica: von Frey Hiperemia: Sensor de temperatura Edema: sensor laser Função: dispositivo de incapacidade	Análises bioquímicas: CD3, CD4, CD8, IL-1 β , IL-6, TNF, NGF, C5B-9 no soro, pele e nervo isquiático Coloração e marcação: células B no baço, pele, tíbia e nervo isquiático	
Li et al. (2015)	Nocicepção mecânica: von Frey Hiperemia: sensor de temperatura Edema: sensor laser Função: dispositivo de incapacidade	Análises bioquímicas: CCL-2, MMP3, CD163, IL-6, CD68, CSF1R na medula espinal Imunoistoquímica: Iba1 e GFAP na medula espinal	

Tabela 3 – Avaliações utilizadas para verificar os sinais clássicos da SDRC.

AUTOR	SINAIS	MEDIDAS DE AVALIAÇÃO	
		BIOLÓGICAS	NEUROFISIOLOGIA OU IMAGEM
Li et al. (2018)	Nocicepção mecânica: von Frey Função: dispositivo de incapacidade	Análises bioquímicas: IgM, CCL2, TNF, IL-4, GM-CSF na pele, nervo isquiático e medula espinal Coloração e marcação: células de Langherans e CGRP na pele	
Li et al. (2021)	Nocicepção mecânica: von Frey Hiperemia: sensor de temperatura Edema: sensor laser Função: dispositivo de incapacidade	Análises vasculares: tamanho do linfonodo poplíteo Análises bioquímicas: IL-6 e IgM na pele e linfonodo Imunofluorescência: células T e B no linfonodo poplíteo Imunoistoquímica: CD38, CD43, CD19, IgG1, IgM, CD95, CD11b, Gr1, TCRab, CD11c, CD3e, F4-80 no linfonodo poplíteo Análises vasculares: tamanho do linfonodo poplíteo	
Liman et al. (2015)	Nocicepção mecânica: von Frey Nocicepção térmica ao calor: raio de calor Nocicepção térmica ao frio: teste da acetona Hiperemia: sensor de temperatura Edema: micrômetro manual	Análises bioquímicas: TNF e IL-2 no soro	
Martins et al. (2013)	Nocicepção mecânica: von Frey		
Martins et al. (2015)	Nocicepção mecânica: von Frey Função: Rotarod		
Mazzardo-Martins et al. (2018)	Nocicepção mecânica: von Frey Nocicepção térmica ao frio: teste da acetona Hiperemia: câmara termográfica Edema: micrômetro digital Função: campo aberto	Análises bioquímicas: rETb no músculo e medula espinal	
Millicamps et al. (2010)	Nocicepção mecânica: von Frey Nocicepção térmica ao frio: teste da acetona	Análises bioquímicas: rETa e rETb na pele e músculo Imunoistoquímica: rETa e rETb na pele	
Muneshige et al. (2006)	Nocicepção mecânica: von Frey Nocicepção térmica ao calor: Hargreaves		
Muthuraman et al. (2010)	Nocicepção mecânica: picada de alfinete; movimento da cauda Nocicepção térmica ao calor: Hargreaves; imersão em água quente	Análises bioquímicas: nitrato, MDA, TNF e IL-10 no soro Coloração e marcação: densidade das fibras nervosas do nervo isquiático	Condução: estimulação sensorial e motora do nervo isquiático
Nahm et al. (2014)	Nocicepção mecânica: von Frey	Análises bioquímicas: expressão de proteínas no encéfalo	
Nahm et al. (2019)	Nocicepção mecânica: von Frey	Análises bioquímicas: NFkB no encéfalo	
Nahm et al. (2020)	Nocicepção mecânica: von Frey	Análises bioquímicas: CaM e CaMK2 no encéfalo	

Tabela 3 – Avaliações utilizadas para verificar os sinais clássicos da SDRC.

AUTOR	SINAIS	MEDIDAS DE AVALIAÇÃO	
		BIOLÓGICAS	NEUROFISIOLOGIA OU IMAGEM
Nie et al. (2021)	Nocicepção mecânica: von Frey Edema: micrômetro digital	Análises bioquímicas: GPR183, TLR8, TBX18, EGFR, CXCL I 3, SLFN I, GLI2, STK32B, ASGR2, SMOG2, FCGR I A, OSR2, SNED I, SIGLEG I, MYL I, MYOM2, CAPG, Retsat na medula espinal Imunofluorescência: ATF3 e NeuN na medula espinal	
Nucci et al. (2012)	Nocicepção mecânica: von Frey Nocicepção térmica ao calor: placa quente/fria Função: campo aberto		
Ota et al. (2014)	Nocicepção mecânica: von Frey	Análises bioquímicas: NGF, substância P, CGRP, TNF, IL-1 β , IL-6, TGF- β 1 no músculo Imunoistoquímica: NGF no músculo	Radiografia: joelho
Ragavendran et al. (2013)	Nocicepção mecânica: von Frey		
Ragavendran et al. (2014)	Nocicepção mecânica: von Frey Função: Rotarod	Análises vasculares: fluxo sanguíneo por laser doppler na pata	
Ryu et al. (2010)	Nocicepção mecânica: von Frey	Análises bioquímicas: pNR1 na medula espinal	
Sabsovich et al. (2008)	Nocicepção mecânica: von Frey Hiperemia: sensor de temperatura Edema: sensor laser Função: dispositivo de incapacidade	Análises bioquímicas: TNF na pele e nervo isquiático Imunoistoquímica: Fos na medula espinal	TC: fêmur e vértebra lombar
Sabsovich et al. (2008) [2]	Nocicepção mecânica: von Frey Hiperemia: sensor de temperatura Edema: sensor laser Função: balança	Análises bioquímicas: NGF, CGRP, substância P, TNF, IL-1 β , IL-6, IL-10 na pele, tíbia e nervo isquiático Imunoistoquímica: Fos na medula espinal	TC: fêmur e vértebra lombar
Santos et al. (2021)	Nocicepção mecânica: von Frey Função: Rotarod	Análises bioquímicas: NFkB, pNFkB, COX2, TNF, IL-1 β no músculo Imunofluorescência: Fos no encéfalo	
Schiller et al. (2015)	Nocicepção mecânica: von Frey Nocicepção térmica ao calor: Hargreaves		
Seo et al. (2020)	Nocicepção mecânica: von Frey Edema: micrômetro digital	Imunofluorescência: TNF na medula espinal	
Shi et al. (2015)	Nocicepção mecânica: von Frey Hiperemia: Sensor de temperatura Edema: sensor laser Função: dispositivo de incapacidade	Análises bioquímicas: TAC1, TACR1, CALCA, CALCB, CALCRL, RAMP1, TNF, IL-1 β , IL-6, NGF, CCL2, 18S, substância P, CGRP, TNF, IL-1, NK1, ERK1/2, pERK1/2 na medula espinal Imunofluorescência: ERK, GFAP e Iba1 na medula espinal	

Tabela 3 – Avaliações utilizadas para verificar os sinais clássicos da SDRC.

AUTOR	SINAIS	MEDIDAS DE AVALIAÇÃO	
		BIOLÓGICAS	NEUROFISIOLOGIA OU IMAGEM
Shi et al. (2018)	Nociceção mecânica: von Frey Hiperemia: sensor de temperatura Edema: sensor laser Função: balança; campo aberto Outros: zero maze, teste de reconhecimento de objeto	Análises bioquímicas: IL-1, IL-6, TNF, NGF, Ccmotif, CCL2, substância P, CGRP, TAC1, RAMP1, CALCA, CALCB, CALCRL, 18S na pele, nervo isquiático e medula espinal	
Shir & Seltzer (1991)	Nociceção mecânica: von Frey Nociceção térmica ao calor: raio infravermelho; laser CO2		
Siegel et al. (2007)	Nociceção mecânica: von Frey Nociceção térmica ao frio: teste da acetona Edema: micrômetro digital Função: posição da pata	Coloração e marcação: mastócitos no nervo tibial	
Somers & Clemente (2006)	Nociceção mecânica: von Frey Nociceção térmica ao calor: Hargreaves		
Tajerian et al. (2014)	Nociceção mecânica: von Frey Função: campo aberto Outros: zero maze, teste de reconhecimento de objeto, teste de memória social	Análises bioquímicas: sinaptofisina e BDNF no encéfalo Coloração e marcação: complexo de Golgi no encéfalo	
Tajerian et al. (2015)	Nociceção mecânica: von Frey Função: Rotarod Outros: comportamentos evocados por capsaïcina, comportamento estereotipado, peso corporal, nível de atividade	Análises bioquímicas: SYP, BDNF, NR2b e CaMK2 na medula espinal Imunoistoquímica: GFAP e Iba1 na medula espinal	
Tajerian et al. (2015) [2]	Nociceção mecânica: von Frey Hiperemia: sensor de temperatura Edema: sensor laser Função: Rotarod Outros: câmara de condicionamento, comportamentos evocados por capsaïcina, preferência de lugar condicionada por equilíbrio	Análises bioquímicas: Grin2b e NR2b na medula espinal	
Tajerian et al. (2017)		Análises bioquímicas: KRT16, EEF1A1, ANXA2, ENO3 no soro e pele	
Tang et al. (2017)	Nociceção mecânica: von Frey	Análises bioquímicas: isoprostanos, 8-OhdG, MDA, SOD, IL-2, TNF e IL-4 no soro	
Tékus et al. (2014)	Edema: sensor em U Nociceção mecânica: von Frey		

Tabela 3 – Avaliações utilizadas para verificar os sinais clássicos da SDRC.

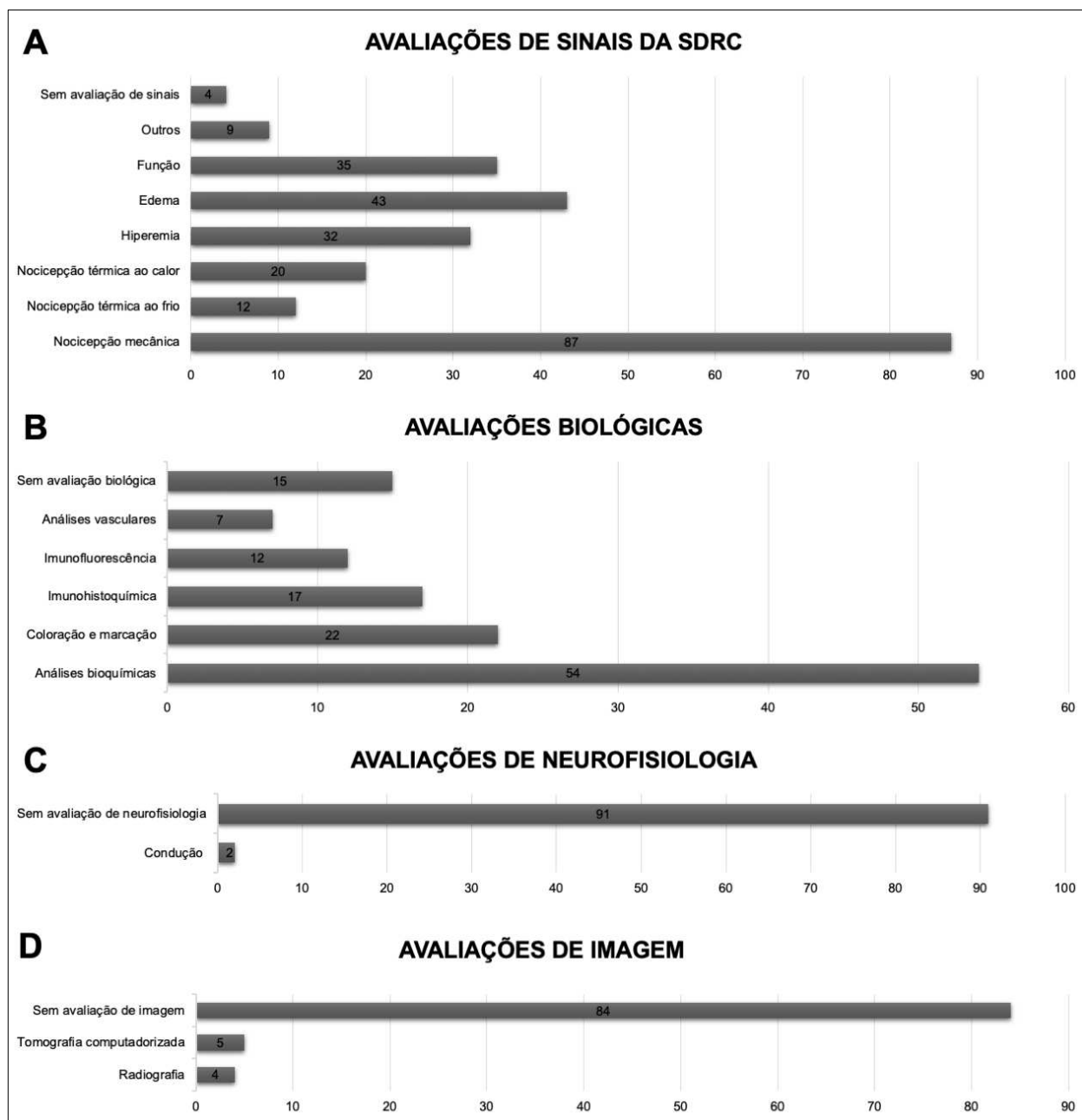
AUTOR	SINAIS	MEDIDAS DE AVALIAÇÃO	
		Biológicas	Neurofisiologia ou Imagem
Wei et al. (2009)	Nocicepção térmica ao calor: placa quente/fria Nocicepção térmica ao frio: imersão em água fria Hiperemia: termômetro Edema: pletismógrafo Função: dispositivo de incapacidade, campo aberto, rota-rod	Análises bioquímicas: CGRP, substância P, TNF, IL-6 e IL-1 β na pele e músculo	
		Análises bioquímicas: substância P, CGRP, NEP no soro, pele e nervo isquiático	
Wei et al. (2009) [2]	Nocicepção mecânica: von Frey, movimento da cauda Hiperemia: sensor de temperatura Edema: sensor laser Função: dispositivo de incapacidade	Coloração e marcação: mastócitos na pele Imunofluorescência: substância P e NK1r na pele	TC: fêmur e vértebra lombar
		Análises bioquímicas: TNF, IL-1 β , IL-6 na pele Imunoistoquímica: OX-42, CD43, HIS48 na pele	
Wei et al. (2016)	Nocicepção mecânica: von Frey Hiperemia: sensor de temperatura Edema: sensor laser Função: dispositivo de incapacidade	Análises bioquímicas: TNF, IL-1 β , IL-6, NGF, Dye, substância P, NK-1 na pele, nervo isquiático e medula espinal	
Xanthos et al. (2008)	Nocicepção mecânica: von Frey Outros: comportamento nociceptivo evocado	Análises vasculares: fluxo sanguíneo por laser doppler na pata	
Xanthos et al. (2008) [2]	Nocicepção mecânica: von Frey		
Xu et al. (2020)	Nocicepção mecânica: von Frey Nocicepção térmica ao calor: placa quente/fria	Imunofluorescência: NR2B, pNR2B, IL-1 β , IBA-1 e GFAP na pele e medula espinal Análises bioquímicas: NR2B, pNR2B, IL-1 β , NFkB, pNFkB, ERK, pERK na pele e medula espinal	
Yeo et al. (2017)	Nocicepção mecânica: von Frey	Análises bioquímicas: pNR1 na medula espinal	
Yeo et al. (2018)	Nocicepção mecânica: von Frey	Análises bioquímicas: pGluN1 e pERK na medula espinal	

Fonte: Elaborada pela autora deste trabalho.

Legenda: 4-HNE, 4-hidroxinonal; 8 OhdG, 8-hidroxiguanosina; α 1-AR, receptor alfa-1 adrenérgico; AKT, proteína quinase B; ANXA2, anexina A2; β 2-AR, receptor adrenérgico beta-2; BDNF, fator neurotrófico derivado do cérebro; C5B-9, complexo de complemento 5B-9; CALCA, polipeptídeo alfa relacionado com calcitonina; CALCB, polipeptídeo beta relacionado com calcitonina; CALCRL, receptor tipo receptor de calcitonina; CAMK2, proteína quinase II dependente de calmodulina; CAT, catalase; CCL-2, proteína-1 quimioatraente de monócitos; CCMOTIF, quimiocina; CD163, agrupamento de diferenciação 163; CD3, agrupamento de diferenciação 3; CD4, agrupamento de diferenciação 4; CD43,

agrupamento de diferenciação 43; CD68, agrupamento de diferenciação 68; CD8, agrupamento de diferenciação 8; CGRP, peptídeo relacionado com o gene da calcitonina; CGRPr, receptor peptídico relacionado ao gene da calcitonina; CSF1R, receptor do fator 1 estimulador de colônias; TC, tomografia computadorizada; CytC, citocromo C; DRG, gânglios da raiz dorsal; EEF1A1, fator de alongamento de tradução eucariótica 1 alfa 1; ENO3, enolase 3; ERK, quinases reguladas por sinal extracelular; ERK1, quinase 1 regulada por sinal extracelular; ERK2, quinase 2 regulada por sinal extracelular; rETA, receptor de endotelina tipo A; rETB, receptor de endotelina tipo B; GFAP, proteína ácida fibrilar glial; GM-CSF, fator estimulador de colônia de granulócitos-macrófagos; GRIN2B, subunidade 2B do receptor ionotrópico de glutamato tipo NMDA; GRK2, receptor quinase 2 acoplado à proteína G; GSH, glutatona; HDL, lipoproteína de alta densidade; HIF-1a, fator 1-alfa induzível por hipóxia; IBA1, molécula adaptadora de ligação ao cálcio ionizada 1; IL-10, interleucina-10; IL-1 β , interleucina-1beta; IL-2, interleucina-2; IL-6, interleucina-6; KRT16, queratina 16; MBP, proteína básica de mielina; MDA, malondialdeído; MMP3, metaloproteinase-3 de matriz; MPO, mieloperoxidase; NADH, dinucleotídeo de nicotinamida adenina; NAGase, N-acetil-beta-D-glucosaminidase; NEP, endopeptidase neutra; NF200, neurofilamento 200; NFkB, fator nuclear kappa B; NGF, fator de crescimento neurotrófico; NK-1, neuroquinina-1; NR1, receptor 1 de N-metil D-aspartato; NR2B, receptor de N-metil D-aspartato subtipo 2B; p-ERK1, quinase 1 regulada por sinal extracelular fosforilada; p-ERK2, quinase 2 regulada por sinal extracelular fosforilada; p-GLUN1, subunidade zeta-1 do receptor de glutamato fosforilado; p-JNK, quinase N-terminal c-Jun fosforilada; p-NR1, subunidade 1 do receptor N-metil D-aspartato fosforilado; PRPH, periferia; RAMP1, proteína modificadora da atividade do receptor 1; SMA, actina do músculo liso; SOD, superóxido dismutase; SYP, sinaptofisina; TAC1, precursor de taquicinina 1; TAC1R, receptor de taquicinina 1; TNF, fator de necrose tumoral; TRPA1, receptor de potencial transitório ankirina 1; TRPV1, receptor de potencial transitório vaniloide 1; TUJ, beta-tubulina de classe III específica de neurônio.

Figura 7 – Avaliações categorizadas da SDRC.



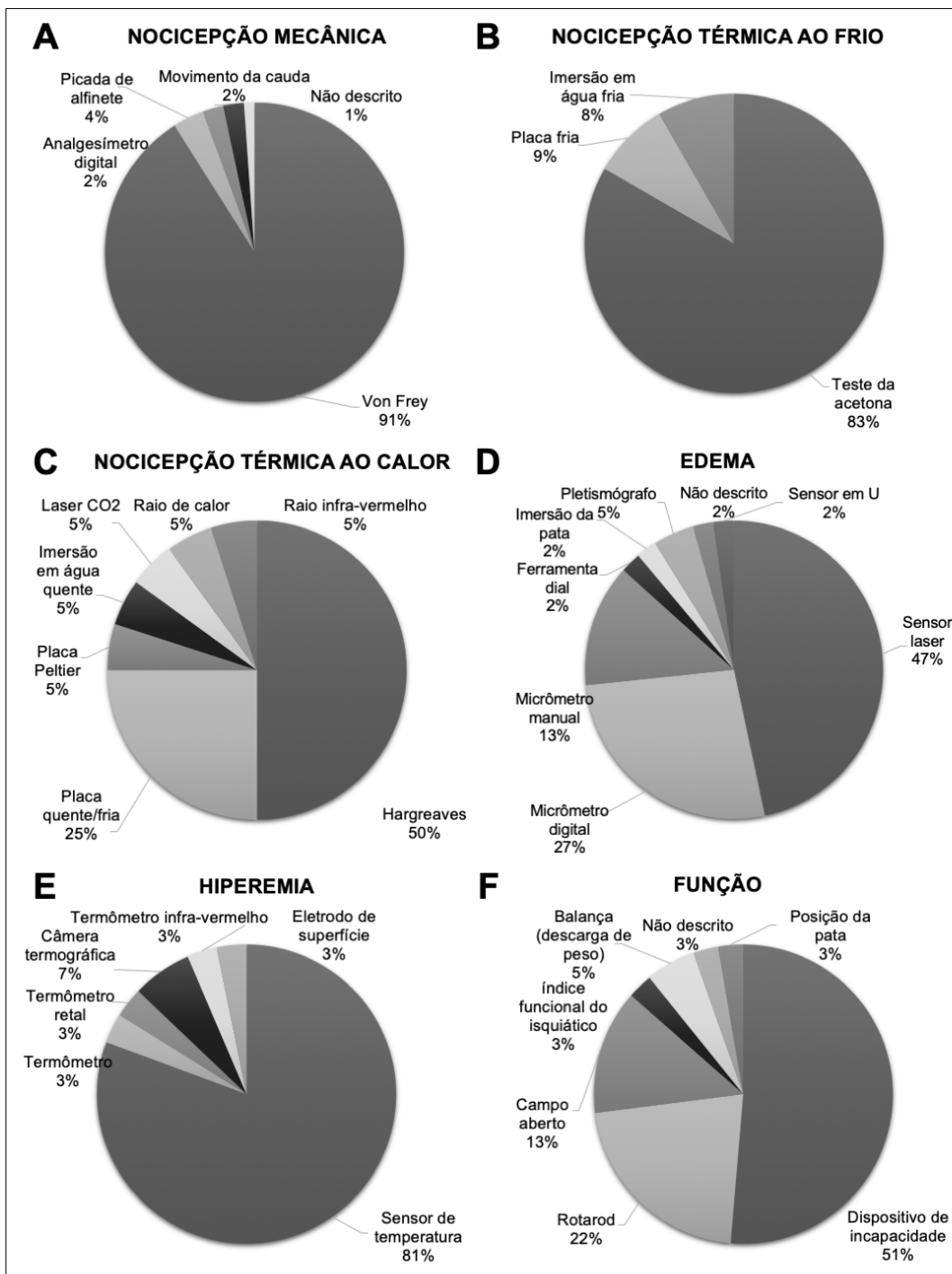
Fonte: Elaborada pela autora deste trabalho.

Legenda: Número de estudos que realizou (A) avaliações dos sinais comportamentais clássicos da SDRC; (B) avaliações biológicas; (C) avaliações de neurofisiologia e (D) avaliações de imagem.

Diferentes testes foram utilizados para as avaliações dos sinais clássicos da SDRC. Entre os 85 estudos que avaliaram a nociceção mecânica, 89% (83 estudos) utilizaram o teste de von Frey (Figura 8A). A nociceção térmica ao frio foi avaliada apenas em 12 estudos e o teste da acetona foi o mais frequente em 83,3% (10 estudos)

(Figura 8B). A nocicepção térmica ao calor foi verificada em 20 estudos, e o teste de Hargreaves e o teste com placa fria/quente foram os mais comuns, em 55% (10 estudos) e 25% (5 estudos) respectivamente (Figura 8C). A presença de edema foi verificada em 43 estudos, destacando-se o uso de sensor a laser (48,8%, 21 estudos) e micrômetro digital (28%, 12 estudos) (Figura 8D). A hiperemia foi avaliada em 32 estudos, principalmente com o uso de sensor de temperatura (78,1%, 25 estudos) (Figura 8E). Com relação à função, 35 estudos analisaram esse sinal clássico da SDRC, 54,2% com o dispositivo de incapacidade (19 estudos) e 22,8% com o teste de Rotarod (8 estudos) (Figura 8F).

Figura 8 – Avaliações utilizadas para verificar sinais clássicos da SDRC.

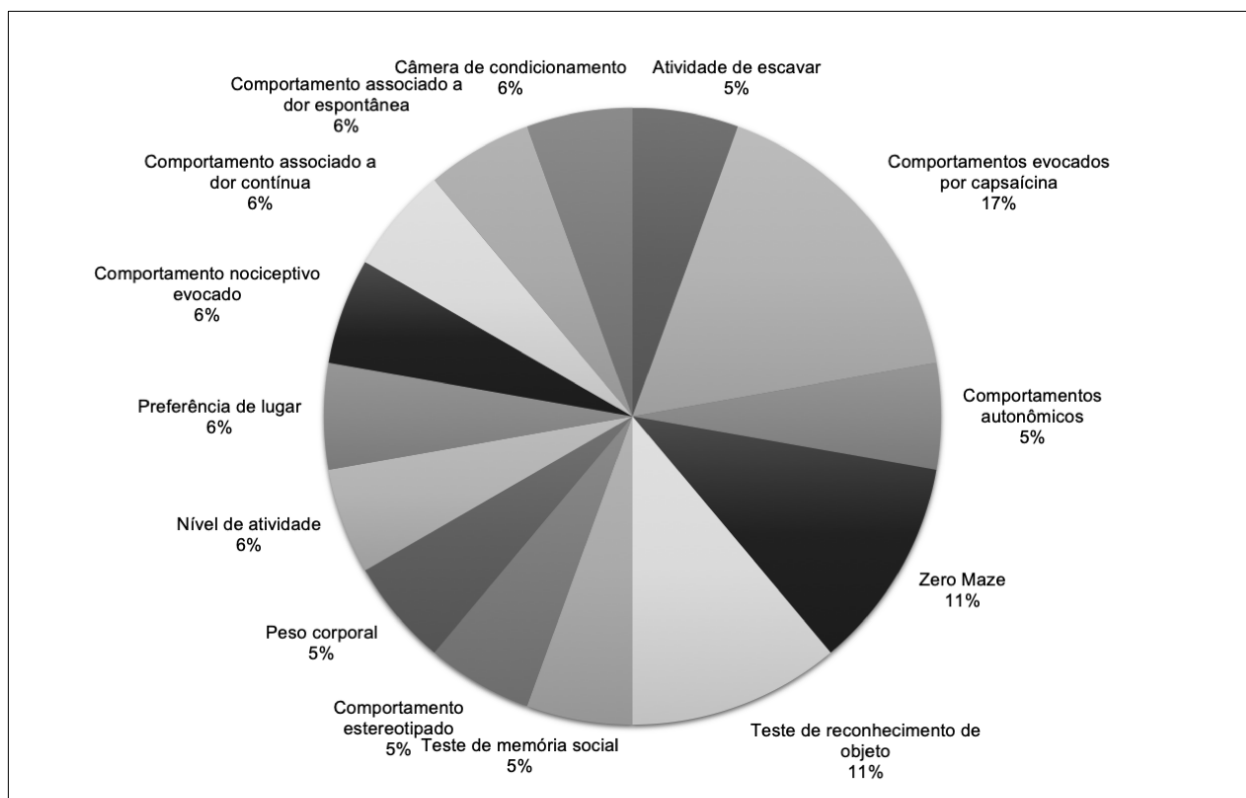


Fonte: Elaborada pela autora deste trabalho.

Legenda: Frequência das avaliações de resultados para (A) nociceção mecânica; (B) nociceção térmica ao frio; (C) nociceção térmica ao calor; (D) edema; (E) hiperemia; (F) e função.

Outras formas de avaliação também foram utilizadas em 9 estudos incluídos nesta revisão, principalmente no que diz respeito aos comportamentos relacionados à nociceção e possíveis comorbidades (Figura 9).

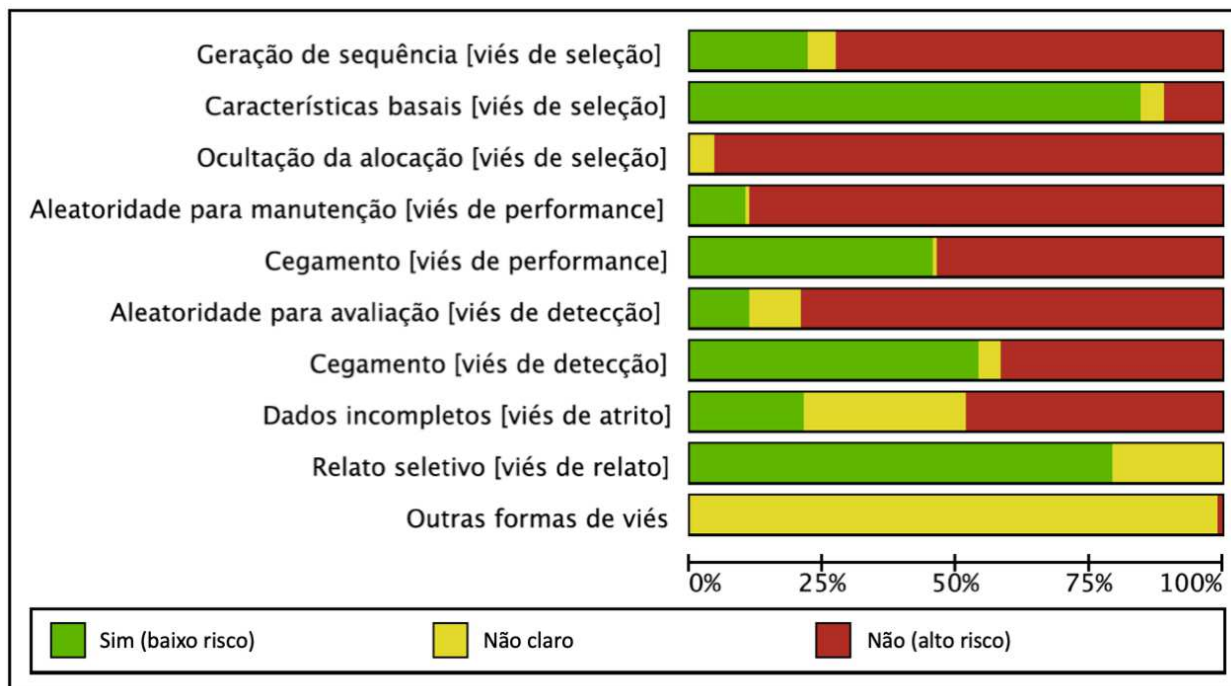
Figura 9 – Avaliações utilizadas para verificar sinais clássicos da SDRC.



Fonte: Elaborada pela autora deste trabalho.

A avaliação da qualidade de todos os estudos e a avaliação individual de cada estudo é apresentada nas Figuras 10 e 11. Apenas 25 estudos tiveram baixo risco de viés em 50% ou mais dos critérios de classificação e foram, portanto, considerados estudos de alta qualidade metodológica. Apenas 4 estudos apresentaram baixo risco de viés em 60% dos critérios de classificação, e 3 estudos em 70%. Os critérios de ocultação da alocação e aleatoriedade para manutenção dos animais apresentaram o maior risco de viés. Já os critérios de apresentação de características basais e relato seletivo foram o que apresentaram menor risco de viés nos estudos incluídos nesta revisão.

Figura 10 – Sumário do risco de viés por item avaliado.



Fonte: Elaborada pela autora deste trabalho.

Li et al. (2012)	-	+	-	-	+	+	+	-	+	?
Li et al. (2013)	-	+	-	-	-	-	-	-	+	?
Li et al. (2014)	-	+	-	-	-	-	+	-	?	?
Li et al. (2015)	+	+	-	-	+	-	+	+	+	?
Li et al. (2018)	-	+	-	-	+	-	+	-	+	?
Li et al. (2021)	-	+	-	-	-	-	+	?	+	?
Liman et al. (2015)	-	+	-	-	+	-	+	-	+	?
Martins et al. (2013)	+	+	-	-	-	-	-	-	+	?
Martins et al. (2015)	-	+	-	-	+	-	+	-	+	?
Mazzardo-Martins et al. (2018)	-	+	-	-	-	-	-	?	+	?
Millecamps et al. (2010)	+	?	-	-	+	+	+	?	+	?
Muneshige et al. (2006)	-	+	-	-	-	-	-	-	+	?
Muthuraman et al. (2010)	-	+	-	-	-	-	-	-	+	?
Nahm et al. (2014)	-	+	-	-	-	-	-	?	+	?
Nahm et al. (2019)	-	+	-	-	-	-	-	-	+	?
Nahm et al. (2020)	-	+	-	-	-	?	-	?	+	?
Nie et al. (2021)	?	+	-	+	+	?	+	?	+	?
Nucci et al. (2012)	-	+	-	-	-	-	-	?	?	?
Ota et al. (2014)	-	+	-	-	+	-	+	+	+	?
Ragavendran et al. (2013)	-	+	-	-	-	-	-	-	?	?
Ragavendran et al. (2014)	-	+	-	-	+	+	+	-	+	?
Ryu et al. (2010)	-	+	-	-	+	-	+	-	+	?
Sabsovich et al. (2008)	-	?	-	-	-	-	-	-	?	?
Sabsovich et al. (2008) [2]	-	?	-	-	-	-	-	-	?	?
Santos et al. (2021)	?	+	-	+	+	?	+	?	+	?
Schiller et al. (2015)	-	+	-	-	-	-	-	-	?	?
Seo et al. (2020)	?	+	-	+	-	-	-	?	+	?
Shi et al. (2015)	+	+	-	+	+	-	+	+	+	?
Shi et al. (2018)	+	+	-	+	+	-	+	+	+	?

Shir & Seltzer (1991)	-	+	-	-	-	-	-	-	+	?
Siegel et al. (2007)	-	+	-	-	-	+	?	+	+	?
Somers & Clemente (2006)	-	+	-	-	-	-	-	+	+	?
Tajerian et al. (2014)	+	+	?	-	+	+	+	+	+	?
Tajerian et al. (2015)	+	-	?	?	+	+	+	+	+	?
Tajerian et al. (2015) [2]	+	+	?	-	+	-	+	?	+	?
Tajerian et al. (2017)	+	-	-	-	+	-	+	-	?	?
Tékus et al. (2014)	+	+	?	-	+	+	+	?	?	?
Wei et al. (2009)	-	+	-	-	?	?	?	-	+	?
Wei et al. (2009) [2]	-	+	-	-	-	-	-	-	+	?
Wei et al. (2016)	+	?	-	-	+	?	+	-	?	?
Xanthos et al. (2008)	-	+	-	-	+	-	+	?	+	?
Xanthos et al. (2008) [2]	+	+	-	-	+	+	+	?	?	?
Xu et al. (2020)	?	+	-	+	+	-	+	?	+	?
Yeo et al. (2017)	?	+	-	-	+	?	+	-	+	?
Yeo et al. (2018)	+	+	-	-	+	?	+	+	+	?

Fonte: Elaborada pela autora deste trabalho.

Legenda: (-) Alto risco de viés, risco eminente de viés para este item; (?) Risco não claro de viés, verificar cuidadosamente o artigo quanto à interpretação deste item; (+) Baixo risco de viés, livre de risco de viés neste item.

A tabela de análise da descrição dos estudos foi dividida em antes e depois de 2010, o ano de publicação das diretrizes ARRIVE (KILKENNY; BROWNE; CUTHILL; EMERSON *et al.*, 2010). A frequência dos itens de descrição do guia ARRIVE que foram julgados como completos podem ser vistos na Tabela 4. Mesmo sendo publicados antes de 2010, a contextualização na introdução e a interpretação dos resultados na discussão ocorreu em 100% de forma completa. Junto com estes itens, destaca-se uma frequência maior de 90% para descrição completa dos itens de contextualização de escolha dos animais, objetivos, resultados experimentais, métodos estatísticos, resultados e estimativas, interpretação e generalização dos resultados nos estudos publicados antes do guia ARRIVE. Já após a publicação do guia ARRIVE, a frequência de itens descritos de forma completa ganhou incremento em praticamente todos os itens. Contudo, a descrição de alguns itens essenciais para melhor descrição e, conseqüentemente

qualidade dos estudos, não foram citados mesmo após a publicação do guia ARRIVE. Entre os itens não descritos de forma completa em nenhum dos estudos estão avaliação do bem-estar animal e alocação dos animais para tratamento ou avaliação.

Tabela 4 – Proporção de itens completos (%) do guia ARRIVE por ano de publicação dos estudos.

Item	Introdução					Métodos												
	1 Título	2 Resumo	3a Contexto	3b Objetivos	4 Objetivos	5 Declaração ética	6a Plano de estudo	6b	6c	7a	7b	7c	7d	8a	8b	9a	9b	9c
Referências publicadas antes de 2010	65,4	88,5	100	92,3	92,3	65,4	50	7,7	53,8	26,9	0	34,6	26,9	0	0	38,5	0	0
Referências publicadas depois de 2010	67,7	84,6	100	86,2	92,3	92,3	69,2	33,8	78,5	53,8	15,4	55,4	36,9	24,6	36,9	26,2	15,4	0

Item	Métodos					Resultados					Discussão									
	10a Amostra	10b	10c	11a Alocação	11b Res	12	13a Estatística	13b	13c	14 Dados basais	15a Números analisados	15b	16 Est	17a Efeitos adversos	17b	18a Interpretação	18b	18c	19 Gen	20 Fin
Referências publicadas antes de 2010	15,4	0	0	7,7	3,8	96,2	92,3	96,2	88,5	73,1	57,7	11,5	100	0	0	100	26,9	0	100	153,8
Referências publicadas depois de 2010	49,2	9,2	16,9	35,4	0	98,5	98,5	100	98,5	84,6	60	12,3	96,9	1,5	3,1	100	53,8	10,8	98,5	86,2

Fonte: Elaborada pela autora deste trabalho.

Legenda: Valores apresentados em percentual dos estudos que apresentam os itens do guia ARRIVE descritos de maneira completa, publicados antes ou até 2010, e após 2010. Res, resultados experimentais; Est, resultados e estimativas; Gen, generalização ou translação; Fin, financiamento.

4.4 DISCUSSÃO

O objetivo principal desta revisão de escopo foi proporcionar uma revisão estruturada e abrangente dos modelos animais utilizados para investigar a SDRC e assim fornecer uma fonte de informação para futuros estudos que envolvam essa condição de dor crônica tão incapacitante. Revisões de escopo são fundamentais para aprimoramento de pesquisas em determinada área, principalmente para o direcionamento de critérios relevantes para o delineamento de um futuro estudo (PETERS; GODFREY; KHALIL; MCINERNEY *et al.*, 2015; TRICCO; LILLIE; ZARIN; O'BRIEN *et al.*, 2018). Embora os estudos clínicos que abordem os aspectos fisiopatológicos da SDRC sejam a melhor forma de evidência científica, os modelos animais também podem colaborar na elucidação da fisiopatologia e na avaliação de estratégias terapêuticas eficazes (BRUEHL, 2010). Apesar das vastas possibilidades, os estudos desta revisão se concentraram principalmente no objetivo de entendimento do modelo e dos mecanismos fisiopatológicos associados ao desenvolvimento da SDRC. Esse fato é provavelmente relacionado a recente aplicação dos critérios diagnósticos de Budapest com os principais sinais da SDRC, e de que ainda não há mecanismo fisiopatológico completamente elucidado nos indivíduos que desenvolvem a SDRC. As alterações fisiopatológicas da SDRC também foram exploradas nos estudos com objetivos associados a tratamentos farmacológicos ou fisioterapêuticos com potencial anti-inflamatório e anti-hiperalgésico. Tanto o entendimento dos mecanismos bem como a eficiência de estratégias farmacológicas ou fisioterapêuticas em estudos pré-clínicos se faz extremamente relevante, uma vez que o número de indivíduos com dor crônica é cada vez maior e mais estudos clínicos devam ser viabilizados.

A maioria absoluta dos estudos incluídos nesta revisão optou por utilizar roedores, sejam ratos ou camundongos, para investigação da SDRC. A utilização de roedores vêm sendo vastamente explorada no estudo da dor, como visto com o crescente número de estudos nos últimos anos. A utilização de roedores é vantajosa no que se refere a investigação com foco em alterações celulares e moleculares, devido à similaridade que a espécie tem ao genoma humano (CARPENTER; KIGERL; MARBOURG; GAUDET *et al.*, 2015). Também se incluem vantagens quanto a facilidade de manejo, altos índices

de reprodutibilidade, baixo risco de infecções após procedimentos e baixo custo de manutenção (SADLER; MOGIL; STUCKY, 2021; SHARIF-ALHOSEINI; KHORMALI; REZAEI; SAFDARIAN *et al.*, 2017). Ratos necessitam de períodos de habituação mais curtos do que camundongos, bem como são mais facilmente treinados para tarefas de condicionamento e menos influenciados pelo estresse ao serem manejados por um pesquisador (SADLER; MOGIL; STUCKY, 2021). Por outro lado, o tamanho pequeno dos camundongos permite um custo-benefício vantajoso seja no aspecto de espaço para manutenção quanto de quantidade de drogas necessárias para os experimentos (SADLER; MOGIL; STUCKY, 2021). Também, pelo fato de que os roedores envelhecem de forma mais acelerada do que os humanos, é possível avaliar o decurso temporal de processos relacionados a dor em períodos mais curtos (SADLER; MOGIL; STUCKY, 2021).

Não só a escolha da espécie, como a da linhagem do animal também é relevante, uma vez que ocorrem diferentes tipos de comportamentos nociceptivos entre as linhagens (MOGIL; WILSON; BON; LEE *et al.*, 1999). A linhagem de camundongos mais utilizada nos estudos incluídos nesta revisão, C57BL/6, apresenta sensibilidade aumentada a estímulos térmicos e resiliência a hipersensibilidade induzida por lesão (MOGIL; WILSON; BON; LEE *et al.*, 1999). Apesar disso, os camundongos C57BL/6 apresentam uma variabilidade de resposta pequena, o que acaba permitindo tamanhos de amostra menores, fato também notado nos estudos incluídos nesta revisão (SADLER; MOGIL; STUCKY, 2021). No entanto, uma vez que a variabilidade está presente na população de pacientes com dor, utilizar linhagens com maior heterogeneidade genética é fator relevante a ser considerado em futuros estudos pré-clínicos (SADLER; MOGIL; STUCKY, 2021).

Apenas três estudos incluídos nesta revisão utilizaram animais de ambos os sexos em seus protocolos experimentais (DE PRÁ; ANTONIAZZI; FERRO; KUDSI *et al.*, 2019; GONÇALVES; VIEIRA; GONÇALVES; SIMÕES *et al.*, 2021; TAJERIAN, MARAL; SAHBAIE, PEYMAN; SUN, YUAN; LEU, DAVID *et al.*, 2015). Recentemente, há uma maior utilização de ambos os sexos nos estudos pré-clínicos investigando os mecanismos de dor e potenciais tratamentos analgésicos (MOGIL, 2020). Também é importante ressaltar que muitas condições clínicas dolorosas de caráter crônico e

neuropático têm predominância no sexo feminino (BOUHASSIRA; LANTÉRI-MINET; ATTAL; LAURENT *et al.*, 2008). Apesar da alta prevalência das condições dolorosas no sexo feminino, em modelos animais para estudos da dor, a utilização de machos é predominante (MAPPLEBECK; BEGGS; SALTER, 2016). Rosen, Ham e Mogil (2017) afirmam que há diferença entre os sexos nas funções imunológicas e nos sinalizadores álgicos quanto ao desenvolvimento de dor crônica. Essa dependência ao sexo pode ser verificada em diferentes tipos de análise, seja genética a psicossocial, e se concentra principalmente na resposta neuroimune de modulação da dor (MOGIL, 2020). Além disso, a variabilidade de respostas de camundongos machos e fêmeas é importante para a translação clínica (MOGIL, 2017).

Outro ponto que se destaca é que a grande maioria dos animais utilizados nos estudos incluídos nessa revisão estavam em uma faixa de idade de adultos jovens. As experiências com quadros de dor variam ao longo da vida, mas sabe-se que quadros de dor crônica aumentam com a idade (OTT; MAIHÖFNER, 2018). Nos indivíduos que desenvolvem a SDRC, a faixa etária predominante está entre 55 e 75 anos (DE MOS; DE BRUIJN; HUYGEN; DIELEMAN *et al.*, 2007; OTT; MAIHÖFNER, 2018; SANDRONI; BENRUD-LARSON; MCCLELLAND; LOW, 2003). Esse fato é pouco explorado nos estudos pré-clínicos, provavelmente pela dificuldade de manter a homogeneidade de experiências dos animais no ambiente de criação ou manutenção por um longo período (SADLER; MOGIL; STUCKY, 2021). Dessa forma, seria apropriado considerar para a prática a utilização de roedores fêmeas, em faixa etária adulta, no modelo de uma condição clínica que afeta predominantemente o sexo feminino, como é o caso da SDRC.

As evidências apresentadas nessa revisão quanto às formas de indução da SDRC se concentraram principalmente em dois modelos: fratura de tíbia seguida de imobilização e isquemia e reperfusão da pata. Essas escolhas acabam refletindo as principais causas primárias de desenvolvimento da SDRC em humanos, que são fraturas e contusões, comumente sem lesão nervosa (OTT; MAIHÖFNER, 2018). A escolha adequada de um modelo animal da SDRC pode potencializar o avanço tanto do entendimento dos mecanismos como de possíveis tratamentos (BIRKLEIN; IBRAHIM; SCHLERETH; KINGERY, 2018). O modelo de fratura de tíbia é induzido por fratura fechada de tíbia com o animal anestesiado, seguido de imobilização por 3 semanas para

camundongos e 4 semanas para ratos (GUO; OFFLEY; BOYD; JACOBS *et al.*, 2004). Após o período de imobilização, os animais desenvolvem edema, hiperemia e alterações sensoriais (GUO; OFFLEY; BOYD; JACOBS *et al.*, 2004). Esses sintomas apresentam resolução espontânea em até 5 meses após a indução (GUO; OFFLEY; BOYD; JACOBS *et al.*, 2004). Ressalta-se que o modelo de fratura de tíbia possibilita análises tanto da fase aguda quanto crônica, bem como a transição entre esses períodos (BIRKLEIN; IBRAHIM; SCHLERETH; KINGERY, 2018). No mesmo ano, Coderre *et al.* (2004) desenvolveram o modelo experimental da SDRC-I por isquemia e reperfusão em ratos, que posteriormente foi adaptada por Millecamps *et al.* (2010) para camundongos. O modelo consiste na colocação de um elástico no tornozelo do animal, sob anestesia, reduzindo o fluxo sanguíneo por 3 horas. Ao retirar o elástico, ocorre a reperfusão. Após a reperfusão, o animal apresenta dor inflamatória nas primeiras 48 horas, e ao sétimo dia inicia-se um quadro de dor neuropática (CODERRE; XANTHOS; FRANCIS; BENNETT, 2004). O modelo induz hiperemia, extravasamento do plasma, alterações sensoriais mecânicas e térmicas (CODERRE; XANTHOS; FRANCIS; BENNETT, 2004).

As formas de avaliação dos estudos incluídos nesta revisão se concentraram quanto aos sinais clássicos da SDRC também presentes nos animais: nocicepção mecânica, nocicepção térmica ao calor ou ao frio, edema, alteração de temperatura e alteração de função. Dentre as avaliações utilizadas, há consideráveis diferenças entre os métodos que foram aplicados. Por exemplo, na nocicepção mecânica, o teste de von Frey foi o mais utilizado, mas sua medida de resultado foi apresentada como percentual de resposta ou limiar de resposta. Também ocorreu a utilização de testes diferentes para o mesmo sinal, como por exemplo para nocicepção térmica ao frio, o teste de acetona e o teste de placa quente/fria. Existem algumas dificuldades em se mensurar a dor em roedores, uma vez que em humanos é uma sensação predominantemente mensurada por classificações verbais ou descritivas (SADLER; MOGIL; STUCKY, 2021). A literatura mostra uma predominância da utilização de medidas de dor como respostas reflexas, em maioria à estímulos mecânicos, fato também visto nos estudos incluídos nesta revisão (SADLER; MOGIL; STUCKY, 2021). É possível que essa predominância esteja relacionada ao fato de que pacientes com dor neuropática apresentem alodinia mecânica e térmica (BACKONJA; STACEY, 2004). No entanto, é importante ressaltar que vias

diferentes estão relacionadas ao processamento de um estímulo mecânico ou inócuo a dor, e dessa forma mais possibilidades de avaliação devem ser estimuladas.

O fato de a dor espontânea ser o sintoma mais comumente relatado em pacientes com dor crônica é um fator importante a ser considerado (OTT; MAIHÖFNER, 2018). Esse sintoma foi explorado em apenas em um estudo incluído nessa revisão (DE PRÁ; ANTONIAZZI; FERRO; KUDSI *et al.*, 2019). Assim como em pacientes com dor crônica, em animais é muito improvável que a utilização de apenas uma ferramenta seja capaz de avaliar de forma precisa e reproduzível a dor. Dessa forma, adicionar formas de avaliação que englobem comportamentos não evocados são extremamente relevantes para analisar de maneira mais abrangente a experiência de dor dos animais (SADLER; MOGIL; STUCKY, 2021). Dessa forma é importante considerar a aplicação de baterias de testes, além de testes de respostas não evocadas a dor, mas também que considerem possíveis comorbidades como ansiedade e depressão (SADLER; MOGIL; STUCKY, 2021).

Outras estratégias de avaliação utilizadas pelos estudos incluídos nesta revisão abrangeram avaliações biológicas. As análises bioquímicas e análises de coloração e marcação permitem a exploração dos diversos anticorpos e marcadores imunológicos já estabelecidos que possam estar contribuindo para o desenvolvimento da SDRC e estabelecimento do quadro de dor crônica (CARPENTER; KIGERL; MARBOURG; GAUDET *et al.*, 2015; SADLER; MOGIL; STUCKY, 2021). Os mecanismos por trás da SDRC ainda são dinâmicos e controversos mas três principais alterações fisiológicas são consideradas: mecanismos inflamatórios aberrantes, disfunção vasomotora e plasticidade neuronal mal adaptada (MARINUS; MOSELEY; BIRKLEIN; BARON *et al.*, 2011). As amostras analisadas englobaram tanto estruturas periféricas, como soro, pele, músculos; quanto estruturas do sistema nervoso periférico (SNP) e SNC, como nervos, medula espinal e encéfalo, que possam estar envolvidos nestas alterações. Nas últimas décadas, ficou evidente por meio de avanços tecnológicos, a compreensão da similaridade dos tecidos de roedores e humanos. Apesar da similaridade, há pontos críticos de diferença, principalmente quando se refere a neurônios sensoriais e expressão de genes e mediadores neuroimunes (SADLER; MOGIL; STUCKY, 2021). Isso faz com que a literatura apresentada até o momento tenha grande variabilidade dos

mediadores analisados, ao mesmo tempo em que alguns marcadores são vastamente explorados, como o TNF e a IL-1 β presentes em mais de 20% dos estudos incluídos nesta revisão.

A qualidade metodológica foi considerada alta em apenas 27% dos estudos incluídos nesta revisão. No entanto, foi observado que os estudos não relataram principalmente os critérios de viés de seleção e performance. Falhas ao relatar os métodos e resultados acabam por ter não só implicações científicas e éticas, mas também econômicas para a pesquisa pré-clínica (KILKENNY; BROWNE; CUTHILL; EMERSON *et al.*, 2010). Além disso, essas falhas também levam a baixa reprodutibilidade e translação (MOGIL, 2017). Erros sistemáticos podem influenciar diretamente a magnitude e a direção dos resultados, e afastar ainda mais os achados pré-clínicos de uma possível translação clínica. Assim, melhorar e identificar os diferentes riscos de viés é uma das principais maneiras de alcançar uma melhor qualidade metodológica em estudos pré-clínicos.

No que também se refere a qualidade dos estudos pré-clínicos, o desenvolvimento das diretrizes ARRIVE foi um marco relevante. Um dos principais desafios para a translação dos achados pré-clínicos para a prática clínica na pesquisa sobre dor é a falta de riqueza de detalhes dos modelos animais (SADLER; MOGIL; STUCKY, 2021). As diretrizes ARRIVE fornecem uma lista de itens que pode ser utilizada tanto para orientar os autores na preparação do manuscrito bem como para garantir a integridade dos dados relatados (KILKENNY; BROWNE; CUTHILL; EMERSON *et al.*, 2010). Mesmo com mais de uma década da primeira publicação das diretrizes ARRIVE, este ainda permanece subutilizado. Talvez seja necessário que os periódicos e os revisores passem a solicitar de maneira compulsória, para que a utilização aconteça de forma mais ampla. Tanto um menor risco de viés quanto uma melhor descrição dos estudos são importantes para o fortalecimento da evidência produzida pelos estudos pré-clínicos.

4.5 CONCLUSÃO

Acreditamos que revisões de escopo sobre modelos animais como esta, são de extrema relevância tanto para o aprimoramento dos estudos pré-clínicos quanto para possíveis translações para estudos clínicos. Encorajamos os pesquisadores a explorar a literatura de forma sistematizada para promover novos estudos pré-clínicos com maior impacto positivo na prática clínica. Também acreditamos ser relevante o apoio de agências de fomento para o desenvolvimento de estudos de revisões, para que futuramente o impacto financeiro de estudos pré-clínicos de baixa qualidade ou não necessários sejam evitados.

Não há dúvidas de que a realização de estudos com modelos animais de SDRC seja extremamente relevante para o entendimento dessa condição tão debilitante. No entanto, os dados apresentados pelos estudos desta revisão remetem a reflexão de que são necessárias algumas mudanças para que a pesquisa e translação seja mais eficiente. Sugerimos que o paralelo entre o modelo animal e os indivíduos com SDRC deva incluir: (1) animais mais heterogêneos quanto a linhagem, de ambos os sexos, e em idade adulta e idosa; (2) a utilização de múltiplas ferramentas de avaliação, principalmente que incluam sinais de dor espontânea e medidas de nocicepção não evocadas, que envolvam aspectos cognitivos e sociais da dor, e também comorbidades, como ansiedade e depressão; (3) aprimorar a descrição e realização de medidas que reduzam o risco de viés dos experimentos. Acreditamos que a consolidação dessas três recomendações irá implicar em um avanço significativo na pesquisa com modelos animais da SDRC, e dessa forma, uma melhor translação clínica.

5 CAPÍTULO II

A SDRC-I leva a uma condição de dor crônica debilitante, que normalmente desenvolve sintomas sensoriais, motores e tróficos desproporcionais ao trauma inicial (BIRKLEIN; DRUMMOND; LI; SCHLERETH *et al.*, 2014). Apesar dos avanços significativos no estudo e compreensão da SDRC-I, atualmente não há fisiopatologia específica estabelecida (KESSLER; YOO; CALISOFF, 2020). Também não existem testes padrão-ouro para o diagnóstico da SDRC-I, apenas critérios com observação de sinais e descrição de sintomas. Isso implica diretamente em desafios não apenas para diagnosticar, mas também para definir estratégias de tratamento e prevenção. Vários estudos mostram o envolvimento mútuo da inflamação e do SNC na SDRC-I, que atualmente é considerada pela literatura como uma doença neuroimune (DAVID CLARK; TAWFIK; TAJERIAN; KINGERY, 2018). Alguns estudos modelam a fisiopatologia da SDRC-I classificando-a com mecanismos periféricos e centrais (HALICKA; VITTERSØ; PROULX; BULTITUDE, 2020; MARINUS; MOSELEY; BIRKLEIN; BARON *et al.*, 2011). Outros, definem as mudanças de acordo com o decurso temporal e as características apresentadas em fases aguda ou crônica (KESSLER; YOO; CALISOFF, 2020). As alterações, sejam transitórias ou graduais, na fisiopatologia da dor para a cronificação na SDRC-I ainda geram muitos questionamentos (LAVAND'HOMME, 2011).

Os níveis aumentados de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6, IL-1 β e TNF no local da lesão têm sido apontados como os principais gatilhos para o desenvolvimento da SDRC-I (BIRKLEIN; DRUMMOND; LI; SCHLERETH *et al.*, 2014; BRUEHL, 2010). Na tentativa de controlar a cascata pró-inflamatória, o processo é regulado pela liberação de citocinas anti-inflamatórias, como a IL-4 e a IL-10 (BORCHERS; GERSHWIN, 2014; BRUEHL, 2010). Após o processo inflamatório periférico no local da lesão, bem como o estabelecimento do quadro algico, a SDRC-I também pode ocasionar alterações no SNC. De fato, tanto a inflamação quanto a dor induzem adaptações no SNC, por meio da plasticidade neural e da neuroinflamação (BOADAS-VAELLO; HOMS; REINA; CARRERA *et al.*, 2017; BRUEHL; MAIHÖFNER; STANTON-HICKS; PEREZ *et al.*, 2016). Também vale ressaltar que a dor não consiste apenas do componente sensorial,

mas também abrange componentes afetivos, perceptivos e cognitivos que têm influência direta em diversas regiões do cérebro (CROFFORD, 2015; FASICK; SPENGLER; SAMANKAN; NADER *et al.*, 2015). Juntas, essas alterações no SNC facilitam o estabelecimento de um quadro de sensibilização central, causando aumento e manutenção do quadro de dor (BOADAS-VAELLO; HOMS; REINA; CARRERA *et al.*, 2017; BRUEHL; MAIHÖFNER; STANTON-HICKS; PEREZ *et al.*, 2016).

A inflamação também está associada a alterações da atividade dos receptores opioides (JANSON; STEIN, 2003). Os receptores μ -opioides são os mediadores primários na substância cinzenta periaquedutal e na bulbo rostral ventromedial, circuito responsável pela analgesia (BAGLEY; INGRAM, 2020). Em situações de dor crônica, o controle descendente da dor associado a esse circuito é alterado (BUSHNELL; CEKO; LOW, 2013). Além disso, essas regiões estão fortemente associadas ao aspecto cognitivo da dor. Testes que envolvam a escolha do animal frente a um estímulo aversivo, estão sendo cada vez mais utilizados para abranger um espectro mais completo da dor (EWAN; MARTIN, 2013). Dessa forma, direcionamos nossa investigação para além dos sinais clássicos de dor e inflamação da SDRC-I nas fases aguda e crônica, com medidas comportamentais relacionadas ao aspecto cognitivo e emocional da dor e análises de estruturas supraespinais envolvidas no processamento da dor, até então não explorados no modelo animal da SDRC-I.

5.1 OBJETIVO ESPECÍFICO

Investigar os sinais e comportamentos clássicos de dor por resposta evocada, espontânea ou cognitiva, bem como os mediadores da dor e inflamação em estruturas periféricas e centrais após a indução do modelo da SDRC-I por isquemia e reperfusão.

5.2 MÉTODOS

5.2.1 Aspectos éticos

Esta pesquisa de natureza experimental pré-clínica foi aprovada pelas respectivas Comissões de Ética para Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) (2051170718) (Anexo A) e da Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL) (18.020.2.07 IV) (Anexo B). Os experimentos foram conduzidos de acordo com os princípios éticos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e seguem as diretrizes ARRIVE (do inglês, *Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments*) para relatar experimentos *in vivo* (KILKENNY; BROWNE; CUTHILL; EMERSON *et al.*, 2010).

5.2.2 Animais

Foram utilizados camundongos da linhagem *Swiss*, adultos, machos (8 semanas, 35-45 g), fornecidos pelo Biotério da UFSC (UFSC - Florianópolis, SC, Brasil). Os camundongos foram alojados em microambiente de sistema aberto, em caixas de propileno (42 x 34 x 17 cm), forradas com maravalha não estéril, mantidas no biotério de manutenção do Laboratório de Neurociência Experimental (LaNEx - UNISUL - Palhoça, SC, Brasil), em condições controladas de temperatura ($21 \pm 2^\circ\text{C}$) e umidade (60% - 80%), com ciclo claro/escuro de 12 horas (das 7h às 19h), com livre acesso a ração, água, e um tubo plástico (3,5 x 8 cm) para enriquecimento ambiental. Os animais dos diferentes grupos experimentais foram distribuídos aleatoriamente entre as caixas, entre 10 a 12 animais por caixa.

5.2.3 Delineamento experimental e cálculo amostral

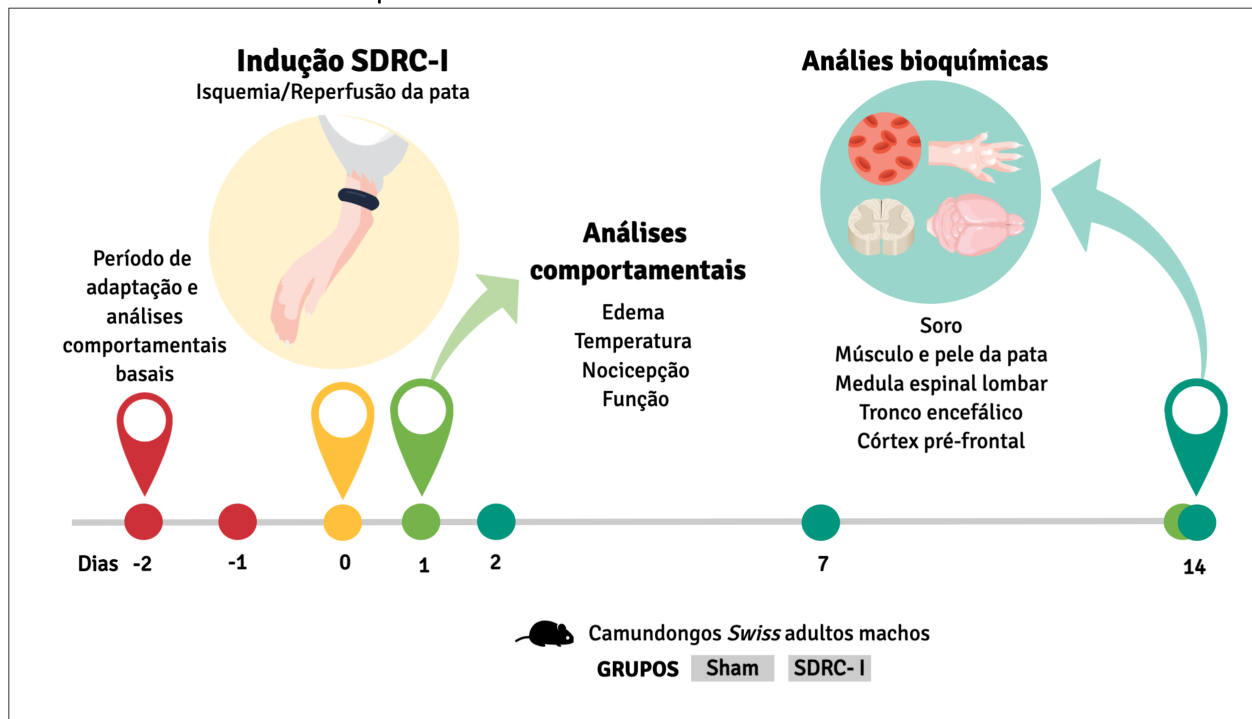
O delineamento experimental é apresentado na Figura 12. Os animais foram divididos em 2 grupos, como unidades experimentais: (1) Grupo sham, os animais não foram submetidos ao modelo experimental da SDRC-I; (2) Grupo SDRC-I, os animais

foram submetidos ao modelo experimental da SDRC-I. O cálculo amostral foi baseado na equação de Wayne (2009) $N = \{[(z \text{ alpha} + z \text{ beta}) * s] / \sigma\}^2$, com valores alfa e z alfa fixados em 0,05 e 1,96, e beta e valores de z beta determinados em 0,10 e 1,28, respectivamente. Um mínimo de 40% foi estabelecido como o valor da diferença entre as médias do grupo (σ) para a nocicepção mecânica, e o (s) valor (es) do (s) desvio (s) padrão foi estabelecido em 35% em relação ao valor médio. Assim, $N = \{[(1,96 + 1,28) * 35] / 40\}^2 = 8$. Com uma perda de aproximadamente 35% em relação a indução do modelo, os grupos iniciaram com 14 animais cada.

O experimento foi realizado em 3 etapas distintas: (1) Experimento 1 ($n = 28$), os animais foram submetidos à análise de sinais da SDRC-I quanto ao edema, temperatura, nocicepção mecânica e ao frio, e comportamento espontâneo relacionado à dor, e eutanasiados ao 14º dia pós-indução do modelo com coleta de amostras biológicas para análises bioquímicas; (2) Experimentos 2 ($n = 28$), 3 ($n = 28$) e 4 ($n = 28$), os animais foram eutanasiados no 2º, 7º e 14º dia pós-indução do modelo com coleta de amostras biológicas para análises bioquímicas; (3) Experimento 5 ($n = 28$), os animais foram submetidos a análise de comportamentos supraespinais relacionados à dor e eutanasiados no 14º dia pós-indução do modelo, com coleta de amostras biológicas para análises bioquímicas. Para a realização de todas as etapas do estudo, foram utilizados 140 animais.

Os pesquisadores não foram cegados devido à diferença na identificação de cores para testes comportamentais e análises bioquímicas. As análises de vídeos referentes aos testes comportamentais foram realizadas por pesquisadores cegados.

Figura 12 – Delineamento experimental para análises de comportamentos e bioquímicas no modelo animal de SDRC-I.



Fonte: Elaborada pela autora.

Notas: O período de adaptação indica dois dias em que os animais foram expostos aos ambientes de realização das análises comportamentais. Em seguida, ocorreu a indução do modelo da SDRC-I. As análises comportamentais foram realizadas ao longo de quatorze dias após a indução do modelo da SDRC-I. As amostras biológicas foram coletadas para análises bioquímicas no segundo, sétimo e décimo quarto dias pós-indução. SDRC-I: Síndrome de Dor Regional Complexa Tipo I.

5.2.4 Indução do modelo experimental de SDRC-I por isquemia/reperusão

A indução do modelo experimental da SDRC-I foi realizada em ambiente com temperatura controlada (24-26° C), no período da manhã. Os animais foram pré anestesiados com lidocaína (0,5%, intraperitoneal (IP)) e após 10 minutos foram anestesiados com tiopental (50 mg / kg, IP), e quando necessário receberam doses de reforço de tiopental (25 mg / kg, IP). Após verificar a perda do estado de consciência do animal, foi colocado um anel elástico com diâmetro interno de 1,3 mm (Uniden, Sorocaba, SP, Brasil) proximal à articulação do tornozelo do membro posterior direito, que permaneceu pelo período de três horas nos animais do Grupo SDRC-I (MILLECAMPS; LAFERRIÈRE; RAGAVENDRAN; STONE *et al.*, 2010). Ao final das três horas, o anel elástico foi cortado permitindo a reperusão da pata. Os animais do grupo

Sham foram submetidos à anestesia pelo mesmo período de três horas, sem a colocação do anel elástico. Os animais foram mantidos em ambiente aquecido com lubrificação ocular durante todo o período de anestesia. A indução do modelo experimental da SDRC-I desencadeia sinais característicos de dor inflamatória e dor neuropática. Não foi utilizado nenhum tipo de analgesia no período pós-indução, uma vez que o objetivo principal do estudo foi verificar a presença de sinais, bem como de mediadores inflamatórios relacionados à SDRC-I.

5.2.5 Análises comportamentais de sinais da SDRC-I

Os animais foram submetidos às análises comportamentais, em ambiente com temperatura controlada (20-22° C), no período da manhã, com disposição aleatória entre os grupos, e mantidos para habituação por pelo menos 1 hora antes dos testes. Previamente a realização das análises comportamentais, os animais foram submetidos à adaptação em cada ambiente e aparelho de avaliação.

5.2.5.1 Edema

A presença de edema foi mensurada pela espessura da porção média da pata traseira direita do animal. Para tal, foi utilizado um micrômetro digital (Insize, São Paulo, SP, Brasil) posicionado entre a superfície dorsal e ventral da pata (MAZZARDO-MARTINS; SALM; WINKELMANN-DUARTE; FERREIRA *et al.*, 2018). Três medidas foram realizadas para obter um valor médio. A medida de resultado para o edema é apresentada pela espessura da pata traseira direita em milímetros.

5.2.5.2 Hiperemia

A temperatura da superfície ventral da pata traseira direita do animal foi verificada por meio de uma câmera termográfica (Testo 880, Campinas, SP, Brasil) com precisão de 0,1°C e espectro infravermelho de 7,5 a 13 m (MAZZARDO-MARTINS; SALM; WINKELMANN-DUARTE; FERREIRA *et al.*, 2018). Três medidas foram realizadas para

obter um valor médio. A medida de resultado para hiperemia é apresentada pela temperatura da pata traseira direita em graus *Celsius*.

5.2.5.3 Nocicepção

5.2.5.3.1 Nocicepção mecânica

A frequência de resposta nociceptiva ao estímulo mecânico foi verificada pela aplicação do monofilamento de von Frey de 0,4 g, 10 vezes (Stoelting, Wood Dale, IL, Estados Unidos), para avaliação da alodinia (BOBINSKI; MARTINS; BRATTI; MAZZARDO-MARTINS *et al.*, 2011). Os animais foram colocados individualmente em uma caixa de acrílico (9 x 7 x 11 cm) sem fundo, posicionada sobre uma plataforma de tela de arame que permitiu acesso a região ventral da pata traseira direita dos animais. A medida de resultado referente a nocicepção mecânica é o percentual de retiradas da pata traseira direita.

5.2.5.3.2 Nocicepção ao frio

A nocicepção ao frio foi avaliada pelo teste da acetona. Os animais foram colocados individualmente em uma caixa de acrílico (9 x 7 x 11 cm) sem fundo, posicionada sobre uma plataforma de tela de arame que permitiu acesso a região ventral da pata traseira direita dos animais. Foram espirrados 20 µL de acetona na pata traseira direita e, em seguida, cronometrado o tempo em que o animal exibia comportamentos hiperalgésicos (como retirar, sacudir ou lambe a pata) ao longo de 2 minutos (MAZZARDO-MARTINS; SALM; WINKELMANN-DUARTE; FERREIRA *et al.*, 2018). A medida de resultado referente a nocicepção ao frio é o tempo em segundos de comportamentos hiperalgésicos.

5.2.5.3.3 Locomoção espontânea

Para relacionar a locomoção espontânea dos animais à presença de dor espontânea e possível comportamento tipo-ansioso, a função de locomoção foi avaliada

pelo teste de campo aberto. Em uma arena de madeira (40 cm x 40 cm x 50 cm), os animais foram colocados individualmente no centro, permitindo a exploração livre por 5 minutos (BOBINSKI; TEIXEIRA; SLUKA; SANTOS, 2018). O teste foi filmado com câmera de vídeo digital (Câmera Digital Canon EOS Rebel T6 18MP - 3 Full HD) e posteriormente analisado no *software ANYmaze* (Stoelting, Wood Dale, IL, Estados Unidos). As medidas de resultado obtidas foram a distância total percorrida (em metros), a velocidade máxima atingida (metros / segundos), o número de entradas e o tempo despendido (em segundos) no centro do aparelho, bem como o tempo despendido (em segundos) nos cantos.

5.2.5.3.4 Teste de esquiva ao estímulo mecânico

O teste foi realizado em um aparato que possui três diferentes compartimentos de acrílico vermelho transparente (HARTE; MEYERS; DONAHUE; TAYLOR *et al.*, 2016). O compartimento 1 (12,5 cm³), é iluminado com LED (10.000 lux), servindo como um estímulo levemente aversivo, para favorecer a "fuga" do animal para os compartimentos escuros. Este compartimento claro, com luz LED, é separada do resto do aparato por uma barreira móvel. O compartimento 2 (27 cm de comprimento) conecta os compartimentos 1 e 3, e possui o piso composto por sondas de aço (0,5 mm de diâmetro e 5 mm de altura), que promovem um estímulo mecânico nas patas dos animais. Já o compartimento 3 (12,5 cm³), é escuro e fica na extremidade oposta ao compartimento 1. Para o teste, os animais foram colocados no compartimento 1 com a barreira fechada e permaneceram com o LED apagado por 15 segundos. Em seguida, o LED foi aceso e, após 20 segundos, a barreira removida. Se o animal não saísse do compartimento claro em 60 segundos, ou não chegasse ao compartimento escuro em mais 60 segundos, era retirado do aparato. O teste possibilita a análise de processamento supraespinhal da nocicepção relacionado a estímulo nocivo mecânico e a aversão a luz. O teste foi realizado 3 vezes para cada animal, com intervalo mínimo de 10 minutos entre cada execução. O teste foi filmado com câmera de vídeo digital (Câmera Digital Canon EOS Rebel T6 18MP - 3 Full HD) e posteriormente analisado, obtendo-se as medidas de resultado de latência para saída do compartimento claro (em segundos), tempo para

chegar ao ponto médio do aparato (em segundos), tempo para chegar no compartimento escuro (em segundos).

5.2.5.3.5 Teste de fuga/esquiva

Para avaliar o processamento supraespinal da nocicepção, foi utilizado o teste de fuga/esquiva (BOBINSKI; TEIXEIRA; SLUKA; SANTOS, 2018; REFSGAARD; HAUBRO; PICKERING; STUART *et al.*, 2016). O aparato do teste consistiu em uma caixa de acrílico (16 cm x 7 cm x 13 cm), colocada em cima de uma tela de arame. A metade direita da caixa era preta (compartimento escuro), enquanto a outra metade era transparente (compartimento claro), com acesso entre as duas metades. Durante o teste, os camundongos puderam se mover livremente para os dois lados da caixa por 30 minutos. Nesse período, foi realizada estimulação mecânica na superfície ventral da pata posterior direita ou esquerda, com o filamento de von Frey de 4,0 g (uma vez a cada 10 segundos, por 30 minutos). A pata traseira direita (ipsilateral à indução da SDRC-I) foi estimulada quando o animal estava no compartimento escuro, e a pata traseira esquerda (contralateral à indução da SDRC-I) foi estimulada quando o animal estava no compartimento claro. O teste possibilita a análise de processamento supraespinal da nocicepção relacionado a estímulo nocivo mecânico e a aversão a luz. O resultado dessa avaliação é o tempo (em minutos) que o animal permaneceu no compartimento claro.

5.2.5.3.6 Escala de expressões faciais de dor

Cada animal foi colocado individualmente em uma caixa com duas paredes de acrílico transparentes e duas paredes opacas pretas (9 x 7 x 11 cm) que permitem o registro da face do animal. Cada animal foi filmado por 20 minutos em uma vista frontal e lateral (paredes transparentes) com duas câmeras de vídeo digital (Câmera Digital Canon EOS Rebel T6 18MP - 3 Full HD). Após a filmagem, foi capturada uma imagem a cada 2 a 3 minutos, para obter um total de 10 imagens da face de cada animal. Posteriormente, as imagens foram analisadas com a escala que codifica 5 unidades de ação de expressões faciais (abertura orbital, protuberância nasal, protuberância da

bochecha, posição das orelhas e posição das vibrissas) em três diferentes níveis de intensidade que 0 - sem presença, 1 - presença moderada, e 2 - a presença severa de unidade de ação (LANGFORD; BAILEY; CHANDA; CLARKE *et al.*, 2010). A medida de resultado desta avaliação é a pontuação da escala de expressões faciais de dor.

5.2.6 Análises bioquímicas

Ao final do protocolo experimental, os animais foram anestesiados com isoflurano (2-3% a 100% de oxigênio) e eutanasiados por decapitação para coleta de pele e tecido muscular da pata traseira direita, sangue, medula espinal lombar (L1-L6), córtex pré-frontal e tronco encefálico que foram devidamente coletadas em nitrogênio líquido e armazenados em freezer -80°C até as análises. As amostras de sangue foram centrifugadas a 3000 × g, por 10 min, a 4°C para retirada do soro para análise. Posteriormente, as amostras foram processadas para o ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA, do inglês *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) ou de *Western Blotting* (WB).

5.2.6.1 ELISA

Para avaliar os níveis de citocinas pró e anti-inflamatórias as amostras foram homogeneizadas (Ultraturrax, IKA, Wilmington, NC, Estados Unidos) em tampão de fosfato, contendo: 0,05% de Tween 20, 0,1 mM de cloreto de benzetônio, 10 mM de ácido etilenodiamina tetracético (EDTA), 0,4 mM de NaCl, 2 µg de aprotinina / ml , Fluoreto de fenilmetilsulfonil 0,1 mM (PMSF) e albumina de soro bovino a 0,5% (BSA). Posteriormente, os homogenatos foram centrifugados a 3000 × g, por 10 min, a 4 °C para remoção do sobrenadante, que foi utilizado para o ensaio. Os níveis de TNF (Thermo Fisher Scientific 88-7324-22), IL-4 (Thermo Fisher Scientific 88-7044-22), IL-10 (Thermo Fisher Scientific 88-7105-22), proteína-1 quimioatraente de monócitos (MCP-1) (Thermo Fisher Scientific 88-7391-22) e fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF) (R&D Systems DY248) foram analisados usando kits de ELISA (Thermo Fisher Scientific, Rockford, IL, USA; R&D Systems, Minneapolis, MN, Estados Unidos), de acordo com as recomendações do fabricante. O teor de proteína total foi mensurado a partir do

sobrenadante usando o método de Bradford (BRADFORD, 1976). A absorvância, após o teste, foi medida em leitor de placas a 450 e 550 nm (Perlong DNM-9602, Nanjing Perlove Medical Equipment Co, Nanjing, China). A medida de resultado obtida nesse ensaio é demonstrada em pg citocina / mg de proteína para tecido e pg citocina / mL para o soro.

5.2.6.2 *Western Blotting*

O ensaio de WB foi utilizado para a quantificação do imunocnteúdo de receptores μ -opioides no tronco encefálico e córtex pré-frontal. As amostras foram homogeneizadas (Ultraturrax, IKA, Wilmington, NC, Estados Unidos) e incubadas em tampão de lise RIPA. O conteúdo proteico foi mensurado pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976). As amostras foram submetidas à eletroforese em gel de poliacrilamida a 10% e transferidas para uma membrana de PVDF, que foi bloqueada e incubada com o anticorpo primário anti-receptor μ -opioide (1:5000, AB1580-I, Merk KGaA, Darmstadt, Alemanha). Em sequência, a membrana foi lavada e incubada com o anticorpo secundário apropriado, em temperatura ambiente por duas horas. Após esse período, foi realizada a exposição da membrana ao kit de quimiluminescência (ECL) e revelação através de um fotodocumentador (iBright Imaging Systems, Invitrogen/Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA). As análises quantitativas das bandas foram realizadas por densitometria com o auxílio do programa do próprio fotodocumentador. Os valores foram normalizados utilizando os valores obtidos para a β -actina. A medida de resultado apresentada como unidades arbitrárias.

5.2.7 **Análise estatística**

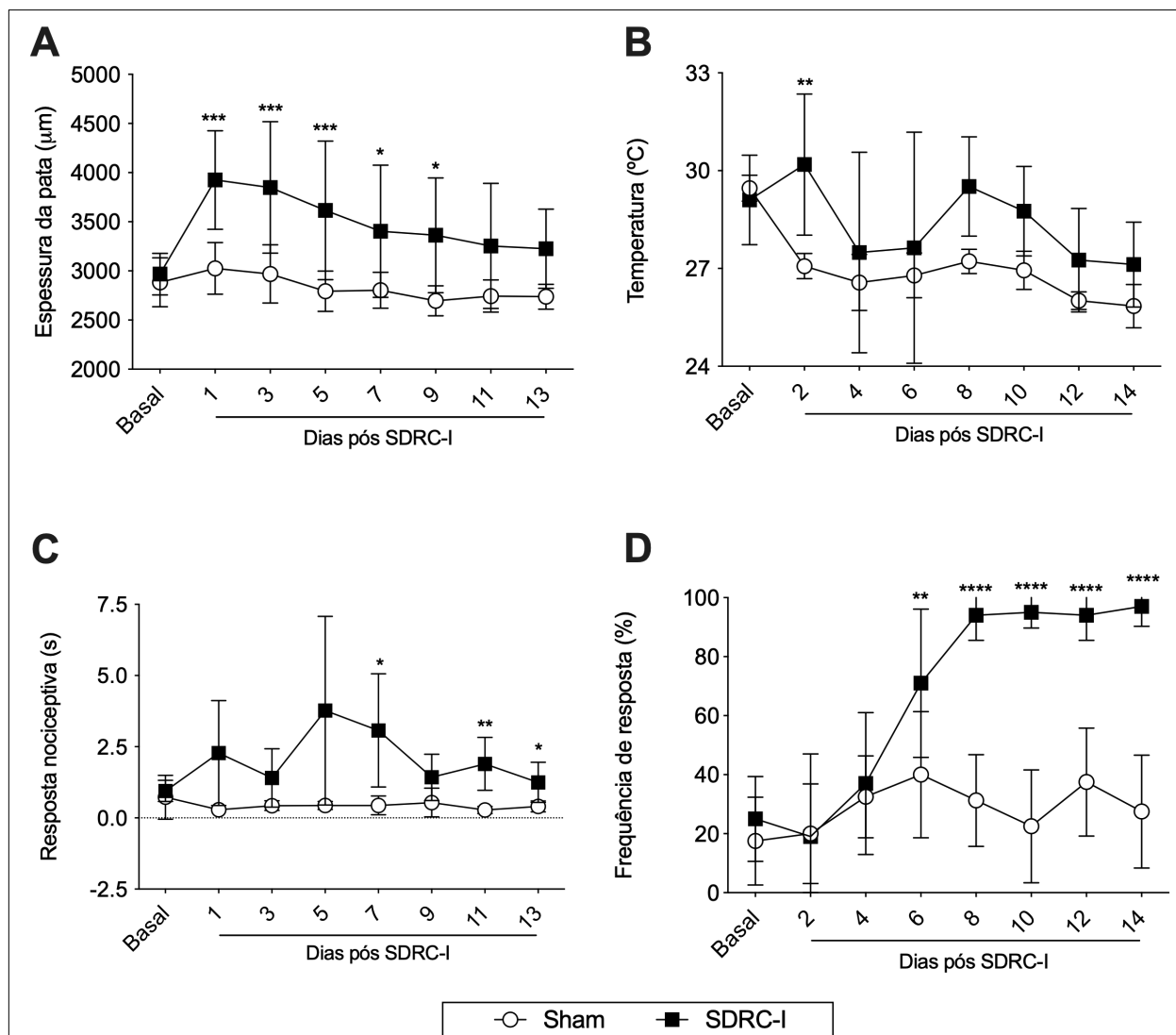
O resultado primário deste estudo foi a nocicepção mecânica. Os desfechos secundários consistem nas análises de edema, temperatura e outros testes de nocicepção, bem como as análises bioquímicas. A distribuição de normalidade dos dados foi avaliada para cada medida de resultado pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Verificada a distribuição normal dos grupos, foi realizada análise de variância (ANOVA) de duas vias seguida de post-hoc apropriado ou teste t não pareado. Valores de $p < 0,05$

foram considerados significativos. Os dados são apresentados como média \pm desvio padrão (distribuição normal). Os valores das estatísticas descritivas e inferenciais para cada medida de resultado estão disponíveis no Apêndice E.

5.3 RESULTADOS

Para verificar a presença de sinais clássicos da SDRC-I neste modelo experimental, foram analisadas a espessura e a temperatura da pata traseira direita, bem como a nocicepção mecânica e térmica ao frio (Figura 13). A indução da SDRC-I causou aumentos significativos na espessura da pata traseira direita dos animais, nos dias 1 ($p = 0,0002$), 3 ($p = 0,0002$), 5 ($p = 0,0007$), 7 ($p = 0,0315$) e 9 ($p = 0,0111$) (Figura 13A). Também houve aumento, menor, mas significativo, na temperatura da pata traseira direita no dia 2 ($p = 0,0043$) nos animais do grupo submetido ao modelo experimental da SDRC-I (Figura 13B). Esse aumento na temperatura da pata não foi significativo nos demais dias avaliados (Figura 13B). Também observamos que houve aumento da resposta nociceptiva ao frio no grupo SDRC-I nos dias 7 ($p = 0,0201$), 11 ($p = 0,0031$) e 13 ($p = 0,0360$) quando comparado ao grupo Sham (Figura 13C). A indução da SDRC-I também ocasionou aumento significativo na frequência de resposta ao estímulo mecânico nos dias 6 ($p = 0,0029$), 8 ($p < 0,0001$), 10 ($p < 0,0001$), 12 ($p < 0,0001$) e 14 ($p < 0,0001$) (Figure 13D).

Figura 13- SDRC-I induz alterações de edema, temperatura e nocicepção mecânica e térmica ao frio.

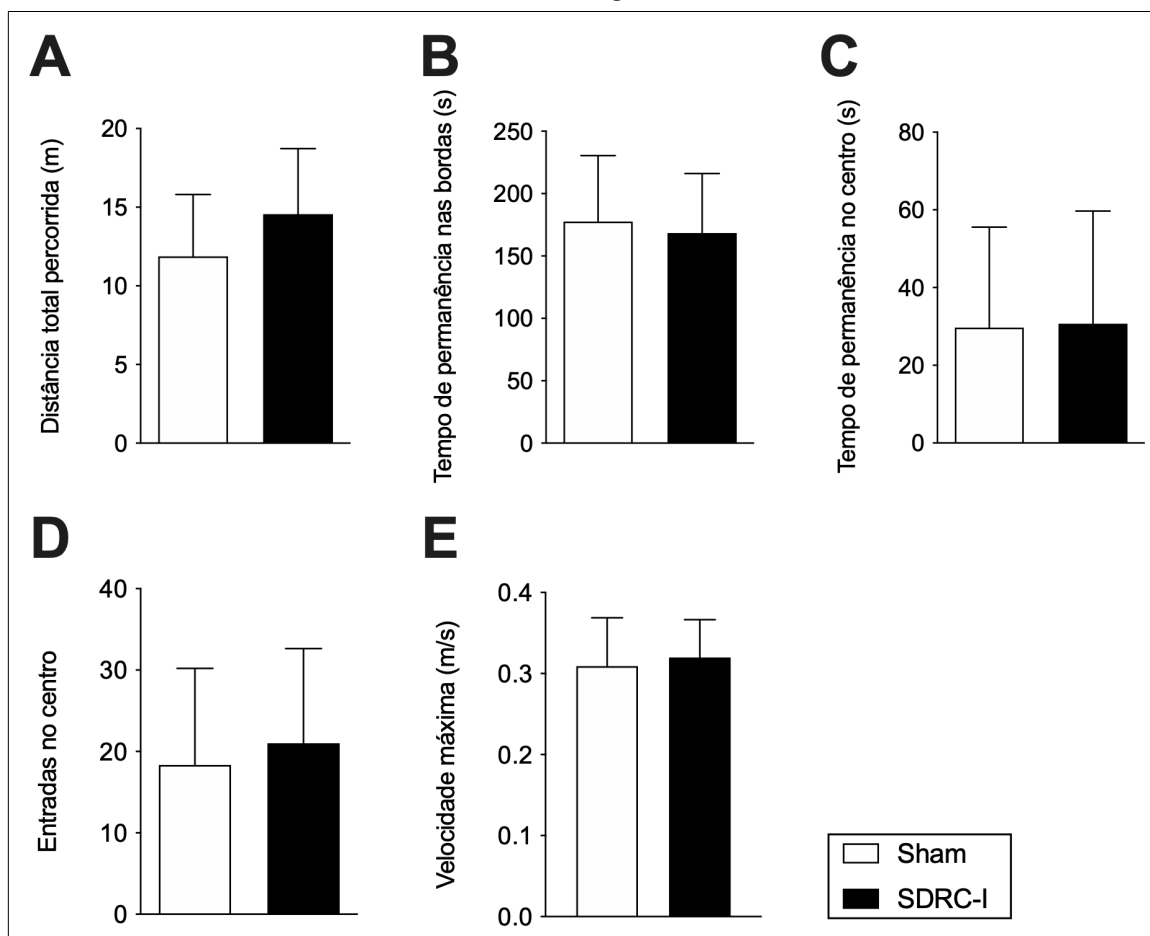


Fonte: Elaborada pela autora.

Legenda: Edema (A), temperatura (B), nocicepção térmica ao frio (C) e nocicepção mecânica (D) foram analisados em diferentes momentos, conforme indicado no eixo horizontal. Os dados são expressos como média \pm desvio padrão e foram analisados por ANOVA de duas vias, seguida do teste post-hoc de Bonferroni. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ para comparações entre os grupos Sham vs. SDRC-I.

No 14º dia após a indução da SDRC-I, os animais foram submetidos ao teste de campo aberto para análise da locomoção espontânea, que tem sido relatada como inversamente proporcional à dor espontânea, sendo esta uma das principais características da dor neuropática e ao comportamento tipo-ansioso relacionado a dor (Figura 14). Especificamente, foram analisadas a distância total percorrida (Figura 14A), tempo de permanência nas bordas (Figura 14B), tempo de permanência no centro (Figura 14C), entradas no centro (Figura 14D) e velocidade máxima (Figura 14E). Não foram observadas mudanças significativas relacionadas a indução da SDRC-I.

Figura 14 – Modelo experimental da SDRC-I não altera a locomoção espontânea de camundongos.

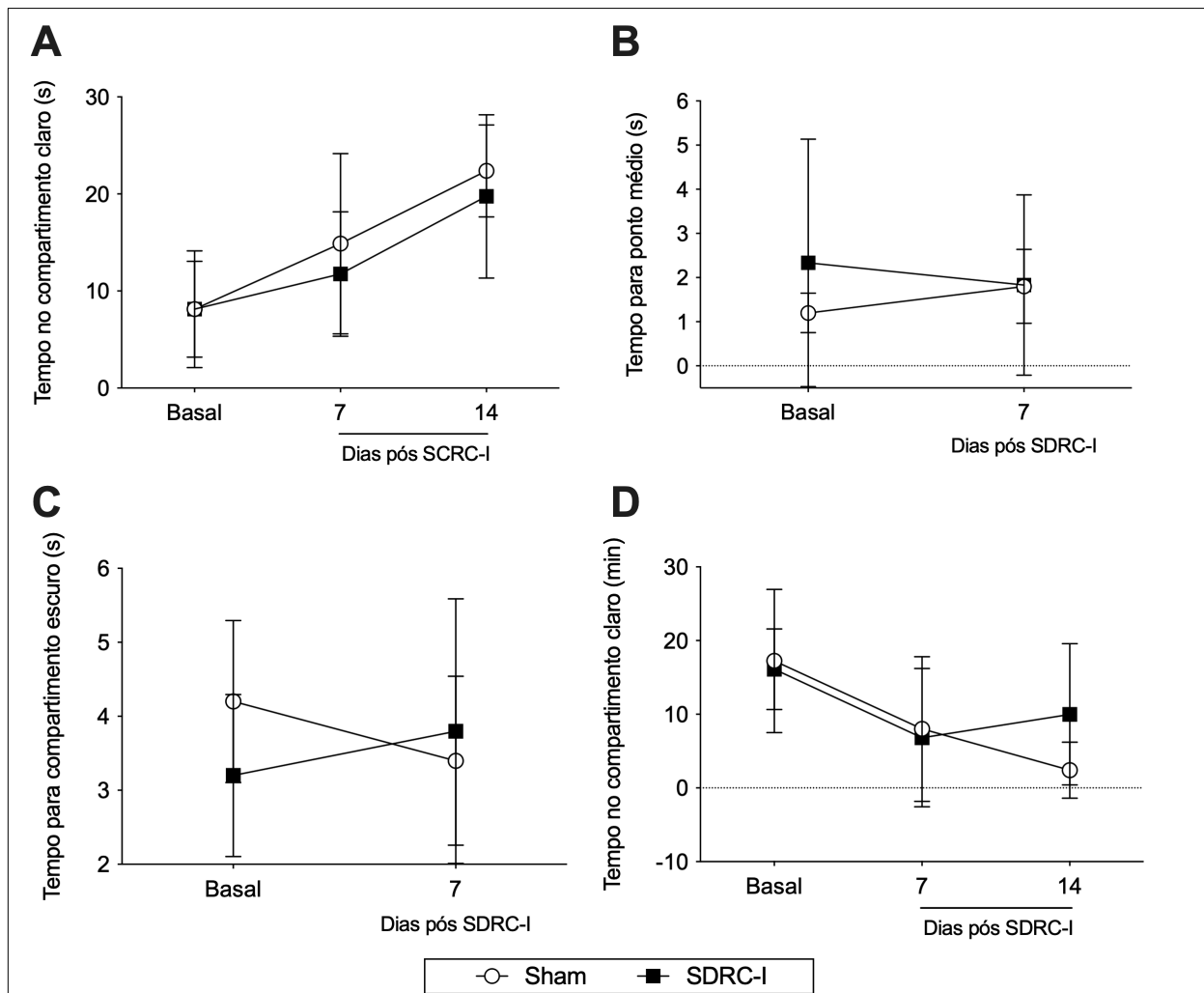


Fonte: Elaborada pela autora.

Legenda: (A) Análise da distância total percorrida, (B) tempo de permanência nas bordas e (C) no centro, (D) número de entradas no centro e (E) a velocidade máxima alcançada. Análises referentes ao 14º dia pós-indução da SDRC-I. Os dados são expressos em média ± desvio padrão, analisados estatisticamente pelo teste t não pareado.

Os animais também foram submetidos ao teste de esquiva ao estímulo mecânico para investigar possíveis comportamentos supraespinais relacionados à dor. Na avaliação basal, não houve diferença entre os grupos quanto ao tempo no compartimento claro (Figura 15A), tempo para chegar ao ponto médio do aparato (Figura 15B) e tempo para chegar no compartimento escuro (Figura 15C). Não foram observadas mudanças decorrentes da indução da SDRC-I em todos os parâmetros avaliados (Figura 15A-C). Ressalta-se ainda que ao realizar a avaliação aos 14^o pós indução, os animais apresentaram habituação ao estímulo de luz e não percorreram o caminho até o ponto médio do aparato, bem como o caminho até o compartimento escuro. Também, a fim de investigar a potencial evitação a um estímulo doloroso nos animais, o tempo de permanência no compartimento claro foi analisado por meio do teste de fuga/esquiva (Figura 15D). Não houve diferenças significativas entre os grupos Sham e SDRC-I quanto a permanência no compartimento claro tanto na avaliação basal quanto aos 7^o e 14^o após indução.

Figura 15– Comportamentos supraespinais relacionados a dor não são alterados no modelo experimental da SDRC-I.

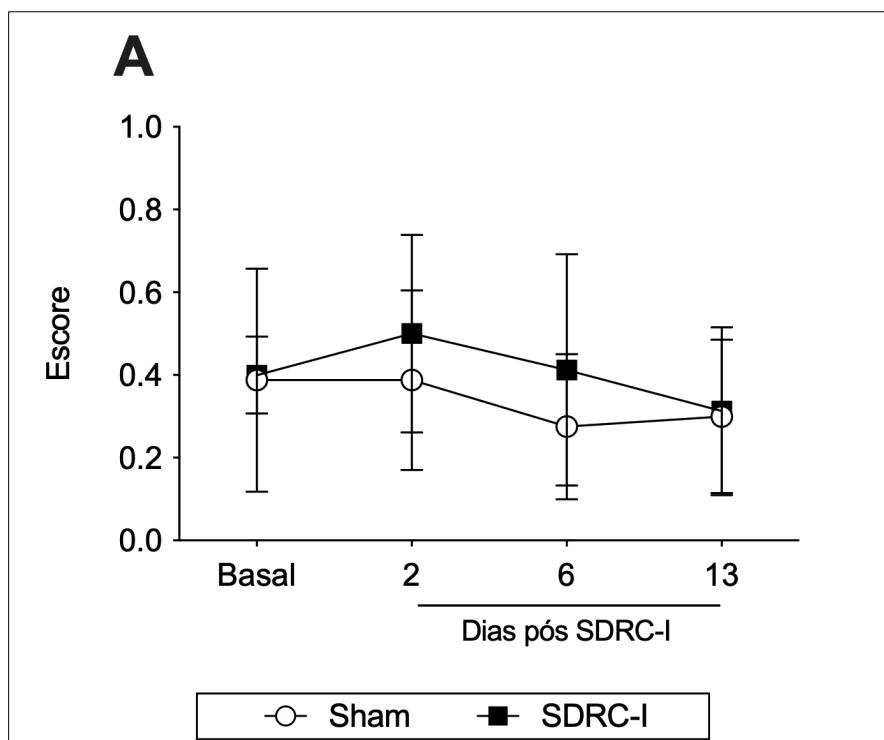


Fonte: Elaborada pela autora.

Legenda: (A) Análise do tempo de permanência no compartimento claro, (B) tempo para chegar ao ponto médio do aparato e (C) para chegar ao compartimento escuro no teste de esquila ao estímulo mecânico. (D) Análise do tempo de permanência no compartimento claro em minutos no teste de fuga/esquiva. Os gráficos (A) e (D) apresentam as avaliações basais e aos 7º e 14º dias pós indução da SDRC-I. Os gráficos (B) e (C) apresentam as avaliações basais e ao 7º dia pós indução da SDRC-I. Os dados são expressos como média \pm desvio padrão, analisados estatisticamente usando ANOVA de duas vias.

Utilizamos a escala de expressões faciais de camundongos para quantificar as expressões faciais de dor ao iniciar o protocolo experimental, e nas fases aguda (dias 2 e 6) e crônica (dia 13) pós indução da SDRC-I (Figura 16). Independentemente do tempo em que ocorreram as avaliações, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos sham e SDRC-I quanto ao escore de expressões faciais de dor.

Figura 16 – Modelo experimental da SDRC-I não altera as expressões faciais de dor em camundongos.



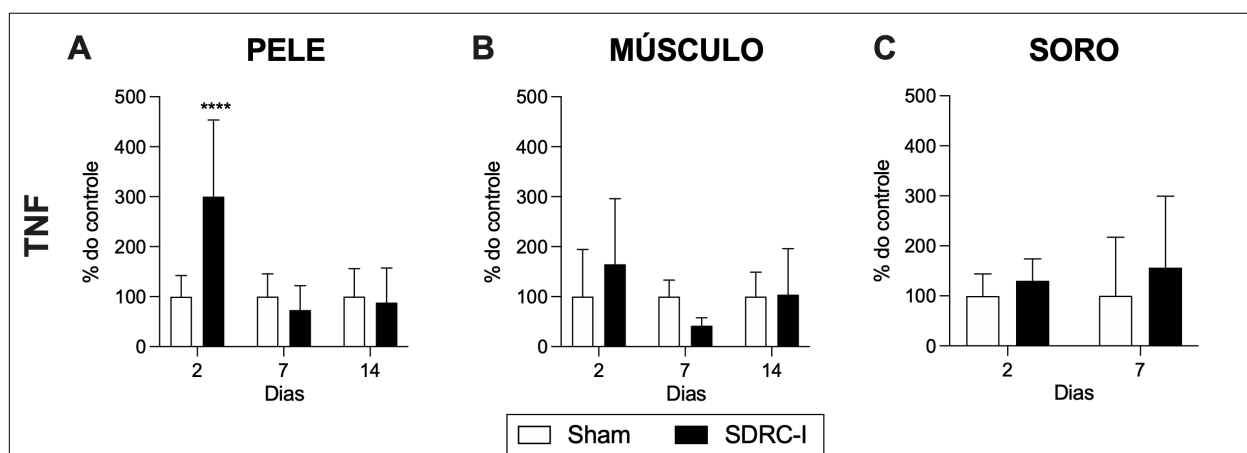
Fonte: Elaborada pela autora.

Legenda: (A) Escore da escala de expressões faciais para camundongos nas avaliações basais, aos 2º, 6º e 13º dias pós indução da SDRC-I. Os dados são expressos como média \pm desvio padrão, analisados estatisticamente usando ANOVA de duas vias.

Os níveis do mediador pró-inflamatório TNF foram avaliados na pele e músculo da pata traseira direita e no soro dos animais, aos 2º, 7º e 14º dias pós indução da SDRC-I (Figura 17). Os níveis de TNF na pele da pata traseira foram significativamente maiores ($p = <0,0001$) no dia 2 pós indução nos camundongos do grupo SDRC-I em comparação aos camundongos do grupo Sham (Figura 17A). No entanto, tal aumento nos níveis de TNF na pele da pata não foram observados nos 7º e 14º dias pós indução da SDRC-I (Figura 17A). Não houve diferença significativa nos níveis de TNF no músculo da pata

traseira entre os animais do grupo Sham e grupo SDRC-I aos 2º, 7º ou 14º dias pós indução (Figura 17B). Além disso, verificamos que não houve alterações nas concentrações séricas de TNF aos 2º e 7º dias pós indução da SDRC-I (Figura 17C). As concentrações séricas de TNF aos 14º dias pós indução não são apresentadas na Figura 6C pois estavam abaixo do limiar de quantificação do teste realizado.

Figura 17 – Indução da SDRC-I promove aumento dos níveis de TNF na pele da pata.

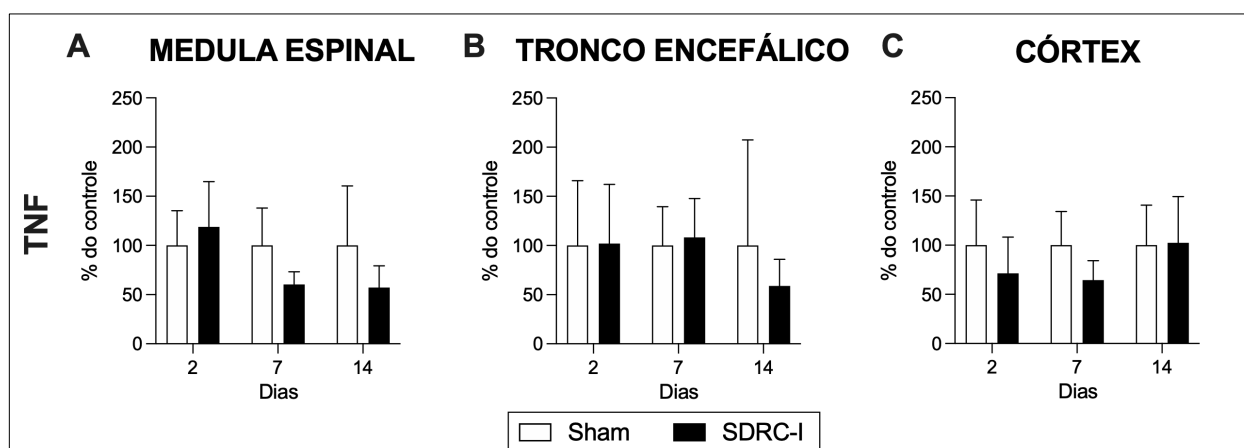


Fonte: Elaborada pela autora.

Legenda: (A) TNF na pele da pata traseira direita aos 2º, 7º e 14º dias pós SDRC-I; (B) no músculo da pata traseira direita aos 2º, 7º e 14º dias pós SDRC-I; e no (C) soro aos 2º e 7º dias pós SDRC-I. Os dados são expressos como % do controle. A concentração de TNF foi de $1,914 \pm 0,81$ pg/mg de proteína no dia 2, $1,081 \pm 0,49$ pg/mg de proteína no dia 7 e $0,258 \pm 0,14$ pg/mg de proteína no dia 14 na pele. A concentração de TNF foi de $1,321 \pm 1,24$ pg/mg de proteína no dia 2, $0,4501 \pm 0,14$ pg/mg de proteína no dia 7 e $0,242 \pm 0,11$ pg/mg de proteína no dia 14 no músculo. A concentração de TNF foi de $34,24 \pm 15,01$ pg no dia 2, e $0,563 \pm 0,66$ pg no dia 7 no soro. Os dados foram analisados estatisticamente por ANOVA de duas vias, seguida do teste post-hoc de Tukey. **** $p < 0,0001$ para comparações entre os grupos Sham vs. SDRC-I.

A fim de explorar a relação entre as alterações do SNC e o quadro de dor no contexto experimental da SDRC-I, também investigamos os níveis do mediador pró-inflamatório TNF (Figura 18) e do fator neurotrófico BDNF (Figura 19) em estruturas determinantes no processamento da dor. Inicialmente, quantificamos as concentrações de TNF na medula espinal lombar (Figura 18A), tronco encefálico (Figura 18B) e córtex pré-frontal (Figura 18C) nos dias 2, 7 e 14 dias após a indução da SDRC-I. Conforme apresentado na Figura 7, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos nos diferentes tempos em que ocorreram as análises. Já com relação aos níveis do fator neurotrófico BDNF, também não foram observadas diferenças significativas entre os grupos na medula espinal lombar (Figura 19A), tronco encefálico (Figura 19B) e córtex pré-frontal (Figura 19C), independentemente do tempo em que ocorreu a análise.

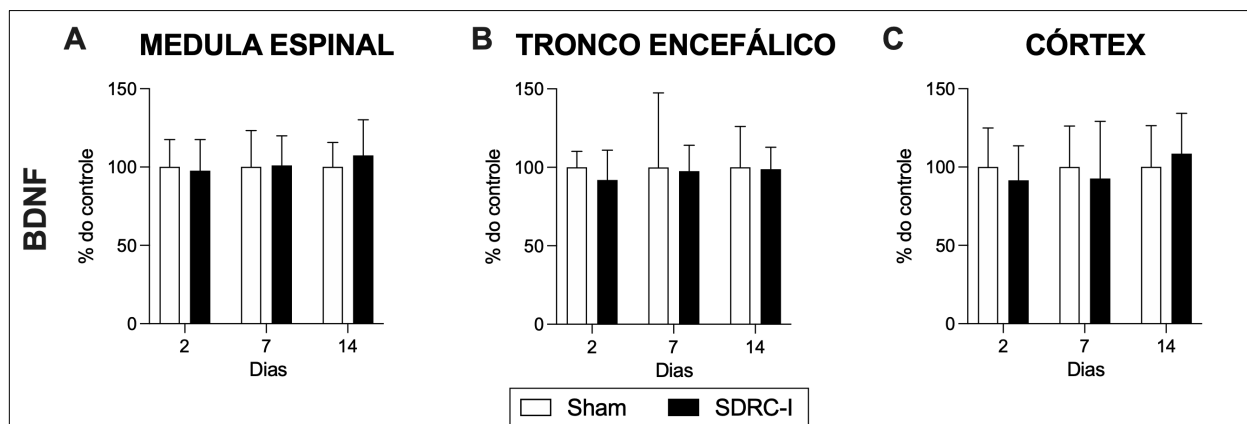
Figura 18 – As concentrações de TNF na medula espinal lombar, tronco encefálico e córtex pré-frontal não são afetadas pela indução da SDRC-I.



Fonte: Elaborada pela autora.

Legenda: (A) TNF na medula espinal lombar aos 2º, 7º e 14º dias pós SDRC-I; (B) no tronco encefálico aos 2º, 7º e 14º dias pós SDRC-I; e no (C) córtex pré-frontal aos 2º, 7º e 14º dias pós SDRC-I. Os dados são expressos como % do controle. A concentração de TNF foi de $9,251 \pm 3,44$ pg/mg de proteína no dia 2, $0,578 \pm 0,22$ pg/mg de proteína no dia 7 e $1,265 \pm 0,76$ pg/mg de proteína no dia 14 na medula espinal. A concentração de TNF foi de $2,406 \pm 1,58$ pg/mg de proteína no dia 2, $0,387 \pm 0,15$ pg/mg de proteína no dia 7 e $2,257 \pm 2,42$ pg/mg de proteína no dia 14 no tronco encefálico. A concentração de TNF foi de $0,566 \pm 0,26$ pg/mg de proteína no dia 2, $0,320 \pm 0,11$ pg/mg de proteína no dia 7 e $0,270 \pm 0,11$ pg/mg de proteína no dia 14 no córtex pré-frontal. Os dados foram analisados estatisticamente por ANOVA de duas vias, seguida do teste post-hoc de Tukey.

Figura 19 – As concentrações de BDNF na medula espinal lombar, tronco encefálico e córtex pré-frontal não são alteradas pela indução da SDRC-I.

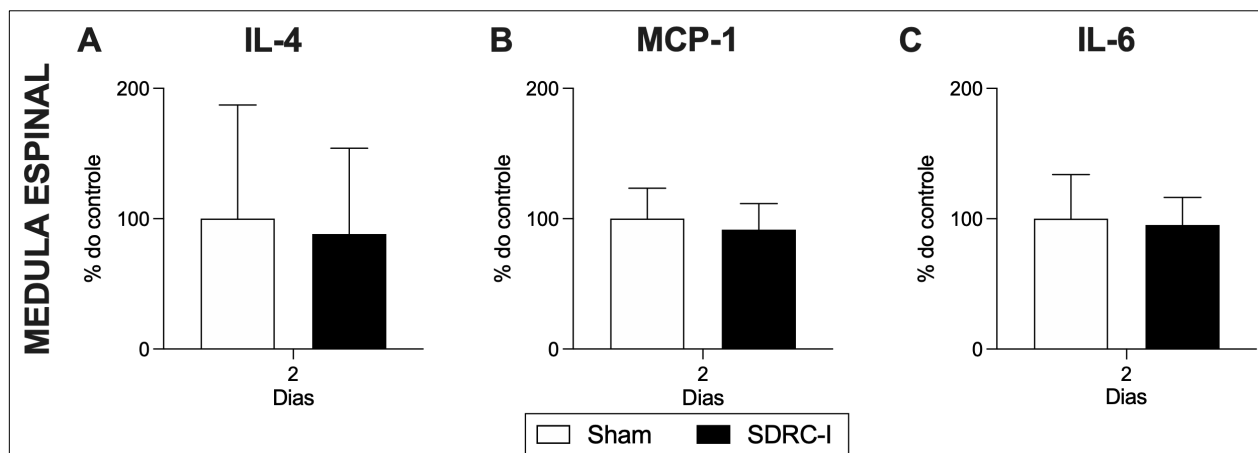


Fonte: Elaborada pela autora.

Legenda: (A) BDNF na medula espinal lombar aos 2º, 7º e 14º dias pós SDRC-I; (B) no tronco encefálico aos 2º, 7º e 14º dias pós SDRC-I; e no (C) córtex pré-frontal aos 2º, 7º e 14º dias pós SDRC-I. Os dados são expressos como % do controle. A concentração de BDNF foi de 561,7±97,9 pg/mg de proteína no dia 2, 171,4±39,7 pg/mg de proteína no dia 7 e 249,8±38,9 pg/mg de proteína no dia 14 na medula espinal. A concentração de BDNF foi de 740,9±308,4 pg/mg de proteína no dia 2, 112±53,09 pg/mg de proteína no dia 7 e 188,2±49,05 pg/mg de proteína no dia 14 no tronco encefálico. A concentração de BDNF foi de 343,4±85,2 pg/mg de proteína no dia 2, 60,09±15,6 pg/mg de proteína no dia 7 e 100,9±26,5 pg/mg de proteína no dia 14 no córtex pré-frontal. Os dados foram analisados estatisticamente por ANOVA de duas vias, seguida do teste post-hoc de Tukey.

Para melhor compreender o processo inflamatório envolvido na SDRC-I, tanto em estruturas periféricas quanto no SNC, também analisamos as concentrações dos mediadores inflamatórios IL-4, MCP-1 e IL-6 (Figura 20). Não houve diferenças significativas entre os grupos Sham e SDRC-I nas concentrações de IL-4 (Figura 20A), MCP-1 (Figura 20B), IL-6 (Figura 20C) na medula espinal lombar ao 2º dia pós indução da SDRC-I. Também analisamos a pele e o músculo da pata traseira direita dos animais e o soro quanto aos níveis de IL-4 e MCP-1, ao 2º dia pós indução. No entanto, as concentrações estavam abaixo do limiar de quantificação do teste realizado e não são apresentadas na figura.

Figura 20 – A indução da SDRC-I não altera as concentrações de IL-4, MCP-1 e IL-6 na medula espinal.

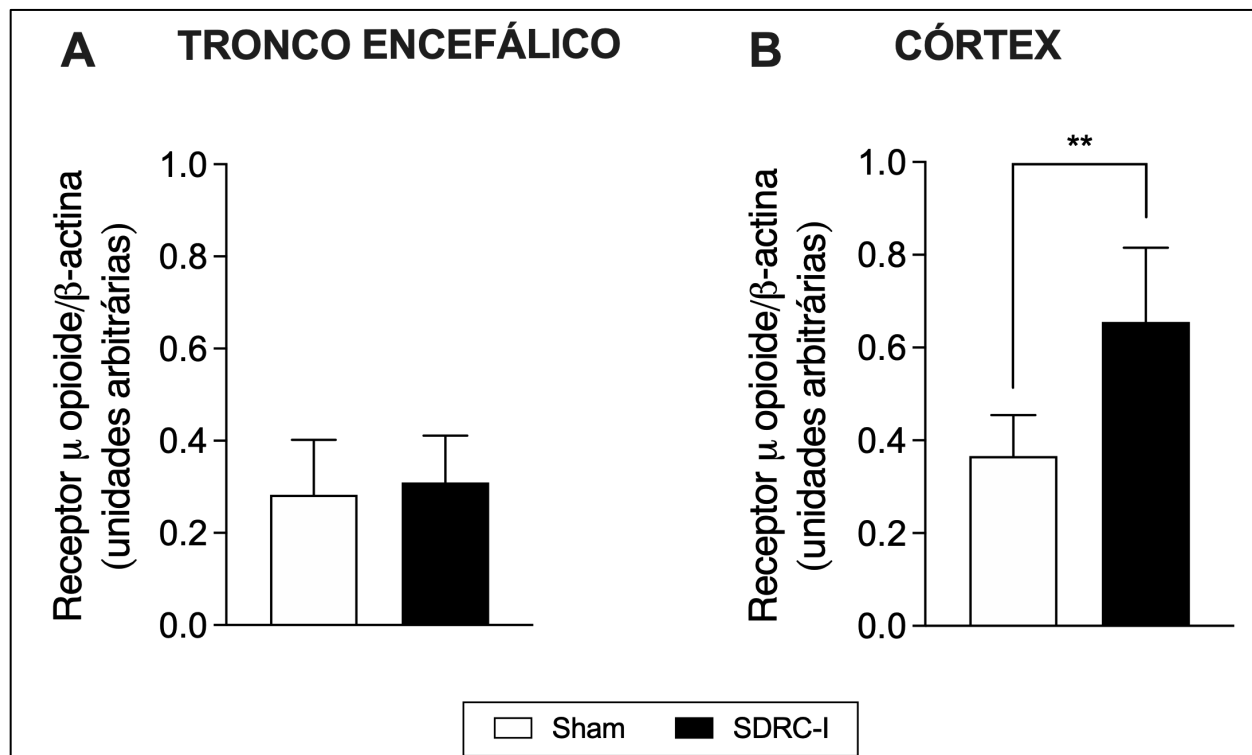


Fonte: Elaborada pela autora.

Legenda: (A) IL-4, (B) MCP-1, (C) IL-6 na medula espinal lombar ao 2º dia pós SDRC-I. Os dados são expressos como % do controle. A concentração de IL-4 foi de $19 \pm 16,28$ pg/mg de proteína. A concentração de MCP-1 foi de $3,68 \pm 0,86$ pg/mg de proteína. A concentração de IL-6 foi de $0,14 \pm 0,04$ pg/mg de proteína. Os dados foram analisados estatisticamente por ANOVA de duas vias, seguida do teste post-hoc de Tukey.

Por fim, para investigar a relação da SDRC-I com mudanças nas estruturas envolvidas no processamento central da dor no SNC, analisamos o imunocontéudo do receptor μ -opioide em amostras de tronco encefálico e córtex pré-frontal ao 14º dia após a indução, que representa a fase crônica da SDRC-I (Figura 21). O imunocontéudo dos receptores μ -opioides não apresentou alteração significativa no tronco encefálico dos animais submetidos ao modelo da SDRC-I quando comparado ao grupo Sham (Figura 21A). Já no córtex pré-frontal, o imunocontéudo de receptores μ -opioides foi significativamente maior nos animais do grupo SDRC-I ($p = 0,003$) quando comparados aos animais do grupo Sham (Figura 21B).

Figura 21 – A indução do modelo da SDRC-I aumenta o imunoconteúdo do receptor μ -opioide no córtex pré-frontal.



Fonte: Elaborada pela autora.

Legenda: (A) Imunoccontéudo de receptores μ -opioide em unidades arbitrárias no tronco encefálico e (B) córtex pré-frontal aos 14^o dias pós indução da SDRC-I. Os dados são expressos como média \pm desvio padrão, analisados estatisticamente por meio do teste t não pareado. ** $p < 0,01$ para comparações entre os grupos Sham vs. SDRC-I.

5.4 DISCUSSÃO

Este estudo mostra que a indução do modelo da SDRC-I por isquemia/reperfusão da pata, induz a presença de edema, aumento da temperatura e respostas nociceptivas aumentadas a estímulos térmico frio e mecânico. Ao estender nossa investigação para outros sinais de SDRC-I, como comportamentos de dor espontânea, respostas nociceptivas processadas por estruturas supraespinais relacionadas a dor, e expressões faciais de dor, não foram observadas mudanças significativas. Além disso, exploramos mediadores inflamatórios periféricos e centrais potencialmente envolvidos na SDRC-I. A indução da SDRC-I aumentou os níveis de TNF na pele da pata dos animais na fase aguda. Nossos dados não demonstraram alterações nos níveis de TNF no músculo, soro, medula espinal, tronco encefálico e córtex pré-frontal, bem como nos níveis de IL-4, MCP-1 e IL-6 na medula espinal e nos níveis de BDNF na medula espinal, tronco encefálico e córtex pré-frontal na comparação dos animais SDRC-I com os animais Sham. Houve um aumento significativo no imunoconteúdo de receptores μ -opioides no córtex pré-frontal, mas não no tronco encefálico. Juntos, esses achados sugerem relação dos sinais clássicos de edema, hiperemia, alodinia térmica ao frio e mecânica com o sistema opioide endógeno no modelo experimental da SDRC-I em camundongos.

A indução do modelo animal da SDRC-I causou edema e hiperemia da pata, e alodinia aos estímulos térmico ao frio e mecânico. Esses resultados vão de acordo com a literatura, uma vez que esse modelo de indução por isquemia/reperfusão da pata é reconhecido por induzir hiperemia, edema e hiperalgesia mecânica e fria em ratos (CODERRE; XANTHOS; FRANCIS; BENNETT, 2004) e camundongos (MILLECAMPS; LAFERRIERE; RAGAVENDRAN; STONE *et al.*, 2010). A presença de edema pode variar, tanto em função do gênero quanto do modelo, e quanto ao tempo após a indução da SDRC-I (BRUEHL, 2015). Apesar de variável, em modelos animais, seu início é demarcado entre o 1º e 3º dia, com regressão até o 14º dia (DE PRÁ; ANTONIAZZI; FERRO; KUDSI *et al.*, 2019; KLAFKE; DA SILVA; ROSSATO; DE PRA *et al.*, 2016; MAZZARDO-MARTINS; SALM; WINKELMANN-DUARTE; FERREIRA *et al.*, 2018). Indivíduos com SDRC-I apresentam os sinais de hiperemia e edema de forma não contínua, que podem ser observados por períodos breves ou prolongados (BRUEHL;

MAIHÖFNER; STANTON-HICKS; PEREZ *et al.*, 2016). Depois da dor, a presença de edema é o sinal mais comum da SDRC (BIRKLEIN; DIMOVA, 2017; BRUEHL, 2015). Percebe-se assim uma forte associação entre a sintomatologia clássica humana e aquela observada em animais submetidos a esse modelo (HALICKA; VITTERSØ; PROULX; BULTITUDE, 2020).

A dor é uma experiência multidimensional, que inclui tanto componentes sensoriais-discriminativos, quanto motivacionais-afetivos e cognitivos-avaliativos (RAJA; CARR; COHEN; FINNERUP *et al.*, 2020). Assim, a fim de alcançar um espectro mais amplo de avaliação da dor, analisamos a locomoção espontânea no teste de campo aberto como uma estratégia para inferir a presença dor espontânea e de comportamento tipo-ansioso. O teste de campo aberto é comumente utilizado para avaliar alterações locomotoras, mas não com relação direta a presença de dor espontânea (SHI; GUO; LI; SAHBAIE *et al.*, 2018; TAJERIAN; LEU; ZOU; SAHBAIE *et al.*, 2014; TEKUS; HAJNA; BORBELY; MARKOVICS *et al.*, 2014). A presença de dor espontânea acarretaria em uma menor distância percorrida, enquanto o comportamento tipo-ansioso em uma menor exploração das diferentes áreas do aparato (KREMER; BECKER; BARROT; YALCIN, 2021). Nossos dados não demonstraram diferenças significativas entre os grupos no teste de campo aberto. O que também foi observado em outros estudos que aplicaram o teste neste modelo (MAZZARDO-MARTINS; SALM; WINKELMANN-DUARTE; FERREIRA *et al.*, 2018; NUCCI; MAZZARDO-MARTINS; STRAMOSK; BRETHANHA *et al.*, 2012; TEKUS; HAJNA; BORBELY; MARKOVICS *et al.*, 2014).

Respostas não evocadas a dor refletem um maior grau de complexidade comportamental e neural (VIERCK; YEZIERSKI, 2015). Apesar disso, a grande maioria dos testes utilizados nas pesquisas pré-clínicas em dor não avaliam respostas não evocadas ou aspectos afetivos e cognitivos da dor (MOGIL, 2019; TUTTLE; MOLINARO; JETHWA; SOTOCINAL *et al.*, 2018). A maioria absoluta dos estudos com modelos animais da SDRC avalia a nocicepção apenas com testes reflexos, o que leva a achados que não englobam de forma completa todo o espectro da dor (CODERRE; XANTHOS; FRANCIS; BENNETT, 2004; DE MOS; LAFERRIERE; MILLECAMPS; PILKINGTON *et al.*, 2009; MILLECAMPS; LAFERRIÈRE; RAGAVENDRAN; STONE *et al.*, 2010). Uma vez que o foco das pesquisas com animais seja a translação clínica, análises com

respostas não evocadas e que englobem outros componentes da dor devem ser mais exploradas (CHAPMAN; VIERCK, 2017; MOGIL, 2019).

Acrescentando as análises comportamentais do nosso estudo, realizamos o teste de fuga/esquiva e o teste de esquiva ao estímulo mecânico. A decisão de fugir ou evitar um estímulo em paradigmas depende, em parte, das intensidades relativas do estímulo, bem como do estado motivacional do animal para sua tomada de decisão (HARTE; MEYERS; DONAHUE; TAYLOR *et al.*, 2016; VIERCK; YEZIERSKI, 2015). Esse fato é a principal diferença para testes de resposta reflexa, que não requerem ativação de regiões supraespinais, diretamente relacionadas aos aspectos multidimensionais da dor (HARTE; MEYERS; DONAHUE; TAYLOR *et al.*, 2016; VIERCK; YEZIERSKI, 2015). Os animais submetidos a indução da SDRC-I não apresentaram alterações para fuga/esquiva ao estímulo aversivo na fase aguda e crônica avaliadas. Esse resultado é inédito, uma vez que os aspectos cognitivos e emocionais da dor não foram explorados nesse modelo. Atenção e emoção são capazes de modular a dor, com impacto direto sob o planejamento e execução de ações (BUSHNELL; CEKO; LOW, 2013). Além disso, sabe-se que a função cognitiva e emocional é afetada em indivíduos com dor crônica (MORIARTY; MCGUIRE; FINN, 2011). Estes indivíduos apresentam tempo de reação maior em testes cognitivos e pior desempenho em funções executivas (ANTEPOHL; KIVILOO; ANDERSSON; GERDLE, 2003; VERDEJO-GARCÍA; LÓPEZ-TORRECILLAS; CALANDRE; DELGADO-RODRÍGUEZ *et al.*, 2009). Talvez seja necessário explorar diferentes intensidades de estímulos aversivos, bem como períodos mais crônicos para observar alterações cognitivas relacionadas a dor.

Nosso estudo destaca pela primeira vez na literatura a avaliação de expressões faciais como componente afetivo da dor no modelo animal da SDRC-I. As expressões faciais de dor são correlacionadas ao componente afetivo da dor em roedores (TUTTLE; MOLINARO; JETHWA; SOTOCINAL *et al.*, 2018). Em nossos resultados, não observamos alterações causadas pela indução da SDRC-I nas expressões faciais de dor. Langford *et al.* (2010), de forma semelhante aos nossos dados, não observou expressões faciais de dor em camundongos em análises feitas a 1, 7 ou 14 dias após a indução de modelo de dor neuropática por lesão nervo isquiático. Já Schneider *et al.* (2017) mostraram um aumento significativo nas expressões faciais de dor em ratos com

dor neuropática pós-lesão medular espinal 4 semanas após indução. Ainda não há consistência na duração das expressões faciais na literatura explorando diferentes modelos experimentais de dor neuropática (MOGIL; PANG; SILVA DUTRA; CHAMBERS, 2020). Fatores como a hora do dia, sexo e estresse podem induzir diferentes expressões faciais em camundongos, ressaltando que explorar essas variáveis no modelo da SDRC-I seja relevante em futuros estudos (MILLER; LEACH, 2015).

Uma resposta inflamatória inicial exacerbada é uma característica determinante para o desenvolvimento de SDRC-I (CODERRE; XANTHOS; FRANCIS; BENNETT, 2004; DAVID CLARK; TAWFIK; TAJERIAN; KINGERY, 2018; HALICKA; VITTERSØ; PROULX; BULTITUDE, 2020; KINGERY, 2010; RUSSO; GEORGIUS; PIRES; HENG *et al.*, 2020). Em grande parte dos traumas iniciais da SDRC-I, as citocinas pró-inflamatórias estão elevadas (DAVID CLARK; TAWFIK; TAJERIAN; KINGERY, 2018; KESSLER; YOO; CALISOFF, 2020). Há maior concentração de TNF, IL-6 e IL-1 β no fluído do membro afetado de indivíduos com SDRC-I (HEIJMANS-ANTONISSEN; WESSELDIJK; MUNNIKES; HUYGEN *et al.*, 2006; HUYGEN; DE BRUIJN; DE BRUIN; GROENEWEG *et al.*, 2002). Assim como nos ensaios clínicos, as evidências pré-clínicas ainda não apresentam um consenso sobre o perfil temporal das citocinas inflamatórias (BIRKLEIN; DIMOVA, 2017; LINNMAN; BECERRA; BORSOOK, 2013). Assim como nossos resultados, Klafke *et al.* (2016) e Hsiao *et al.* (2019) também verificaram níveis aumentados de TNF na pele da pata durante a fase inflamatória aguda no modelo animal da SDRC-I por isquemia/reperfusão. Já em fase crônica, após 14 dias de indução, o aumento dos níveis de TNF na pele não é verificado no modelo de isquemia/reperfusão (KLAFKE; DA SILVA; ROSSATO; DE PRA *et al.*, 2016). Nossos resultados não apresentaram alterações nos níveis de TNF referentes ao soro e músculo nos tempos avaliados. Já Santos *et al.* (2021) analisaram amostras de músculo da pata, e verificaram um aumento de TNF e IL-1 β na fase inflamatória deste modelo. Esse aumento de citocinas pró-inflamatórias também é visto na pele, sangue e líquido cefalorraquidiano de indivíduos com SDRC (SCHINKEL; GAERTNER; ZASPEL; ZEDLER *et al.*, 2006).

Mecanismos periféricos não podem explicar completamente a cronificação e permanência de sinais da SDRC, uma vez que a resposta inflamatória seja resolvida

(HALICKA; VITTERSØ; PROULX; BULTITUDE, 2020). Nossos dados não demonstraram um aumento nos níveis de TNF na medula espinal com a indução da SDCR-I em nenhum dos tempos analisados. Também não verificamos alteração nos níveis de IL-4, IL-6 e MCP-1 na medula espinal. Apesar disso, a literatura demonstra um aumento de IL-1 β e TNF na medula espinal em fase crônica do modelo da SDCR-I por isquemia/reperfusão (BELMONTE; MARTINS; SALM; EMER *et al.*, 2018; CHEN; YIN; HU; LIU *et al.*, 2020; SEO; GIL; CHOE; LEE *et al.*, 2020). É provável que essa discrepância esteja relacionada aos diferentes métodos que foram utilizados para avaliação das citocinas nestes estudos.

Outro ponto relevante para a exploração do papel da medula espinal na SDCR-I, se relaciona à exposição de mediadores inflamatórios na periferia e ao desenvolvimento de sensibilização central (GONÇALVES DOS SANTOS; DELAY; YAKSH; CORR, 2019; TRACEY; WOOLF; ANDREWS, 2019). A entrada de estímulos nociceptivos do local da lesão por um tempo prolongado ou intensidade incomum podem aumentar a excitabilidade do SNC (WOOLF, 2011). O principal sinal clínico da sensibilização central é a presença de alodinia, hiperalgesia ou dor espontânea, devido ao aumento da excitabilidade dos neurônios da medula espinal e da reatividade das células gliais (GREENWALD; SHAFRITZ, 2018; WOOLF, 2011). O aumento da reatividade da micróglia e dos astrócitos produz ainda mais citocinas pró-inflamatórias (GREENWALD; SHAFRITZ, 2018; GUO; WANG; WATANABE; SHIMIZU *et al.*, 2007). TNF, IL-1 β , e IL-6 liberados pelos astrócitos na medula espinal aumentam a condutividade dos receptores AMPA e NMDA, aumentando a excitabilidade neuronal e a intensidade da dor (GONÇALVES DOS SANTOS; DELAY; YAKSH; CORR, 2019; MILLIGAN; WATKINS, 2009).

Para explorar de forma plena a dor e a sensibilização central, é preciso abordar toda a via somatossensorial e não apenas a medula espinal (MILLIGAN; WATKINS, 2009). Dessa forma, também analisamos os níveis de TNF no tronco encefálico e no córtex pré-frontal. Além do envolvimento na sensibilização central, essas regiões são responsáveis pelo controle descendente da dor e tomada de decisão frente a um estímulo nocivo (APKARIAN; BUSHNELL; TREEDE; ZUBIETA, 2005; ONG; STOHLER; HERR, 2019). Nossos dados não demonstraram níveis aumentados de TNF no tronco

encefálico e no córtex pré-frontal nos animais submetidos a SDRC-I. Níveis aumentados de citocinas inflamatórias na medula espinal podem elevar os níveis de citocinas inflamatórias encefálicas a partir da ativação glial relacionada a sensibilização central (GONÇALVES DOS SANTOS; DELAY; YAKSH; CORR, 2019). Essas alterações a nível encefálico ocorrem tanto em fase aguda quanto crônica da SDRC (HALICKA; VITTESSØ; PROULX; BULTITUDE, 2020; LINNMAN; BECERRA; BORSOOK, 2013). Indivíduos com SDRC frequentemente apresentam alterações no tronco encefálico, córtex somatossensorial, córtex cingulado e córtex pré-frontal (LINNMAN; BECERRA; BORSOOK, 2013). Covey et al. (2002) demonstraram aumento dos níveis de TNF nessas regiões encefálicas em um modelo de dor neuropática em ratos. Bobinski et al. (2015), em um modelo de lesão de nervo periférico, verificaram um aumento de TNF e IL-1 β no tronco encefálico. Até o momento, este é o primeiro estudo que explorou os níveis de citocinas pró-inflamatórias em estruturas encefálicas no modelo da SDRC-I.

Outro ponto ressaltado na literatura é o de que o BDNF impacta na sensibilização e facilitação das respostas nociceptivas (CAPPOLI; TABOLACCI; ACETO; DELLO RUSSO, 2020). Uma excitabilidade neuronal aumentada em resposta à dor e a presença de mediadores inflamatórios também podem levar a um aumento dos níveis de BDNF (MILLIGAN; WATKINS, 2009). Esse fato ocorre após a liberação de um segundo conjunto de mediadores inflamatórios, dentre eles, MCP-1 (SMITH, 2014). A micróglia ativada e interagindo com segundos mediadores, permite um aumento do influxo de Ca²⁺ e maior liberação de BDNF (BEGGS; TRANG; SALTER, 2012; SMITH, 2014). Lentamente, o BDNF promove alterações na atividade neuronal, reforçando o processo de sensibilização central e contribuindo para o incremento da dor (BEGGS; SALTER, 2013; SMITH, 2014).

Nossos dados não mostraram diferenças significativas nas diferentes regiões do SNC analisadas em relação aos níveis de BDNF após a indução da SDRC-I. Tajerian et al. em (2014) e (2015) verificaram os níveis de BDNF na medula e em estruturas encefálicas no modelo da SDRC-I por fratura de tíbia. Há uma diminuição dos níveis de BDNF na medula espinal, no córtex perirrinal e no hipocampo (TAJERIAN; LEU; YANG; HUANG *et al.*, 2015; TAJERIAN; LEU; ZOU; SAHBAIE *et al.*, 2014). Guo et al. (2006) mostraram, em um modelo de dor inflamatória na pata, um aumento dos níveis de BDNF

na substância cinzenta periaquedutal. Bobinski et al. (2018) verificaram que após lesão de nervo periférico ocorre aumento dos níveis de BDNF na medula espinal de camundongos, associado a presença de hiperalgesia. Como alvo crítico no processo de sensibilização e cronificação, hipotetizamos que o BDNF deve ser explorado em períodos mais crônicos no modelo da SDRC-I por isquemia/reperfusão.

Além da inflamação, há forte influência do sistema opioide nos aspectos cognitivos e emocionais da dor. A substância cinzenta periaquedutal integra as informações vindas das áreas corticais para modular diferentes comportamentos (BAGLEY; INGRAM, 2020). O córtex pré-frontal, recebe projeções da ínsula, referentes a intensidade da dor, e do córtex parietal, quanto a aspectos especiais (ONG; STOHLER; HERR, 2019). Projeções do tálamo e da amígdala para o córtex pré-frontal agregam fatores referentes a memórias de trabalho e medo relacionados a dor (ONG; STOHLER; HERR, 2019). Assim, quando suas projeções seguem para a substância cinzenta periaquedutal no tronco encefálico, há influência sobre o componente executivo de planejamento e execução de resposta a dor (ONG; STOHLER; HERR, 2019).

Destaca-se ainda que, os neurônios da substância cinzenta periaquedutal apresentam maior densidade de receptores opioides (BAGLEY; INGRAM, 2020; LAU; WINTERS; VAUGHAN, 2020). Os receptores opioides atuam na inibição da excitabilidade neuronal, produzindo efeito analgésico (HOLDEN; JEONG; FORREST, 2005; WALDHOER; BARTLETT; WHISTLER, 2004). Nossos resultados são inéditos e demonstram que a indução da SDRC-I aumenta o imunoconteúdo dos receptores μ -opioides no córtex pré-frontal, mas não no tronco encefálico. Gomtsian et al. (2018) verificaram em um modelo de dor neuropática crônica por lesão de nervo periférico, que ratos apresentam redução de receptores opioides na ínsula, núcleo caudado, putâmem e córtex motor. Uma vez que o aumento de receptores μ -opioides esteja relacionado a analgesia (HOLDEN; JEONG; FORREST, 2005; WALDHOER; BARTLETT; WHISTLER, 2004), essa alteração pode ser uma resposta adaptativa a dor no modelo da SDRC-I. Dessa forma, hipotetizamos que o aumento dos receptores μ -opioides no córtex pré-frontal seja determinante para a ausência de alterações nos comportamentos cognitivos e emocionais avaliados nesse estudo.

5.5 CONCLUSÃO

O fato de que o entendimento sobre porque algumas pessoas desenvolvem a SDRC e outras com traumas semelhantes não, é a exemplificação de que os mecanismos fisiopatológicos da SDRC não estão completamente elucidados na literatura científica. O presente estudo mostrou que os sinais clássicos de edema, hiperemia e respostas nociceptivas reflexas e a ausência de comportamentos cognitivos e emocionais relacionados a dor, relacionam-se não só ao aumento do TNF na pele em fase aguda, como também ao aumento dos receptores μ -opioides no córtex pré-frontal em fase crônica. Também apresentamos algumas limitações, incluindo aquelas inerentes ao uso de modelos animais de dor e o valor translacional dos dados adquiridos. Estudos mostram diferenças sexuais na reação à dor e esse fato não foi explorado com camundongos fêmeas em nossos dados. As mudanças no perfil inflamatório não só a nível periférico, mas principalmente em estruturas supraespinais devem ser alvo de mais pesquisas. Dessa forma, surgirão oportunidades de entendimento claro da SDRC, sendo possível elaborar estratégias de prevenção e tratamento eficientes para uma translação clínica otimizada.

6 CONCLUSÃO

A SDRC é fascinante, complexa e claramente exemplifica a dor como uma doença. A compreensão da SDRC apresentou avanços significativos nos últimos anos, principalmente no que se refere a estudos pré-clínicos, que a médio e longo prazo podem repercutir no desenvolvimento de estratégias de tratamento e prevenção. Estes estudos nos permitem concluir que apesar de não haver um mecanismo fisiopatológico estabelecido, há evidentemente a influência multifatorial tanto para iniciação quanto para estabelecimento da SDRC. As pesquisas pré-clínicas devem se concentrar em abranger a heterogeneidade apresentada pelos indivíduos com SDRC, bem como aprimorar a qualidade metodológica, para que ocorra uma translação eficiente em curto prazo. O entendimento dos aspectos biopsicossociais da dor é emergente em estudos clínicos, e precisa ser devidamente explorado com análises comportamentais que abranjam estes aspectos também nos estudos pré-clínicos.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, D. P.; CLEANIS PEREIRA DE QUEIROZBARBOSA, WANIA JUSTINA MIRANDASANTOS-JÚNIOR, FRANCISCO FLEURY UCHOADE OLIVEIRA, ANAMARIA SIRIANI. Prevalência de dor crônica no Brasil: revisão sistemática. *Brazilian Journal of Pain: Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor*. 4: 257-267 p. 2021.
- ANTEPOHL, W.; KIVILOOG, L.; ANDERSSON, J.; GERDLE, B. Cognitive impairment in patients with chronic whiplash-associated disorder--a matched control study. *NeuroRehabilitation*, 18, n. 4, p. 307-315, 2003.
- APKARIAN, A. V.; BUSHNELL, M. C.; TREEDE, R. D.; ZUBIETA, J. K. Human brain mechanisms of pain perception and regulation in health and disease. *Eur J Pain*, 9, n. 4, p. 463-484, Aug 2005.
- BACKONJA, M. M.; STACEY, B. Neuropathic pain symptoms relative to overall pain rating. *J Pain*, 5, n. 9, p. 491-497, Nov 2004.
- BAGLEY, E. E.; INGRAM, S. L. Endogenous opioid peptides in the descending pain modulatory circuit. *Neuropharmacology*, 173, p. 108131, 08 15 2020.
- BARON, R.; LEVINE, J. D.; FIELDS, H. L. Causalgia and reflex sympathetic dystrophy: does the sympathetic nervous system contribute to the generation of pain? *Muscle Nerve*, 22, n. 6, p. 678-695, Jun 1999.
- BARON, R.; SCHATTSCHNEIDER, J.; BINDER, A.; SIEBRECHT, D. *et al.* Relation between sympathetic vasoconstrictor activity and pain and hyperalgesia in complex regional pain syndromes: a case-control study. *Lancet*, 359, n. 9318, p. 1655-1660, May 11 2002.
- BEERTHUIZEN, A.; STRONKS, D. L.; VAN'T SPIJKER, A.; YAKSH, A. *et al.* Demographic and medical parameters in the development of complex regional pain syndrome type 1 (CRPS1): prospective study on 596 patients with a fracture. *Pain*, 153, n. 6, p. 1187-1192, Jun 2012.
- BEGGS, S.; SALTER, M. W. The known knowns of microglia-neuronal signalling in neuropathic pain. *Neurosci Lett*, 557 Pt A, p. 37-42, Dec 2013.
- BEGGS, S.; TRANG, T.; SALTER, M. W. P2X4R+ microglia drive neuropathic pain. *Nat Neurosci*, 15, n. 8, p. 1068-1073, Jul 2012.
- BELMONTE, L. A. O.; MARTINS, T. C.; SALM, D. C.; EMER, A. A. *et al.* Effects of Different Parameters of Continuous Training and High-Intensity Interval Training in the

Chronic Phase of a Mouse Model of Complex Regional Pain Syndrome Type I. **J Pain**, 19, n. 12, p. 1445-1460, Dec 2018.

BESSE, D.; LOMBARD, M. C.; ZAJAC, J. M.; ROQUES, B. P. *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**, 521, n. 1-2, p. 15-22, Jun 25 1990.

BIRKLEIN, F.; DIMOVA, V. Complex regional pain syndrome-up-to-date. **Pain Rep**, 2, n. 6, p. e624, Nov 2017.

BIRKLEIN, F.; DRUMMOND, P. D.; LI, W.; SCHLERETH, T. *et al.* Activation of cutaneous immune responses in complex regional pain syndrome. **J Pain**, 15, n. 5, p. 485-495, May 2014.

BIRKLEIN, F.; IBRAHIM, A.; SCHLERETH, T.; KINGERY, W. S. The Rodent Tibia Fracture Model: A Critical Review and Comparison With the Complex Regional Pain Syndrome Literature. **J Pain**, 19, n. 10, p. 1102.e1101-1102.e1119, 10 2018.

BIRKLEIN, F.; RIEDL, B.; SIEWEKE, N.; WEBER, M. *et al.* Neurological findings in complex regional pain syndromes--analysis of 145 cases. **Acta Neurol Scand**, 101, n. 4, p. 262-269, Apr 2000.

BIRKLEIN, F.; SCHLERETH, T. Complex regional pain syndrome-significant progress in understanding. **Pain**, 156 Suppl 1, p. S94-S103, Apr 2015.

BIRKLEIN, F.; SCHMELZ, M. Neuropeptides, neurogenic inflammation and complex regional pain syndrome (CRPS). **Neurosci Lett**, 437, n. 3, p. 199-202, Jun 06 2008.

BIRKLEIN, F.; SCHMELZ, M.; SCHIFTER, S.; WEBER, M. The important role of neuropeptides in complex regional pain syndrome. **Neurology**, 57, n. 12, p. 2179-2184, Dec 26 2001.

BOADAS-VAELLO, P.; HOMS, J.; REINA, F.; CARRERA, A. *et al.* Neuroplasticity of Supraspinal Structures Associated with Pathological Pain. **Anat Rec (Hoboken)**, 300, n. 8, p. 1481-1501, 08 2017.

BOBINSKI, F.; FERREIRA, T. A. A.; CÓRDOVA, M. M.; DOMBROWSKI, P. A. *et al.* Role of brainstem serotonin in analgesia produced by low-intensity exercise on neuropathic pain after sciatic nerve injury in mice. **Pain**, 156, n. 12, p. 2595-2606, Dec 2015.

BOBINSKI, F.; MARTINS, D. F.; BRATTI, T.; MAZZARDO-MARTINS, L. *et al.* Neuroprotective and neuroregenerative effects of low-intensity aerobic exercise on sciatic nerve crush injury in mice. **Neuroscience**, 194, p. 337-348, Oct 2011.

BOBINSKI, F.; TEIXEIRA, J. M.; SLUKA, K. A.; SANTOS, A. R. S. Interleukin-4 mediates the analgesia produced by low-intensity exercise in mice with neuropathic pain. **Pain**, 159, n. 3, p. 437-450, 03 2018.

BORCHERS, A. T.; GERSHWIN, M. E. Complex regional pain syndrome: a comprehensive and critical review. **Autoimmun Rev**, 13, n. 3, p. 242-265, Mar 2014.

BOUHASSIRA, D.; LANTÉRI-MINET, M.; ATTAL, N.; LAURENT, B. *et al.* Prevalence of chronic pain with neuropathic characteristics in the general population. **Pain**, 136, n. 3, p. 380-387, Jun 2008.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem**, 72, p. 248-254, May 1976.

BRUEHL, S. An update on the pathophysiology of complex regional pain syndrome. **Anesthesiology**, 113, n. 3, p. 713-725, Sep 2010.

BRUEHL, S. Complex regional pain syndrome. **BMJ**, 351, p. h2730, Jul 29 2015.

BRUEHL, S.; MAIHÖFNER, C.; STANTON-HICKS, M.; PEREZ, R. S. *et al.* Complex regional pain syndrome: evidence for warm and cold subtypes in a large prospective clinical sample. **Pain**, 157, n. 8, p. 1674-1681, 08 2016.

BULLENS, P.; DAEMEN, M.; FRELING, G.; KITSLAAR, P. *et al.* Motor dysfunction and reflex sympathetic dystrophy. Bilateral motor denervation in an experimental model. **Acta Orthop Belg**, 64, n. 2, p. 218-223, Jun 1998.

BUSHNELL, M. C.; CEKO, M.; LOW, L. A. Cognitive and emotional control of pain and its disruption in chronic pain. **Nat Rev Neurosci**, 14, n. 7, p. 502-511, Jul 2013.

CANEVER, J. B.; BARBOSA, R. I.; HENDLER, K. G.; NEVES, L. *et al.* Effects of photobiomodulation on different application points and different phases of complex regional pain syndrome type I in the experimental model. **Korean J Pain**, 34, n. 3, p. 250-261, Jul 1 2021.

CAPPOLI, N.; TABOLACCI, E.; ACETO, P.; DELLO RUSSO, C. The emerging role of the BDNF-TrkB signaling pathway in the modulation of pain perception. **J Neuroimmunol**, 349, p. 577406, 12 2020.

CARGNELLO, M.; ROUX, P. P. Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases. **Microbiol Mol Biol Rev**, 75, n. 1, p. 50-83, Mar 2011.

CARPENTER, R. S.; KIGERL, K. A.; MARBOURG, J. M.; GAUDET, A. D. *et al.* Traumatic spinal cord injury in mice with human immune systems. **Exp Neurol**, 271, p. 432-444, Sep 2015.

CHAPMAN, C. R.; VIERCK, C. J. The Transition of Acute Postoperative Pain to Chronic Pain: An Integrative Overview of Research on Mechanisms. **J Pain**, 18, n. 4, p. 359.e351-359.e338, 04 2017.

CHEN, R.; YIN, C.; HU, Q.; LIU, B. *et al.* Expression profiling of spinal cord dorsal horn in a rat model of complex regional pain syndrome type-I uncovers potential mechanisms mediating pain and neuroinflammation responses. **J Neuroinflammation**, 17, n. 1, p. 162, May 23 2020.

CHENG, J. K.; JI, R. R. Intracellular signaling in primary sensory neurons and persistent pain. **Neurochem Res**, 33, n. 10, p. 1970-1978, Oct 2008.

CODERRE, T. J.; BENNETT, G. J. A hypothesis for the cause of complex regional pain syndrome-type I (reflex sympathetic dystrophy): pain due to deep-tissue microvascular pathology. **Pain Med**, 11, n. 8, p. 1224-1238, Aug 2010.

CODERRE, T. J.; XANTHOS, D. N.; FRANCIS, L.; BENNETT, G. J. Chronic post-ischemia pain (CPIP): a novel animal model of complex regional pain syndrome-type I (CRPS-I; reflex sympathetic dystrophy) produced by prolonged hindpaw ischemia and reperfusion in the rat. **Pain**, 112, n. 1-2, p. 94-105, Nov 2004.

COHEN, S. P.; VASE, L.; HOOTEN, W. M. Chronic pain: an update on burden, best practices, and new advances. **Lancet**, 397, n. 10289, p. 2082-2097, 05 29 2021.

COLLOCA, L.; LUDMAN, T.; BOUHASSIRA, D.; BARON, R. *et al.* Neuropathic pain. **Nat Rev Dis Primers**, 3, p. 17002, Feb 2017.

COOK, A. D.; CHRISTENSEN, A. D.; TEWARI, D.; MCMAHON, S. B. *et al.* Immune Cytokines and Their Receptors in Inflammatory Pain. **Trends Immunol**, 39, n. 3, p. 240-255, 03 2018.

COOPER, M. S.; CLARK, V. P. Neuroinflammation, neuroautoimmunity, and the comorbidities of complex regional pain syndrome. **J Neuroimmune Pharmacol**, 8, n. 3, p. 452-469, Jun 2013.

COVEY, W. C.; IGNATOWSKI, T. A.; RENAULD, A. E.; KNIGHT, P. R. *et al.* Expression of neuron-associated tumor necrosis factor alpha in the brain is increased during persistent pain. **Reg Anesth Pain Med**, 27, n. 4, p. 357-366, 2002 Jul-Aug 2002.

CROFFORD, L. J. Chronic Pain: Where the Body Meets the Brain. **Trans Am Clin Climatol Assoc**, 126, p. 167-183, 2015.

CROPPER, H. C.; JOHNSON, E. M.; HAIGHT, E. S.; CORDONNIER, S. A. *et al.* Longitudinal translocator protein-18 kDa-positron emission tomography imaging of peripheral and central myeloid cells in a mouse model of complex regional pain syndrome. **Pain**, 160, n. 9, p. 2136-2148, Sep 2019.

DANIEL, W. W. *Biostatistics: A Foundation for Analysis in the Health Sciences*. Hoboken, NJ: J. Wiley & Sons 2009.

DAS, V.; KROIN, J. S.; MORIC, M.; MCCARTHY, R. J. *et al.* Early Treatment With Metformin in a Mice Model of Complex Regional Pain Syndrome Reduces Pain and Edema. **Anesth Analg**, 130, n. 2, p. 525-534, Feb 2020.

DAVID CLARK, J.; TAWFIK, V. L.; TAJERIAN, M.; KINGERY, W. S. Autoinflammatory and autoimmune contributions to complex regional pain syndrome. **Mol Pain**, 14, p. 1744806918799127, Jan-Dec 2018.

DAYAN, L.; SALMAN, S.; NORMAN, D.; VATINE, J. J. *et al.* Exaggerated vasoconstriction in complex regional pain syndrome-1 is associated with impaired resistance artery endothelial function and local vascular reflexes. **J Rheumatol**, 35, n. 7, p. 1339-1345, Jul 2008.

DE MOS, M.; DE BRUIJN, A. G.; HUYGEN, F. J.; DIELEMAN, J. P. *et al.* The incidence of complex regional pain syndrome: a population-based study. **Pain**, 129, n. 1-2, p. 12-20, May 2007.

DE MOS, M.; LAFERRIERE, A.; MILLECAMPS, M.; PILKINGTON, M. *et al.* Role of NFkappaB in an animal model of complex regional pain syndrome-type I (CRPS-I). **J Pain**, 10, n. 11, p. 1161-1169, Nov 2009.

DE PRÁ, S. D. T.; ANTONIAZZI, C. T. D.; FERRO, P. R.; KUDSI, S. Q. *et al.* Nociceptive mechanisms involved in the acute and chronic phases of a complex regional pain syndrome type 1 model in mice. **Eur J Pharmacol**, 859, p. 172555, Sep 15 2019.

DE VRIES, R.; HOOIJMANS, C.; LANGENDAM, M.; VAN LUIJK, J. *et al.* **A protocol format for the preparation, registration and publication of systematic reviews of animal intervention studies**. Evidence-based preclinical medicine, p.1-9. 2015.

DENKO, C. W.; PETRICEVIC, M. Sympathetic or reflex footpad swelling due to crystal-induced inflammation in the opposite foot. **Inflammation**, 3, n. 1, p. 81-86, Mar 1978.

DIBONAVENTURA, M. D.; SADOSKY, A.; CONCIALDI, K.; HOPPS, M. *et al.* The prevalence of probable neuropathic pain in the US: results from a multimodal general-population health survey. **J Pain Res**, 10, p. 2525-2538, 2017.

DONG, J.; YANG, L.; TANG, J.; ZHENG, J. Dexmedetomidine alleviates rat post-ischemia induced allodynia through GRK2 upregulation in superior cervical ganglia. **Auton Neurosci**, 187, p. 76-83, Jan 2015.

DRUMMOND, E. S.; DAWSON, L. F.; FINCH, P. M.; LI, W. *et al.* Increased bilateral expression of alpha1-adrenoceptors on peripheral nerves, blood vessels and keratinocytes does not account for pain or neuroinflammatory changes after distal tibia fracture in rats. **Neuroscience**, 281, p. 99-109, Dec 5 2014.

DRUMMOND, P. D.; DRUMMOND, E. S.; DAWSON, L. F.; MITCHELL, V. *et al.* Upregulation of alpha1-adrenoceptors on cutaneous nerve fibres after partial sciatic nerve ligation and in complex regional pain syndrome type II. **Pain**, 155, n. 3, p. 606-616, Mar 2014.

EISENBERG, E.; SHTAHL, S.; GELLER, R.; REZNICK, A. Z. *et al.* Serum and salivary oxidative analysis in Complex Regional Pain Syndrome. **Pain**, 138, n. 1, p. 226-232, Aug 15 2008.

ELSHARYDAH, A.; LOO, N. H.; MINHAJUDDIN, A.; KANDIL, E. S. Complex regional pain syndrome type 1 predictors - Epidemiological perspective from a national database analysis. **J Clin Anesth**, 39, p. 34-37, Jun 2017.

EWAN, E. E.; MARTIN, T. J. Analgesics as reinforcers with chronic pain: Evidence from operant studies. **Neurosci Lett**, 557 Pt A, p. 60-64, Dec 17 2013.

FASICK, V.; SPENGLER, R. N.; SAMANKAN, S.; NADER, N. D. *et al.* The hippocampus and TNF: Common links between chronic pain and depression. **Neurosci Biobehav Rev**, 53, p. 139-159, Jun 2015.

FITZCHARLES, M. A.; COHEN, S. P.; CLAUW, D. J.; LITTLEJOHN, G. *et al.* Nociceptive pain: towards an understanding of prevalent pain conditions. **Lancet**, 397, n. 10289, p. 2098-2110, 05 29 2021.

GOEBEL, A.; LEITE, M. I.; YANG, L.; DEACON, R. *et al.* The passive transfer of immunoglobulin G serum antibodies from patients with longstanding Complex Regional Pain Syndrome. **Eur J Pain**, 15, n. 5, p. 504.e501-506, May 2011.

GOMTSIAN, L.; BANNISTER, K.; EYDE, N.; ROBLES, D. *et al.* Morphine effects within the rodent anterior cingulate cortex and rostral ventromedial medulla reveal separable modulation of affective and sensory qualities of acute or chronic pain. **Pain**, 159, n. 12, p. 2512-2521, Dec 2018.

GONÇALVES DOS SANTOS, G.; DELAY, L.; YAKSH, T. L.; CORR, M. Neuraxial Cytokines in Pain States. **Front Immunol**, 10, p. 3061, 2019.

GONÇALVES, E. C. D.; VIEIRA, G.; GONÇALVES, T. R.; SIMÕES, R. R. *et al.* Bradykinin Receptors Play a Critical Role in the Chronic Post-ischaemia Pain Model. **Cell Mol Neurobiol**, 41, n. 1, p. 63-78, Jan 2021.

GRADL, G.; FINKE, B.; SCHATTNER, S.; GIERER, P. *et al.* Continuous intra-arterial application of substance P induces signs and symptoms of experimental complex regional pain syndrome (CRPS) such as edema, inflammation and mechanical pain but no thermal pain. **Neuroscience**, 148, n. 3, p. 757-765, Sep 7 2007.

GRADL, G.; GAIDA, S.; FINKE, B.; GIERER, P. *et al.* Exaggeration of tissue trauma induces signs and symptoms of acute CRPS I, however displays distinct differences to experimental CRPS II. **Neurosci Lett**, 402, n. 3, p. 267-272, Jul 24 2006.

GREENWALD, J. D.; SHAFRITZ, K. M. An Integrative Neuroscience Framework for the Treatment of Chronic Pain: From Cellular Alterations to Behavior. **Front Integr Neurosci**, 12, p. 18, 2018.

GUO, T. Z.; OFFLEY, S. C.; BOYD, E. A.; JACOBS, C. R. *et al.* Substance P signaling contributes to the vascular and nociceptive abnormalities observed in a tibial fracture rat model of complex regional pain syndrome type I. **Pain**, 108, n. 1-2, p. 95-107, Mar 2004.

GUO, T. Z.; SHI, X.; LI, W.; WEI, T. *et al.* Dimethyl Fumarate Reduces Oxidative Stress and Pronociceptive Immune Responses in a Murine Model of Complex Regional Pain Syndrome. **Anesth Analg**, 132, n. 5, p. 1475-1485, May 1 2021.

GUO, T. Z.; SHI, X.; LI, W. W.; WEI, T. *et al.* Sex differences in the temporal development of pronociceptive immune responses in the tibia fracture mouse model. **Pain**, 160, n. 9, p. 2013-2027, Sep 2019.

GUO, T. Z.; WEI, T.; KINGERY, W. S. Glucocorticoid inhibition of vascular abnormalities in a tibia fracture rat model of complex regional pain syndrome type I. **Pain**, 121, n. 1-2, p. 158-167, Mar 2006.

GUO, T. Z.; WEI, T.; LI, W. W.; LI, X. Q. *et al.* Immobilization contributes to exaggerated neuropeptide signaling, inflammatory changes, and nociceptive sensitization after fracture in rats. **J Pain**, 15, n. 10, p. 1033-1045, Oct 2014.

GUO, T. Z.; WEI, T.; TAJERIAN, M.; CLARK, J. D. *et al.* Complex regional pain syndrome patient immunoglobulin M has pronociceptive effects in the skin and spinal cord of tibia fracture mice. **Pain**, 161, n. 4, p. 797-809, Apr 2020.

GUO, W.; ROBBINS, M. T.; WEI, F.; ZOU, S. *et al.* Supraspinal brain-derived neurotrophic factor signaling: a novel mechanism for descending pain facilitation. **J Neurosci**, 26, n. 1, p. 126-137, Jan 2006.

GUO, W.; WANG, H.; WATANABE, M.; SHIMIZU, K. *et al.* Glial-cytokine-neuronal interactions underlying the mechanisms of persistent pain. **J Neurosci**, 27, n. 22, p. 6006-6018, May 2007.

HALICKA, M.; VITTERSØ, A. D.; PROULX, M. J.; BULTITUDE, J. H. Neuropsychological Changes in Complex Regional Pain Syndrome (CRPS). **Behav Neurol**, 2020, p. 4561831, 2020.

HAN, C. G.; HAN, J. K.; PARK, K. B.; KWAK, K. H. *et al.* Effect of superoxide on the development and maintenance of mechanical allodynia in a rat model of chronic post-ischemia pain. **Korean J Anesthesiol**, 63, n. 2, p. 149-156, Aug 2012.

HARDEN, N. R.; BRUEHL, S.; PEREZ, R. S. G. M.; BIRKLEIN, F. *et al.* Validation of proposed diagnostic criteria (the "Budapest Criteria") for Complex Regional Pain Syndrome. **Pain**, 150, n. 2, p. 268-274, Aug 2010.

HARTE, S. E.; MEYERS, J. B.; DONAHUE, R. R.; TAYLOR, B. K. *et al.* Mechanical Conflict System: A Novel Operant Method for the Assessment of Nociceptive Behavior. **PLoS One**, 11, n. 2, p. e0150164, 2016.

HAYDEN, M. S.; GHOSH, S. Shared principles in NF-kappaB signaling. **Cell**, 132, n. 3, p. 344-362, Feb 08 2008.

HEIJMANS-ANTONISSEN, C.; WESSELDIJK, F.; MUNNIKES, R. J.; HUYGEN, F. J. *et al.* Multiplex bead array assay for detection of 25 soluble cytokines in blister fluid of patients with complex regional pain syndrome type 1. **Mediators Inflamm**, 2006, n. 1, p. 28398, 2006.

HEINRICHER, M. M.; BARBARO, N. M.; FIELDS, H. L. Putative nociceptive modulating neurons in the rostral ventromedial medulla of the rat: firing of on- and off-cells is related to nociceptive responsiveness. **Somatosens Mot Res**, 6, n. 4, p. 427-439, 1989.

HELYES, Z.; TÉKUS, V.; SZENTES, N.; POHÓCZKY, K. *et al.* Transfer of complex regional pain syndrome to mice via human autoantibodies is mediated by interleukin-1-induced mechanisms. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 116, n. 26, p. 13067-13076, Jun 25 2019.

HEWEDY, W. A. Linagliptin attenuates chronic post-ischemia pain: Possible anti-inflammatory and anti-oxidant mechanisms. **Eur J Pharmacol**, 828, p. 110-118, Jun 5 2018.

HIRSCH, S.; IBRAHIM, A.; KRAMER, L.; ESCOLANO-LOZANO, F. *et al.* Bone Trauma Causes Massive but Reversible Changes in Spinal Circuitry. **J Pain**, 18, n. 4, p. 468-476, Apr 2017.

HOLDEN, J. E.; JEONG, Y.; FORREST, J. M. The endogenous opioid system and clinical pain management. **AACN Clin Issues**, 16, n. 3, p. 291-301, 2005 Jul-Sep 2005.

HOOIJMANS, C. R.; ROVERS, M. M.; DE VRIES, R. B.; LEENAARS, M. *et al.* SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. **BMC Med Res Methodol**, 14, p. 43, Mar 2014.

HSIAO, H. T.; LIN, Y. C.; WANG, J. C.; TSAI, Y. C. *et al.* Hypoxia inducible factor-1alpha inhibition produced anti-allodynia effect and suppressed inflammatory cytokine production in early stage of mouse complex regional pain syndrome model. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, 43, n. 3, p. 355-359, Mar 2016.

HSIAO, H. T.; LIU, Y. Y.; WANG, J. C.; LIN, Y. C. *et al.* The analgesic effect of propofol associated with the inhibition of hypoxia inducible factor and inflammasome in complex regional pain syndrome. **J Biomed Sci**, 26, n. 1, p. 74, Oct 18 2019.

HU, Q.; WANG, Q.; WANG, C.; TAI, Y. *et al.* TRPV1 Channel Contributes to the Behavioral Hypersensitivity in a Rat Model of Complex Regional Pain Syndrome Type 1. **Front Pharmacol**, 10, p. 453, 2019.

HU, Q.; ZHENG, X.; CHEN, R.; LIU, B. *et al.* Chronic Post-Ischemia Pain Model for Complex Regional Pain Syndrome Type-I in Rats. **J Vis Exp**, n. 155, Jan 21 2020.

HU, Q.; ZHENG, X.; LI, X.; LIU, B. *et al.* Electroacupuncture Alleviates Mechanical Allodynia in a Rat Model of Complex Regional Pain Syndrome Type-I via Suppressing Spinal CXCL12/CXCR4 Signaling. **J Pain**, 21, n. 9-10, p. 1060-1074, Sep-Oct 2020.

HUYGEN, F. J.; DE BRUIJN, A. G.; DE BRUIN, M. T.; GROENEWEG, J. G. *et al.* Evidence for local inflammation in complex regional pain syndrome type 1. **Mediators Inflamm**, 11, n. 1, p. 47-51, Feb 2002.

IOLASCON, G.; DE SIRE, A.; MORETTI, A.; GIMIGLIANO, F. Complex regional pain syndrome (CRPS) type I: historical perspective and critical issues. **Clin Cases Miner Bone Metab**, 12, n. Suppl 1, p. 4-10, 2015 Jan-Apr 2015.

JANSON, W.; STEIN, C. Peripheral opioid analgesia. **Curr Pharm Biotechnol**, 4, n. 4, p. 270-274, Aug 2003.

JI, R. R.; NACKLEY, A.; HUH, Y.; TERRANDO, N. *et al.* Neuroinflammation and Central Sensitization in Chronic and Widespread Pain. **Anesthesiology**, 129, n. 2, p. 343-366, 08 2018.

JOSEPH, E. K.; GREEN, P. G.; FERRARI, L. F.; LEVINE, J. D. Homocysteine-induced attenuation of vascular endothelium-dependent hyperalgesia in the rat. **Neuroscience**, 284, p. 678-684, Jan 22 2015.

JØRUM, E.; ØRSTAVIK, K.; SCHMIDT, R.; NAMER, B. *et al.* Catecholamine-induced excitation of nociceptors in sympathetically maintained pain. **Pain**, 127, n. 3, p. 296-301, Feb 2007.

KESSLER, A.; YOO, M.; CALISOFF, R. Complex regional pain syndrome: An updated comprehensive review. **NeuroRehabilitation**, 47, n. 3, p. 253-264, 2020.

KILKENNY, C.; BROWNE, W. J.; CUTHILL, I. C.; EMERSON, M. *et al.* Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. **PLoS Biol**, 8, n. 6, p. e1000412, Jun 2010.

KIM, K. W.; HA, M. J.; JUNG, K. Y.; KWAK, K. H. *et al.* Reactive oxygen species and N-methyl-D-aspartate receptor-mediated central sensitization in hindlimb ischemia/reperfusion injury-induced neuropathic pain rats. **Korean J Anesthesiol**, 56, n. 2, p. 186-194, Feb 2009.

KINGERY, W. S. Role of neuropeptide, cytokine, and growth factor signaling in complex regional pain syndrome. **Pain Med**, 11, n. 8, p. 1239-1250, Aug 2010.

KINGERY, W. S.; AGASHE, G. S.; GUO, T. Z.; DAVIES, M. F. *et al.* Capsaicin sensitive afferents mediate the development of heat hyperalgesia and hindpaw edema after sciatic section in rats. **Neurosci Lett**, 318, n. 1, p. 39-43, Jan 18 2002.

KINGERY, W. S.; DAVIES, M. F.; CLARK, J. D. A substance P receptor (NK1) antagonist can reverse vascular and nociceptive abnormalities in a rat model of complex regional pain syndrome type II. **Pain**, 104, n. 1-2, p. 75-84, Jul 2003.

KINGERY, W. S.; GUO, T.; AGASHE, G. S.; DAVIES, M. F. *et al.* Glucocorticoid inhibition of neuropathic limb edema and cutaneous neurogenic extravasation. **Brain Res**, 913, n. 2, p. 140-148, Sep 21 2001.

KLAFKE, J. Z.; DA SILVA, M. A.; ROSSATO, M. F.; DE PRA, S. D. *et al.* Acute and chronic nociceptive phases observed in a rat hind paw ischemia/reperfusion model depend on different mechanisms. **Pflugers Arch**, 468, n. 2, p. 229-241, Feb 2016.

KLEIN, M. M.; LEE, J. W.; SIEGEL, S. M.; DOWNS, H. M. *et al.* Endoneurial pathology of the needlestick-nerve-injury model of Complex Regional Pain Syndrome, including rats with and without pain behaviors. **Eur J Pain**, 16, n. 1, p. 28-37, Jan 2012.

KOSEK, E.; COHEN, M.; BARON, R.; GEBHART, G. F. *et al.* Do we need a third mechanistic descriptor for chronic pain states? **Pain**, 157, n. 7, p. 1382-1386, 07 2016.

KREMER, M.; BECKER, L. J.; BARROT, M.; YALCIN, I. How to study anxiety and depression in rodent models of chronic pain? **Eur J Neurosci**, 53, n. 1, p. 236-270, 01 2021.

KUROSE, I.; WOLF, R.; GRISHAM, M. B.; GRANGER, D. N. Modulation of ischemia/reperfusion-induced microvascular dysfunction by nitric oxide. **Circ Res**, 74, n. 3, p. 376-382, Mar 1994.

KWAK, K. H.; JUNG, H.; PARK, J. M.; YEO, J. S. *et al.* A peroxy nitrite decomposition catalyst prevents mechanical allodynia and NMDA receptor activation in the hind-paw ischemia reperfusion injury rats. **Exp Ther Med**, 7, n. 2, p. 508-512, Feb 2014.

KWAK, K. H.; LIM, D. G.; BAEK, W. Y. N-Acetyl-L-Cysteine Attenuates Ischemia/Reperfusion Injury-Induced Allodynia and N-Methyl-D-Aspartate Receptor Activation in Rats. **Curr Ther Res Clin Exp**, 72, n. 5, p. 216-227, Oct 2011.

LAFERRIERE, A.; ABAJI, R.; TSAI, C. Y.; RAGAVENDRAN, J. V. *et al.* Topical combinations to treat microvascular dysfunction of chronic postischemia pain. **Anesth Analg**, 118, n. 4, p. 830-840, Apr 2014.

LANGFORD, D. J.; BAILEY, A. L.; CHANDA, M. L.; CLARKE, S. E. *et al.* Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse. **Nat Methods**, 7, n. 6, p. 447-449, Jun 2010.

LAU, B. K.; WINTERS, B. L.; VAUGHAN, C. W. Opioid presynaptic disinhibition of the midbrain periaqueductal grey descending analgesic pathway. **Br J Pharmacol**, 177, n. 10, p. 2320-2332, 05 2020.

LAVAND'HOMME, P. The progression from acute to chronic pain. **Curr Opin Anaesthesiol**, 24, n. 5, p. 545-550, Oct 2011.

LEE, B. J.; KIM, J. Y.; CHO, H. J.; PARK, D. Sphingosine 1-phosphate receptor modulation attenuate mechanical allodynia in mouse model of chronic complex regional pain syndrome by suppressing pathogenic astrocyte activation. **Reg Anesth Pain Med**, 45, n. 3, p. 230-238, Mar 2020.

LEE, J. W.; LEE, S. K.; CHOY, W. S. Complex Regional Pain Syndrome Type 1: Diagnosis and Management. **J Hand Surg Asian Pac Vol**, 23, n. 1, p. 1-10, Mar 2018.

LEE, S. H.; YOO, S. H.; LEE, H. J.; HAN, D. *et al.* Anti-Allodynic Effects of Polydeoxyribonucleotide in an Animal Model of Neuropathic Pain and Complex Regional Pain Syndrome. **J Korean Med Sci**, 35, n. 26, p. e225, Jul 6 2020.

LI, W.; SHI, X.; WANG, L.; GUO, T. *et al.* Epidermal adrenergic signaling contributes to inflammation and pain sensitization in a rat model of complex regional pain syndrome. **Pain**, 154, n. 8, p. 1224-1236, Aug 2013.

LI, W. W.; GUO, T. Z.; LIANG, D. Y.; SUN, Y. *et al.* Substance P signaling controls mast cell activation, degranulation, and nociceptive sensitization in a rat fracture model of complex regional pain syndrome. **Anesthesiology**, 116, n. 4, p. 882-895, Apr 2012.

LI, W. W.; GUO, T. Z.; SHI, X.; BIRKLEIN, F. *et al.* Neuropeptide regulation of adaptive immunity in the tibia fracture model of complex regional pain syndrome. **J Neuroinflammation**, 15, n. 1, p. 105, Apr 11 2018.

LI, W. W.; GUO, T. Z.; SHI, X.; CZIRR, E. *et al.* Autoimmunity contributes to nociceptive sensitization in a mouse model of complex regional pain syndrome. **Pain**, 155, n. 11, p. 2377-2389, Nov 2014.

LI, W. W.; GUO, T. Z.; SHI, X.; SUN, Y. *et al.* Substance P spinal signaling induces glial activation and nociceptive sensitization after fracture. **Neuroscience**, 310, p. 73-90, Dec 3 2015.

LI, W. W.; SABSOVICH, I.; GUO, T. Z.; ZHAO, R. *et al.* The role of enhanced cutaneous IL-1beta signaling in a rat tibia fracture model of complex regional pain syndrome. **Pain**, 144, n. 3, p. 303-313, Aug 2009.

LI, W. W.; YANG, Y.; GUO, T. Z.; SAHBAIE, P. *et al.* IL-6 signaling mediates the germinal center response, IgM production and nociceptive sensitization in male mice after tibia fracture. **Brain Behav Immun**, 94, p. 148-158, May 2021.

LIMAN, S.; CHEUNG, C. W.; WONG, K. L.; TAI, W. *et al.* Preventive Treatment with Ketamine Attenuates the Ischaemia-Reperfusion Response in a Chronic Postischaemia Pain Model. **Oxid Med Cell Longev**, 2015, p. 380403, 2015.

LINNMAN, C.; BECERRA, L.; BORSOOK, D. Inflaming the brain: CRPS a model disease to understand neuroimmune interactions in chronic pain. **J Neuroimmune Pharmacol**, 8, n. 3, p. 547-563, Jun 2013.

LYDEN, S. P.; SHORTELL, C. K.; ILLIG, K. A. Reperfusion and compartment syndromes: strategies for prevention and treatment. **Semin Vasc Surg**, 14, n. 2, p. 107-113, Jun 2001.

MAPPLEBECK, J. C. S.; BEGGS, S.; SALTER, M. W. Sex differences in pain: a tale of two immune cells. **Pain**, 157 Suppl 1, p. S2-S6, Feb 2016.

MARINUS, J.; MOSELEY, G. L.; BIRKLEIN, F.; BARON, R. *et al.* Clinical features and pathophysiology of complex regional pain syndrome. **Lancet Neurol**, 10, n. 7, p. 637-648, Jul 2011.

MARTINS, D. F.; MAZZARDO-MARTINS, L.; SOLDI, F.; STRAMOSK, J. *et al.* High-intensity swimming exercise reduces neuropathic pain in an animal model of complex regional pain syndrome type I: Evidence for a role of the adenosinergic system. **Neuroscience**, 234, p. 69-76, 2013/03/27/ 2013.

MARTINS, D. F.; PRADO, M. R.; DARUGE-NETO, E.; BATISTI, A. P. *et al.* Caffeine prevents antihyperalgesic effect of gabapentin in an animal model of CRPS-I: evidence for the involvement of spinal adenosine A1 receptor. **J Peripher Nerv Syst**, 20, n. 4, p. 403-409, Dec 2015.

MAZZARDO-MARTINS, L.; SALM, D. C.; WINKELMANN-DUARTE, E. C.; FERREIRA, J. K. *et al.* Electroacupuncture induces antihyperalgesic effect through endothelin-B receptor in the chronic phase of a mouse model of complex regional pain syndrome type I. **Pflugers Arch**, 470, n. 12, p. 1815-1827, Dec 2018.

MESAROLI, G.; HUNDERT, A.; BIRNIE, K. A.; CAMPBELL, F. *et al.* Screening and diagnostic tools for complex regional pain syndrome: a systematic review. **Pain**, Nov 2020.

MESAROLI, G.; HUNDERT, A.; BIRNIE, K. A.; CAMPBELL, F. *et al.* Screening and diagnostic tools for complex regional pain syndrome: a systematic review. **Pain**, 162, n. 5, p. 1295-1304, 05 01 2021.

MILLECAMPS, M.; LAFERRIERE, A.; RAGAVENDRAN, J. V.; STONE, L. S. *et al.* Role of peripheral endothelin receptors in an animal model of complex regional pain syndrome type 1 (CRPS-I). **Pain**, 151, n. 1, p. 174-183, Oct 2010.

MILLECAMPS, M.; LAFERRIÈRE, A.; RAGAVENDRAN, J. V.; STONE, L. S. *et al.* Role of peripheral endothelin receptors in an animal model of complex regional pain syndrome type 1 (CRPS-I). **Pain**, 151, n. 1, p. 174-183, Oct 2010.

MILLER, A. L.; LEACH, M. C. Using the mouse grimace scale to assess pain associated with routine ear notching and the effect of analgesia in laboratory mice. **Lab Anim**, 49, n. 2, p. 117-120, Apr 2015.

MILLIGAN, E. D.; WATKINS, L. R. Pathological and protective roles of glia in chronic pain. **Nat Rev Neurosci**, 10, n. 1, p. 23-36, Jan 2009.

MOGIL, J. S. Laboratory environmental factors and pain behavior: the relevance of unknown unknowns to reproducibility and translation. **Lab Anim (NY)**, 46, n. 4, p. 136-141, Mar 2017.

MOGIL, J. S. The translatability of pain across species. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci**, 374, n. 1785, p. 20190286, 11 2019.

MOGIL, J. S. Qualitative sex differences in pain processing: emerging evidence of a biased literature. **Nat Rev Neurosci**, 21, n. 7, p. 353-365, 07 2020.

MOGIL, J. S.; PANG, D. S. J.; SILVA DUTRA, G. G.; CHAMBERS, C. T. The development and use of facial grimace scales for pain measurement in animals. **Neurosci Biobehav Rev**, 116, p. 480-493, 09 2020.

MOGIL, J. S.; WILSON, S. G.; BON, K.; LEE, S. E. *et al.* Heritability of nociception I: responses of 11 inbred mouse strains on 12 measures of nociception. **Pain**, 80, n. 1-2, p. 67-82, Mar 1999.

MORIARTY, O.; MCGUIRE, B. E.; FINN, D. P. The effect of pain on cognitive function: a review of clinical and preclinical research. **Prog Neurobiol**, 93, n. 3, p. 385-404, Mar 2011.

MUNESHIGE, H.; TODA, K.; MA, D.; KIMURA, H. *et al.* Antinociceptive effect of linear polarized 0.6 to 1.6 microm irradiation of lumbar sympathetic ganglia in chronic constriction injury rats. **J Rehabil Res Dev**, 43, n. 4, p. 565-572, Jul-Aug 2006.

MUTHURAMAN, A.; RAMESH, M.; SOOD, S. Development of animal model for vasculatic neuropathy: Induction by ischemic-reperfusion in the rat femoral artery. **Journal of Neuroscience Methods**, 186, n. 2, p. 215-221, 2010/02/15/ 2010.

MUTHURAMAN, A.; RAMESH, M.; SOOD, S. Development of animal model for vasculatic neuropathy: Induction by ischemic-reperfusion in the rat femoral artery. **J Neurosci Methods**, 186, n. 2, p. 215-221, Feb 15 2010.

NAHM, F. S.; LEE, J. S.; LEE, P. B.; CHOI, E. *et al.* Increased calcium-mediated cerebral processes after peripheral injury: possible role of the brain in complex regional pain syndrome. **Korean J Pain**, 33, n. 2, p. 131-137, Apr 1 2020.

NAHM, F. S.; NAHM, S. S.; HAN, W. K.; GIL, H. Y. *et al.* Increased cerebral nuclear factor kappa B in a complex regional pain syndrome rat model: possible relationship between peripheral injury and the brain. **J Pain Res**, 12, p. 909-914, 2019.

NAHM, F. S.; PARK, Z. Y.; NAHM, S. S.; KIM, Y. C. *et al.* Proteomic identification of altered cerebral proteins in the complex regional pain syndrome animal model. **Biomed Res Int**, 2014, p. 498410, 2014.

NIE, H.; LIU, B.; YIN, C.; CHEN, R. *et al.* Gene Expression Profiling of Contralateral Dorsal Root Ganglia Associated with Mirror-Image Pain in a Rat Model of Complex Regional Pain Syndrome Type-I. **J Pain Res**, 14, p. 2739-2756, 2021.

NUCCI, C.; MAZZARDO-MARTINS, L.; STRAMOSK, J.; BRETHANHA, L. C. *et al.* Oleaginous extract from the fruits *Pterodon pubescens* Benth induces antinociception in animal models of acute and chronic pain. **J Ethnopharmacol**, 143, n. 1, p. 170-178, Aug 30 2012.

ONG, W. Y.; STOHLER, C. S.; HERR, D. R. Role of the Prefrontal Cortex in Pain Processing. **Mol Neurobiol**, 56, n. 2, p. 1137-1166, Feb 2019.

OSSIPOV, M. H.; MORIMURA, K.; PORRECA, F. Descending pain modulation and chronification of pain. **Curr Opin Support Palliat Care**, 8, n. 2, p. 143-151, Jun 2014.

OTA, H.; ARAI, T.; IWATSUKI, K.; URANO, H. *et al.* Pathological mechanism of musculoskeletal manifestations associated with CRPS type II: an animal study. **Pain**, 155, n. 10, p. 1976-1985, Oct 2014.

OTT, S.; MAIHÖFNER, C. Signs and Symptoms in 1,043 Patients with Complex Regional Pain Syndrome. **J Pain**, 19, n. 6, p. 599-611, 06 2018.

PETERS, M. D.; GODFREY, C. M.; KHALIL, H.; MCINERNEY, P. *et al.* Guidance for conducting systematic scoping reviews. **Int J Evid Based Healthc**, 13, n. 3, p. 141-146, Sep 2015.

PORRECA, F.; TANG, Q. B.; BIAN, D.; RIEDL, M. *et al.* Spinal opioid mu receptor expression in lumbar spinal cord of rats following nerve injury. **Brain Res**, 795, n. 1-2, p. 197-203, Jun 08 1998.

RAGAVENDRAN, J. V.; LAFERRIERE, A.; KHORASHADI, M.; CODERRE, T. J. Pentoxifylline reduces chronic post-ischaemia pain by alleviating microvascular dysfunction. **Eur J Pain**, 18, n. 3, p. 406-414, Mar 2014.

RAGAVENDRAN, J. V.; LAFERRIERE, A.; XIAO, W. H.; BENNETT, G. J. *et al.* Topical combinations aimed at treating microvascular dysfunction reduce allodynia in rat models of CRPS-I and neuropathic pain. **J Pain**, 14, n. 1, p. 66-78, Jan 2013.

RAJA, S. N.; CARR, D. B.; COHEN, M.; FINNERUP, N. B. *et al.* The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. **Pain**, 161, n. 9, p. 1976-1982, Sep 2020.

REFSGAARD, L. K.; HAUBRO, K.; PICKERING, D. S.; STUART, S. A. *et al.* Effects of sertraline, duloxetine, vortioxetine, and idazoxan in the rat affective bias test. **Psychopharmacology (Berl)**, 233, n. 21-22, p. 3763-3770, Oct 2016.

REIS, F.; GUIMARÃES, F.; NOGUEIRA, L. C.; MEZIAT-FILHO, N. *et al.* Association between pain drawing and psychological factors in musculoskeletal chronic pain: A systematic review. **Physiother Theory Pract**, 35, n. 6, p. 533-542, Jun 2019.

ROSEN, S.; HAM, B.; MOGIL, J. S. Sex differences in neuroimmunity and pain. **J Neurosci Res**, 95, n. 1-2, p. 500-508, 01 2017.

ROY, M.; PICHÉ, M.; CHEN, J. I.; PERETZ, I. *et al.* Cerebral and spinal modulation of pain by emotions. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 106, n. 49, p. 20900-20905, Dec 08 2009.

- RUSSO, M. A.; GEORGIUS, P.; PIRES, A. S.; HENG, B. *et al.* Novel immune biomarkers in complex regional pain syndrome. **J Neuroimmunol**, 347, p. 577330, 10 2020.
- RYU, T. H.; JUNG, K. Y.; HA, M. J.; KWAK, K. H. *et al.* Superoxide and Nitric Oxide Involvement in Enhancing of N-methyl-D-aspartate Receptor-Mediated Central Sensitization in the Chronic Post-ischemia Pain Model. **Korean J Pain**, 23, n. 1, p. 1-10, Mar 2010.
- SABSOVICH, I.; GUO, T. Z.; WEI, T.; ZHAO, R. *et al.* TNF signaling contributes to the development of nociceptive sensitization in a tibia fracture model of complex regional pain syndrome type I. **Pain**, 137, n. 3, p. 507-519, Jul 31 2008a.
- SABSOVICH, I.; GUO, T. Z.; WEI, T.; ZHAO, R. *et al.* TNF signaling contributes to the development of nociceptive sensitization in a tibia fracture model of complex regional pain syndrome type I. **Pain**, 137, n. 3, p. 507-519, Jul 31 2008b.
- SABSOVICH, I.; WEI, T.; GUO, T. Z.; ZHAO, R. *et al.* Effect of anti-NGF antibodies in a rat tibia fracture model of complex regional pain syndrome type I. **Pain**, 138, n. 1, p. 47-60, Aug 15 2008a.
- SABSOVICH, I.; WEI, T.; GUO, T. Z.; ZHAO, R. *et al.* Effect of anti-NGF antibodies in a rat tibia fracture model of complex regional pain syndrome type I. **Pain**, 138, n. 1, p. 47-60, Aug 15 2008b.
- SADLER, K. E.; MOGIL, J. S.; STUCKY, C. L. Innovations and advances in modelling and measuring pain in animals. **Nat Rev Neurosci**, Nov 26 2021.
- SANDRONI, P.; BENRUD-LARSON, L.; MCCLELLAND, R.; LOW, P. Complex regional pain syndrome type I: incidence and prevalence in Olmsted county, a population-based study. **Pain**. 103: 199-207 p. 2003.
- SANTOS, P. L.; RABELO, T. K.; MATOS, J.; ANJOS, K. S. *et al.* Involvement of nuclear factor κ B and descending pain pathways in the anti-hyperalgesic effect of β -citronellol, a food ingredient, complexed in β -cyclodextrin in a model of complex regional pain syndrome - Type 1. **Food Chem Toxicol**, 153, p. 112260, Jul 2021.
- SCHILLER, P. W.; NGUYEN, T. M.; SARAY, A.; POON, A. W. *et al.* The bifunctional mu opioid agonist/antioxidant [Dmt(1)]DALDA is a superior analgesic in an animal model of complex regional pain syndrome-type i. **ACS Chem Neurosci**, 6, n. 11, p. 1789-1793, Nov 18 2015.
- SCHINKEL, C.; GAERTNER, A.; ZASPEL, J.; ZEDLER, S. *et al.* Inflammatory mediators are altered in the acute phase of posttraumatic complex regional pain syndrome. **Clin J Pain**, 22, n. 3, p. 235-239, 2006 Mar-Apr 2006.

SCHNEIDER, L. E.; HENLEY, K. Y.; TURNER, O. A.; PAT, B. *et al.* Application of the Rat Grimace Scale as a Marker of Supraspinal Pain Sensation after Cervical Spinal Cord Injury. **J Neurotrauma**, 34, n. 21, p. 2982-2993, 11 2017.

SEO, Y. H.; GIL, Y. W.; CHOE, G.; LEE, S. H. *et al.* Comparative Study of Chronic Postischemic Pain Models in Mice: O-Ring Versus Tie Method. **Pain Physician**, 23, n. 1, p. E51-e60, Jan 2020.

SHARIF-ALHOSEINI, M.; KHORMALI, M.; REZAEI, M.; SAFDARIAN, M. *et al.* Animal models of spinal cord injury: a systematic review. **Spinal Cord**, 55, n. 8, p. 714-721, Aug 2017.

SHI, X.; GUO, T. Z.; LI, W.; SAHBAIE, P. *et al.* Exercise Reverses Nociceptive Sensitization, Upregulated Neuropeptide Signaling, Inflammatory Changes, Anxiety, and Memory Impairment in a Mouse Tibia Fracture Model. **Anesthesiology**, 129, n. 3, p. 557-575, Sep 2018.

SHI, X.; GUO, T. Z.; WEI, T.; LI, W. W. *et al.* Facilitated spinal neuropeptide signaling and upregulated inflammatory mediator expression contribute to postfracture nociceptive sensitization. **Pain**, 156, n. 10, p. 1852-1863, Oct 2015.

SHIR, Y.; SELTZER, Z. Effects of sympathectomy in a model of causalgiform pain produced by partial sciatic nerve injury in rats. **Pain**, 45, n. 3, p. 309-320, Jun 1991.

SHOKOUHI, M.; CLARKE, C.; MORLEY-FORSTER, P.; MOULIN, D. E. *et al.* Structural and Functional Brain Changes at Early and Late Stages of Complex Regional Pain Syndrome. **J Pain**, 19, n. 2, p. 146-157, 02 2018.

SIEGEL, S. M.; LEE, J. W.; OAKLANDER, A. L. Needlestick distal nerve injury in rats models symptoms of complex regional pain syndrome. **Anesth Analg**, 105, n. 6, p. 1820-1829, table of contents, Dec 2007.

SMITH, P. A. BDNF: no gain without pain? **Neuroscience**, 283, p. 107-123, Dec 2014.

SOMERS, D. L.; CLEMENTE, F. R. Transcutaneous electrical nerve stimulation for the management of neuropathic pain: the effects of frequency and electrode position on prevention of allodynia in a rat model of complex regional pain syndrome type II. **Phys Ther**, 86, n. 5, p. 698-709, May 2006.

STANTON-HICKS, M.; JÄNIG, W.; HASSENBUSCH, S.; HADDOX, J. D. *et al.* Reflex sympathetic dystrophy: changing concepts and taxonomy. **Pain**, 63, n. 1, p. 127-133, Oct 1995.

TAJERIAN, M.; HUNG, V.; KHAN, H.; LAHEY, L. J. *et al.* Identification of KRT16 as a target of an autoantibody response in complex regional pain syndrome. **Exp Neurol**, 287, n. Pt 1, p. 14-20, Jan 2017.

TAJERIAN, M.; HUNG, V.; KHAN, H.; LAHEY, L. J. *et al.* Identification of KRT16 as a target of an autoantibody response in complex regional pain syndrome. **Experimental Neurology**, 287, p. 14-20, 2017/01/01/ 2017.

TAJERIAN, M.; LEU, D.; YANG, P.; HUANG, T. T. *et al.* Differential Efficacy of Ketamine in the Acute versus Chronic Stages of Complex Regional Pain Syndrome in Mice. **Anesthesiology**, 123, n. 6, p. 1435-1447, Dec 2015.

TAJERIAN, M.; LEU, D.; ZOU, Y.; SAHBAIE, P. *et al.* Brain neuroplastic changes accompany anxiety and memory deficits in a model of complex regional pain syndrome. **Anesthesiology**, 121, n. 4, p. 852-865, Oct 2014.

TAJERIAN, M.; SAHBAIE, P.; SUN, Y.; LEU, D. *et al.* Sex differences in a Murine Model of Complex Regional Pain Syndrome. **Neurobiol Learn Mem**, 123, p. 100-109, Sep 2015.

TAJERIAN, M.; SAHBAIE, P.; SUN, Y.; LEU, D. *et al.* Sex differences in a Murine Model of Complex Regional Pain Syndrome. **Neurobiology of Learning and Memory**, 123, p. 100-109, 2015/09/01/ 2015.

TANG, C.; LI, J.; TAI, W. L.; YAO, W. *et al.* Sex differences in complex regional pain syndrome type I (CRPS-I) in mice. **J Pain Res**, 10, p. 1811-1819, 2017.

TAYLOR, S. S.; NOOR, N.; URITS, I.; PALADINI, A. *et al.* Complex Regional Pain Syndrome: A Comprehensive Review. **Pain Ther**, 10, n. 2, p. 875-892, Dec 2021.

TEKUS, V.; HAJNA, Z.; BORBELY, E.; MARKOVICS, A. *et al.* A CRPS-IgG-transfer-trauma model reproducing inflammatory and positive sensory signs associated with complex regional pain syndrome. **Pain**, 155, n. 2, p. 299-308, Feb 2014.

THOMPSON, S. J.; PITCHER, M. H.; STONE, L. S.; TARUM, F. *et al.* Chronic neuropathic pain reduces opioid receptor availability with associated anhedonia in rat. **Pain**, 159, n. 9, p. 1856-1866, Sep 2018.

TRACEY, I.; WOOLF, C. J.; ANDREWS, N. A. Composite Pain Biomarker Signatures for Objective Assessment and Effective Treatment. **Neuron**, 101, n. 5, p. 783-800, 03 2019.

TREEDE, R. D.; RIEF, W.; BARKE, A.; AZIZ, Q. *et al.* Chronic pain as a symptom or a disease: the IASP Classification of Chronic Pain for the International Classification of Diseases (ICD-11). **Pain**, 160, n. 1, p. 19-27, Jan 2019.

TRICCO, A. C.; LILLIE, E.; ZARIN, W.; O'BRIEN, K. K. *et al.* PRISMA Extension for Scoping Reviews (PRISMA-ScR): Checklist and Explanation. **Ann Intern Med**, 169, n. 7, p. 467-473, 10 2018.

TUTTLE, A. H.; MOLINARO, M. J.; JETHWA, J. F.; SOTOCINAL, S. G. *et al.* A deep neural network to assess spontaneous pain from mouse facial expressions. **Mol Pain**, 14, p. 1744806918763658, 2018 Jan-Dec 2018.

UÇEYLER, N.; EBERLE, T.; ROLKE, R.; BIRKLEIN, F. *et al.* Differential expression patterns of cytokines in complex regional pain syndrome. **Pain**, 132, n. 1-2, p. 195-205, Nov 2007.

VERDEJO-GARCÍA, A.; LÓPEZ-TORRECILLAS, F.; CALANDRE, E. P.; DELGADO-RODRÍGUEZ, A. *et al.* Executive function and decision-making in women with fibromyalgia. **Arch Clin Neuropsychol**, 24, n. 1, p. 113-122, Feb 2009.

VIERCK, C. J.; YEZIERSKI, R. P. Comparison of operant escape and reflex tests of nociceptive sensitivity. **Neurosci Biobehav Rev**, 51, p. 223-242, Apr 2015.

WALDHOER, M.; BARTLETT, S. E.; WHISTLER, J. L. Opioid receptors. **Annu Rev Biochem**, 73, p. 953-990, 2004.

WEI, T.; GUO, T. Z.; LI, W. W.; KINGERY, W. S. *et al.* Acute versus chronic phase mechanisms in a rat model of CRPS. **J Neuroinflammation**, 13, p. 14, Jan 19 2016.

WEI, T.; LI, W. W.; GUO, T. Z.; ZHAO, R. *et al.* Post-junctional facilitation of Substance P signaling in a tibia fracture rat model of complex regional pain syndrome type I. **Pain**, 144, n. 3, p. 278-286, Aug 2009.

WEI, T.; SABSOVICH, I.; GUO, T. Z.; SHI, X. *et al.* Pentoxifylline attenuates nociceptive sensitization and cytokine expression in a tibia fracture rat model of complex regional pain syndrome. **Eur J Pain**, 13, n. 3, p. 253-262, Mar 2009.

WOOLF, C. J. Central sensitization: implications for the diagnosis and treatment of pain. **Pain**, 152, n. 3 Suppl, p. S2-S15, Mar 2011.

XANTHOS, D. N.; BENNETT, G. J.; CODERRE, T. J. Norepinephrine-induced nociception and vasoconstrictor hypersensitivity in rats with chronic post-ischemia pain. **Pain**, 137, n. 3, p. 640-651, Jul 31 2008.

XANTHOS, D. N.; CODERRE, T. J. Sympathetic vasoconstrictor antagonism and vasodilatation relieve mechanical allodynia in rats with chronic postischemia pain. **J Pain**, 9, n. 5, p. 423-433, May 2008.

XU, X.; TAO, X.; HUANG, P.; LIN, F. *et al.* N-methyl-d-aspartate receptor subunit 2B on keratinocyte mediates peripheral and central sensitization in chronic post-ischemic pain in male rats. **Brain Behav Immun**, 87, p. 579-590, Jul 2020.

YEO, J.; JUNG, H.; LEE, H. Effects of Glutathione on Mechanical Allodynia and Central Sensitization in Chronic Postischemic Pain Rats. **Pain Res Manag**, 2017, p. 7394626, 2017.

YEO, J.; PARK, S. Effect of dexmedetomidine on the development of mechanical allodynia and central sensitization in chronic post-ischemia pain rats. **J Pain Res**, 11, p. 3025-3030, 2018.

YUE, L.; MA, L. Y.; CUI, S.; LIU, F. Y. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor in the infralimbic cortex alleviates inflammatory pain. **Neurosci Lett**, 655, p. 7-13, Aug 2017.

Apêndice A – Protocolo de registro da revisão na plataforma PROSPERO

PROSPERO
International prospective register of systematic reviews

NHS
National Institute for
Health Research



Animal review

1. * Review title.

Give the working title of the review. This must be in English. The title should have the interventions or exposures being reviewed and the associated health or social problems.

Animal models of Complex Regional Pain Syndrome: a systematic review

2. Original language title.

For reviews in languages other than English, this field should be used to enter the title in the language of the review. This will be displayed together with the English language title.

Modelos animais da Síndrome da Dor Regional Complexa: uma revisão sistemática

3. * Anticipated or actual start date.

Give the date when the systematic review commenced, or is expected to commence.

20/06/2019

4. * Anticipated completion date.

Give the date by which the review is expected to be completed.

20/12/2019

5. * Stage of review at time of this submission.

Indicate the stage of progress of the review by ticking the relevant Started and Completed boxes. Additional information may be added in the free text box provided.

Please note: Reviews that have progressed beyond the point of completing data extraction at the time of initial registration are not eligible for inclusion in PROSPERO. Should evidence of incorrect status and/or completion date being supplied at the time of submission come to light, the content of the PROSPERO record will be removed leaving only the title and named contact details and a statement that inaccuracies in the stage of the review date had been identified.

This field should be updated when any amendments are made to a published record and on completion and publication of the review.

The review has not yet started: No

PROSPERO
International prospective register of systematic reviews



Review stage	Started	Completed
Preliminary searches	Yes	No
Piloting of the study selection process	No	No
Formal screening of search results against eligibility criteria	No	No
Data extraction	No	No
Risk of bias (quality) assessment	No	No
Data analysis	No	No

Provide any other relevant information about the stage of the review here (e.g. Funded proposal, protocol not yet finalised).

PROSPERO registration

Reviewers training

PROSPERO registration

Reviewers training

6. * Named contact.

The named contact acts as the guarantor for the accuracy of the information presented in the register record.

Juliete Palandi

Email salutation (e.g. "Dr Smith" or "Joanne") for correspondence:

Miss Palandi

7. * Named contact email.

Enter the electronic mail address of the named contact.

julietepalandi@gmail.com

8. * Named contact address.

Enter the full postal address for the named contact.

Department of Neuropathology, Center of Biological Sciences

Federal University of Santa Catarina

Trindade, Florianópolis, SC, Brazil

9. Named contact phone number

Enter the telephone number for the named contact, including international dialling code.

+55 48 37212480

10. * Organisational affiliation of the review.

PROSPERO
International prospective register of systematic reviews



Full title of the organisational affiliations for this review and website address if available. This field may be completed as 'none' if the review is not affiliated to any organisation.

Health Science Postgraduate Program, Federal University of Santa Catarina

Organisation web address:

ufsc.br

11. * Review team members and their organisational affiliations.

Give the title, first name and last name of all members of the team working directly on the review. Give the organisational affiliations of each member of the review team.

Miss Juliete Palandi. Federal University of Santa Catarina
 Dr Marcelo Farina. Federal University of Santa Catarina
 Dr Franciane Bobinski. University of South of Santa Catarina
 Dr Josiel Mileno Mack. University of South of Santa Catarina
 Miss Isabela Longo de Araújo. University of South of Santa Catarina

12. * Funding sources/sponsors.

Give details of the individuals, organisations, groups or other legal entities who take responsibility for initiating, managing, sponsoring and/or financing the review. Any unique identification numbers assigned to the review by the individuals or bodies listed should be included.

MCTI/CNPq (28/2018), FAPESC (03/2017)

13. * Conflicts of interest.

List any conditions that could lead to actual or perceived undue influence on judgements concerning the main topic investigated in the review.

None

14. Collaborators.

Give the name, affiliation and role of any individuals or organisations who are working on the review but who are not listed as review team members.

15. * Review question.

Give details of the question to be addressed by the review, clearly and precisely.

What are the animal models used to mimic Complex Regional Pain Syndrome?

Context and rationale

Provide a brief description of the context and rationale of the review, including information on the relevance of your review for human health (max 250 words).

This systematic review aims to provide a comprehensive framework of the current animal models for investigating Complex Regional Pain Syndrome (CRPS) and categorize them based on the aims, patterns and kinds of injury, and outcome measurements and animal species.

16. * Searches.

Give details of the sources to be searched, and any restrictions (e.g. language or publication period). The full search strategy is not required, but may be supplied as a link or attachment.

We will search the following databases: MEDLINE (PubMed); ScienceDirect. There won't be restriction for language or publication period. The full search strategy (see PDF) is based on two search components: "Complex Regional Pain Syndrome" and "Animal Models". We will screen the reference lists of included studies for additional eligible studies not retrieved by our search.

17. URL to search strategy.

Give a link to the search strategy or an example of a search strategy for a specific database if available (including the keywords that will be used in the search strategies).

https://www.crd.york.ac.uk/PROSPEROFILES/138839_STRATEGY_20190613.pdf

Alternatively, upload your search strategy to CRD in pdf format. Please note that by doing so you are consenting to the file being made publicly accessible.

Do not make this file publicly available until the review is complete

18. * Human disease modelled.

Give a short description of the disease, condition or healthcare domain being modelled.

Complex Regional Pain Syndrome; Pain.

19. * Animals/population.

Give summary criteria for the animals being studied by the review, e.g. species, sex, details of disease model. Please include details of both inclusion and exclusion criteria.

Inclusion criteria:

All animal models with the experimental characteristics of Complex Regional Pain Syndrome.

Exclusion criteria:

Animals do not developed the characteristics of Complex Regional Pain Syndrome; ex vivo, in vitro and in silico models; studies in humans.

20. * Intervention(s), exposure(s).

Give full and clear descriptions of the nature of the interventions or the exposures to be reviewed (e.g. dosage, timing, frequency). Please include details of both inclusion and exclusion criteria.

Inclusion criteria:

All procedures to induce Complex Regional Pain Syndrome.

Exclusion criteria:

All procedures to induce a characteristic but is not assumed as Complex Regional Pain Syndrome.

21. * Comparator(s)/control.

Where relevant, give details of the type(s) of control interventions against which the experimental condition(s) will be compared (e.g. another intervention or a non-exposed control group). Please include details of both inclusion and exclusion criteria.

Inclusion criteria:

Healthy/naïve/control animals.

Exclusion criteria:

All other interventions/treatment groups.

22. * Study designs to be included.

Give details of the study designs eligible for inclusion in the review. If there are no restrictions on the types of study design eligible for inclusion, or certain study types are excluded, this should be stated. Please include details of both inclusion and exclusion criteria.

Inclusion criteria:

Preclinical studies with a control group.

Exclusion criteria:

Clinical studies, reviews, case studies, cross-over studies, preclinical studies without a control group.

23. Other selection criteria or limitations applied.

Give details of any other inclusion and exclusion criteria, e.g. publication types (reviews, conference abstracts), publication date, or language restrictions.

~~Inclusion criteria~~ publication dates.

24. * Outcome measure(s).

Give detail of the outcome measures to be considered for inclusion in the review. Please include details of both inclusion and exclusion criteria.

Inclusion criteria:

A behavioral assessment related to nociception, temperature, edema or function; a biochemical inflammation component assessment.

Exclusion criteria:

No relevant outcomes reported.

25. N/A.

This question does not apply to systematic reviews of animal studies for human health submissions.

26. * Study selection and data extraction.

Procedure for study selection

Give the procedure for selecting studies for the review, including the screening phases (title and/or title-abstract and/or full-text), the number of researchers involved, and how discrepancies will be resolved.

Searches will be conducted by one researcher. The title and abstract will be screened by two reviewers to identify relevant studies. Both reviewers will be blinded to authors, journals and results. The references list will be screened to identify further relevant studies. The full text of these eligible studies will be assessed by eligibility criteria by two reviewers. Disagreement and discrepancies will be resolved by consensus after discussion with a third reviewer.

Prioritise the exclusion criteria

Multiple exclusion criteria may apply to an abstract/paper, which can cause discrepancies between reviewers in the reason for exclusion recorded. To avoid this, it is helpful to prioritize the exclusion criteria (e.g. 1) not an animal study; 2) not a myocardial infarction model, etc.) and record the highest ranking applicable criterion as the reason for exclusion. Please sort the exclusion criteria defined in questions 19 to 24. If applicable, do so for each screening phase.

Identification phase:

2. No publication date restrictions;

Screening and eligibility phase:

1. No preclinical study;

2. No animal model of Complex Regional Pain Syndrome;

3. No behavioral assessment related to nociception, temperature, edema or function; biochemical inflammation assessment.

Methods for data extraction

Describe methods for data extraction, including the number of reviewers performing data extraction, extraction of data from text and/or graphs, whether and how authors of eligible studies will be contacted to provide missing or additional data, etc.

A form will be used to extract data from the included studies for assessment of study quality and evidence synthesis. Extracted information will include: animal model characteristics, CRPS intervention characteristics, behavioral assessments, biochemical assessments, study design, other relevant characteristics. Missing data will be requested from study authors.

Data to be extracted: study design

Specify the data to be extracted related to characteristics of the study design, e.g. controlled versus cross-over, number of experimental groups, etc.

Number of animals per experiment, presence of a control group, randomization process reported, power calculation reported.

PROSPERO
International prospective register of systematic reviews



Data to be extracted: animal model

Specify the data to be extracted related to characteristics of the animal model, e.g. species, sex of the animals, etc.

Strain, age, gender, weight.

Data to be extracted: intervention of interest

Specify the data to be extracted related to characteristics of the intervention of interest, e.g. dose, timing, etc.

Type, time, other relevant informations.

Data to be extracted: primary outcome(s)

Define the primary outcome measure(s). For each outcome measure, specify in which format data will be extracted, including the eligible units of measurement, and data type (continuous/dichotomous). A description of any other manipulation or transformation of the extracted data that is planned may be included.

Behavioral assessment related to nociception, temperature, edema or function.

Data to be extracted: secondary outcome(s)

Define the secondary outcome measure(s). For each outcome measure, specify in which format data will be extracted, including the eligible units of measurement, and data type (continuous/dichotomous). A description of any other manipulation or transformation of the extracted data that is planned may be included.

Biochemical inflammation assessment; other relevant outcomes reported.

Data to be extracted: other

Specify any other data or study characteristics to be extracted, e.g. bibliographical details, such as author, year and language.

Authors, research group, author's email, journal, volume, year, pages.

27. * Risk of bias and/or quality assessment.

State whether and how risk of bias and/or study quality will be assessed. Assessment tools specific for pre-clinical animal studies include **SYRCLE's risk of bias tool** and the **CAMARADES checklist** for study quality

No risk of bias and/or quality assessment planned

No

By use of SYRCLE's risk of bias tool

Yes

By use of SYRCLE's risk of bias tool adapted as follows:

No

By use of the CAMARADES checklist for study quality

Yes

By use of the CAMARADES checklist for study quality, adapted as follows:

PROSPERO
International prospective register of systematic reviews



No

Other criteria, namely

Yes

ARRIVE Checklist

Method for risk of bias and/or quality assessment

Give the procedure for the risk of bias and/or quality assessment, including the number of reviewers involved, their contribution, and how discrepancies will be resolved.

The risk of bias, study quality and writing of the included studies will be assessed by SYRCLE's risk bias tool, CAMARADES checklist and ARRIVE checklist by two reviewers. Both reviewers will be blinded to authors and journals. Disagreement and discrepancies will be resolved by consensus after discussion with a third reviewer.

28. * Strategy for data synthesis.

Planned approach

For each outcome measure, specify whether a quantitative or narrative synthesis is planned and how this decision will be made.

We will provide a narrative synthesis of the findings from the included studies, structured around the intervention, animal model characteristics, types of outcomes.

If a meta-analysis is planned, please specify the following:

Effect measure

For each outcome measure, specify the effect measure to be used (e.g. mean difference, odds ratio etc.).

Not apply.

Effect models

For each outcome measure, specify the statistical model of analysis (e.g. random-effects or fixed-effect model).

Not apply.

Heterogeneity

Specify the statistical methods to assess heterogeneity (e.g. I^2 , Q). For further guidance please refer to the [introduction](#) and [practical guide](#) to pre-clinical meta-analysis.

Not apply.

Other

Specify other details of the meta-analysis methodology (e.g. correction for multiple testing, correction for multiple use of control group).

PROSPERO
International prospective register of systematic reviews



Not apply.

29. * Analysis of subgroups or subsets.

Subgroup analyses

Give any planned exploration of subgroups or subsets within the review. 'None planned' is a valid response if no subgroup analyses are planned.

This will be a qualitative synthesis and subgroup analyses may be undertaken if it is not possible to specify.

Sensitivity

For each outcome measure, specify any sensitivity analyses you propose to perform.

Not apply.

Publication bias

Specify whether an assessment of publication bias is planned. If applicable, specify the method for assessment of publication bias.

Not apply.

30. * Review type.

Type of review

Animal model review
Yes

Experimental animal exposure review
No

Pre-clinical animal intervention review
No

31. Language.

Select each country individually to add it to the list below, use the bin icon to remove any added in error.

English

There is not an English language summary

32. Country.

Select the country in which the review is being carried out from the drop down list. For multi-national collaborations select all the countries involved.

Brazil

33. Other registration details.

List other places where the systematic review protocol is registered. The name of the organisation and any unique identification number assigned to the review by that organisation should be included.

None.

34. Reference and/or URL for published protocol.

Give the citation and link for the published protocol, if there is one.

Animal models of Complex Regional Pain Syndrome: a systematic review

Give the link to the published protocol.

https://www.crd.york.ac.uk/PROSPEROFILES/138839_PROTOCOL_20190613.pdf

Alternatively, upload your published protocol to CRD in pdf format. Please note that by doing so you are consenting to the file being made publicly accessible.

No I do not make this file publicly available until the review is complete

Please note that the information required in the PROSPERO registration form must be completed in full even if access to a protocol is given.

35. Dissemination plans.

Give brief details of plans for communicating essential messages from the review to the appropriate audiences.

In addition to integrating a doctoral thesis, an article will be submitted in a journal with a high impact factor, as well as the results will be disseminated in national and international congresses in this research area.

Do you intend to publish the review on completion?

Yes

36. * Keywords.

Give words or phrases that best describe the review. Separate keywords with a semicolon or new line.

Complex Regional Pain Syndrome; Animal models; Preclinical research; Systematic review.

37. Details of any existing review of the same topic by the same authors.

Give details of earlier versions of the systematic review if an update of an existing review is being registered, including full bibliographic reference if possible.

None.

38. * Current review status.

Review status should be updated when the review is completed and when it is published. Please provide anticipated publication date

Review_Ongoing

39. Any additional information.

Provide any further information the review team consider relevant to the registration of the review.

None.

40. Details of final report/publication(s).

This field should be left empty until details of the completed review are available. Give the full citation for the final report or publication of the systematic review.

PROSPERO
International prospective register of systematic reviews



Give the link to the published review.

Apêndice B – Protocolo de registro na plataforma SYRF



SYSTEMATIC REVIEW PROTOCOL FOR ANIMAL INTERVENTION STUDIES

FORMAT BY SYRCLE (WWW.SYRCLE.NL)

VERSION 2.0 (DECEMBER 2014)

Item #	Section/Subsection/Item	Description	Check for approval
A. General			
1.	Title of the review	Animal models of Complex Regional Pain Syndrome: a systematic review	
2.	Authors (names, affiliations, contributions)	Ms Juliete Palandi ¹ - Elaboration of search strategy, protocol writing, management of systematic review steps, systematic review writing; Dr Marcelo Farina ¹ – Systematic review writing; Dr Franciane Bobinski ² – Systematic review writing; Dr Josiel Mileno Mack ² – Systematic review writing; Ms Isabela Longo ² – Systematic review writing; ¹ Federal University of Santa Catarina, BR; ² University of South of Santa Catarina, BR.	
3.	Other contributors (names, affiliations, contributions)	Not apply.	
4.	Contact person + e-mail address	Juliete Palandi, julietepalandi@gmail.com	
5.	Funding sources/sponsors	MCTI/CNPq (28/2018), FAPESC (03/2017).	
6.	Conflicts of interest	There is not conflict of interest to declare.	
7.	Date and location of protocol registration	Florianópolis, 9 th June, 2019.	7
8.	Registration number (if applicable)		
9.	Stage of review at time of registration	PROSPERO registration, preliminary searches, reviewers training.	
B. Objectives			
Background			
10.	What is already known about this disease/model/intervention? Why is it important to do this review?	This systematic review aims to provide a comprehensive framework of the current animal models for investigating Complex Regional Pain Syndrome (CRPS) and categorize them based on the aims, patterns and kinds of injury, and outcome measurements and animal species.	
Research question			
11.	Specify the disease/health problem of interest	Complex Regional Pain Syndrome	
12.	Specify the population/species studied	All animal models with the experimental characteristics of Complex Regional Pain Syndrome	
13.	Specify the intervention/exposure	All procedures to induce Complex Regional Pain Syndrome	
14.	Specify the control population	Healthy/naïve/ control animals	

15.	Specify the outcome measures	Behavioral assessments related to nociception, temperature, edema ou function; biochemical inflammation component assessment.	
16.	State your research question (based on items 11-15)	What are the animal models used to mimic Complex Regional Pain Syndrome?	
C. Methods			
Search and study identification			
17.	Identify literature databases to search (e.g. Pubmed, Embase, Web of science)	<input checked="" type="radio"/> MEDLINE via PubMed <input type="checkbox"/> Web of Science <input type="checkbox"/> SCOPUS <input type="checkbox"/> EMBASE <input checked="" type="radio"/> Other, namely: Science Direct <input type="checkbox"/> Specific journal(s), namely:	
18.	Define electronic search strategies (e.g. use the step by step search guide ¹⁵ and animal search filters ^{20, 21})	[Search strategy PDF]	
19.	Identify other sources for study identification	<input checked="" type="radio"/> Reference lists of included studies <input type="checkbox"/> Books <input type="checkbox"/> Reference lists of relevant reviews <input type="checkbox"/> Conference proceedings, namely: <input type="checkbox"/> Contacting authors/ organisations, namely: <input type="checkbox"/> Other, namely:	
20.	Define search strategy for these other sources		
Study selection			
21.	Define screening phases (e.g. pre-screening based on title/abstract, full text screening, both)	The title and abstract will be selected for identification (1). Screen the titles and abstracts from the results of the searches for the selection of trial meeting the predefined inclusion criteria (2). The full text of those articles that appear to meet the inclusion criteria should be then be obtained and accessed for eligibility (3). Those full text studies that do not meet the inclusion criteria should be added to the table of excluded studies and a reason provided for their inclusion.	
22.	Specify (a) the number of reviewers per screening phase and (b) how discrepancies will be resolved	(1) One reviewer. (2) Two reviewers. (3) Two reviewers. Disagreement and discrepancies will be resolved by consensus after discussion with a third researcher.	
Define all inclusion and exclusion criteria based on:			
23.	Type of study (design)	Inclusion criteria: preclinical studies with a control group; Exclusion criteria: clinical studies, reviews, case studies, cross-over studies, preclinical studies without a control group.	
24.	Type of animals/population (e.g. age, gender, disease model)	Inclusion criteria: all animal models with the experimental characteristics of Complex Regional Pain Syndrome;	

		Exclusion criteria: animals do not develop the characteristics of Complex Regional Pain Syndrome.	
25.	Type of intervention (<i>e.g.</i> dosage, timing, frequency)	Inclusion criteria: all procedures to induce Complex Regional Pain Syndrome; Exclusion criteria: all procedures to induce a characteristic but is not assumed as Complex Regional Pain Syndrome.	
26.	Outcome measures	Inclusion criteria: behavioral assessment related to nociception, temperature, edema or function; biochemical inflammation assessment; Exclusion criteria: no relevant outcomes reported.	
27.	Language restrictions	Inclusion criteria: no language restrictions; Exclusion criteria: not apply.	
28.	Publication date restrictions	Inclusion criteria: no publication date restrictions; Exclusion criteria: not apply.	
29.	Other	Inclusion criteria: not apply. Exclusion criteria: not apply.	
30.	Sort and prioritize your exclusion criteria per selection phase	Identification phase: 1. No language restrictions; 2. No publication date restrictions; Screening and eligibility phase: 1. No preclinical study; 2. No animal model of Complex Regional Pain Syndrome; 3. No behavioral assessment related to nociception, temperature, edema or function; biochemical inflammation assessment.	
Study characteristics to be extracted (for assessment of external validity, reporting quality)			
31.	Study ID (<i>e.g.</i> authors, year)	Authors, research group, author's email, journal, volume, year, pages.	
32.	Study design characteristics (<i>e.g.</i> experimental groups, number of animals)	Number of animals per experiment, presence of a control group, randomization process reported, power calculation reported.	
33.	Animal model characteristics (<i>e.g.</i> species, gender, disease induction)	Strain, age, gender, weight.	
34.	Intervention characteristics (<i>e.g.</i> intervention, timing, duration)	Type, time, other relevant informations.	
35.	Outcome measures	Behavioral assessment related to nociception, temperature, edema or function; biochemical inflammation assessment.	
36.	Other (<i>e.g.</i> drop-outs)	Other relevant outcomes reported.	
Assessment risk of bias (internal validity) or study quality			
37.	Specify (a) the number of reviewers assessing the risk of bias/study quality in each study and (b) how discrepancies will be resolved	Two reviewers will be assessing the risk of bias, disagreement and discrepancies will be resolved by consensus after discussion with a third researcher.	

38.	Define criteria to assess (a) the internal validity of included studies (e.g. selection, performance, detection and attrition bias) and/or (b) other study quality measures (e.g. reporting quality, power)	<ul style="list-style-type: none"> ● By use of SYRCLE's Risk of Bias tool⁴ <input type="checkbox"/> By use of SYRCLE's Risk of Bias tool, adapted as follows: ● By use of CAMARADES' study quality checklist, e.g.²² <input type="checkbox"/> By use of CAMARADES' study quality checklist, adapted as follows: ● Other criteria, namely: ARRIVE checklist 	
Collection of outcome data			
39.	For each outcome measure, define the type of data to be extracted (e.g. continuous/dichotomous, unit of measurement)	Assessments for neuropathic pain will be expressed through their units of measure, and with the values of mean and standard deviation, interquartile range and median or confidence interval.	
40.	Methods for data extraction/retrieval (e.g. first extraction from graphs using a digital screen ruler, then contacting authors)	Extraction from the tables, graphs, text, or contacting authors by email.	
41.	Specify (a) the number of reviewers extracting data and (b) how discrepancies will be resolved	Two reviewers will extract the data, disagreement and discrepancies will be resolved by consensus after discussion with a third researcher.	
Data analysis/synthesis			
42.	Specify (per outcome measure) how you are planning to combine/compare the data (e.g. descriptive summary, meta-analysis)	For the assessments of dates descriptive analyses will be conducted.	
43.	Specify (per outcome measure) how it will be decided whether a meta-analysis will be performed	Not apply.	
<i>If a meta-analysis seems feasible/sensible, specify (for each outcome measure):</i>			
44.	The effect measure to be used (e.g. mean difference, standardized mean difference, risk ratio, odds ratio)	Not apply.	
45.	The statistical model of analysis (e.g. random or fixed effects model)	Not apply.	
46.	The statistical methods to assess heterogeneity (e.g. I^2 , Q)	Not apply.	
47.	Which study characteristics will be examined as potential source of heterogeneity (subgroup analysis)	Not apply.	
48.	Any sensitivity analyses you propose to perform	Not apply.	
49.	Other details meta-analysis (e.g. correction for multiple testing, correction for multiple use of control group)	Not apply.	
50.	The method for assessment of publication bias	Not apply.	
Final approval by (names, affiliations):			
Ms Juliete Palandi ¹		Date: 9 th June, 2019	
Dr Marcelo Farina ¹			

Dr Franciane Bobinski²

Dr Josiel Mileno Mack²

Ms Isabela Longo²

¹ Federal University of Santa Catarina, BR

² University of South of Santa Catarina, BR

Apêndice C – Estratégia de busca detalhada

REVIEW TITLE

Animal models of Complex Regional Pain Syndrome: a systematic review

DATABASE

Medline (Pubmed); Science Direct.

SEARCH STRATEGY

SEARCH COMPONENT 1 (SC1) COMPLEX REGIONAL PAIN SYNDROME

Complex regional pain syndrome
 Complex pain syndrome
 CRPS type 1
 CRPS type 2
 Reflex sympathetic dystrophy
 Causalgia
 Neurodystrophy
 Neuroalgodystrophy
 Reflex neuromuscular dystrophy
 Posttraumatic dystrophy
 Ischemia Reperfusion

SEARCH COMPONENT 2 (SC2) ANIMAL MODELS

Animal
 Animal model
 Animal models
 Animal experimentation

SC1 AND SC2

PUBMED

((“Complex regional pain syndrome” OR “Complex pain syndrome”OR “CRPS type 1”OR “CRPS type 2” OR “Complex regional pain syndrome type I” OR “Complex regional pain syndrome type 2” OR “Reflex sympathetic dystrophy” OR “Causalgia” OR “Neurodystrophy”OR “Neuroalgodystrophy” OR “Reflex neuromuscular dystrophy” OR “Posttraumatic dystrophy” OR “Peripheral Ischemia Reperfusion”) AND (“Animal” OR “Animal model” OR “animal models” OR “Animal experimentation”))

SCIENCE DIRECT

((“Complex regional pain syndrome” OR “Complex pain syndrome” OR “Complex regional pain syndrome type I” OR “Complex regional pain syndrome type II”) AND (“animal” OR “animal model” OR “animal models” OR “animal experimentation”))

FILTER SELECTED: RESEARCH ARTICLES; DATA ARTICLES

Apêndice D – Lista de estudos na etapa de elegibilidade

Animal models of Complex Regional Pain Syndrome: a systematic review							
ELIGIBILITY PHASE							
CODE	TITLE	REVIEWER 1		REVIEWER 2		FINAL DECISION	
		YES	NO, WITH JUSTIFICATIVE	YES	NO, WITH JUSTIFICATIVE	YES	NO, WITH JUSTIFICATIVE
1	Changes in cerebrospinal fluid levels of pro-inflammatory cytokines in CRPS		No, it's not a preclinical study.		NO, humans study		NO, IT'S A HUMAN CLINICAL STUDY
7	Effects of Different Parameters of Continuous Training and High-Intensity Interval Training in the Chronic Phase of a Mouse Model of Complex Regional Pain Syndrome Type I						
9	Continuous extradural analgesia in a cow with complex regional pain syndrome		No, this study is a case report.		NO, it's a case report.		NO, IT'S A CASE REPORT
12	Changes of reflexes in vasoconstrictor neurons supplying the cat hindlimb following chronic nerve lesions: a model for studying mechanisms of reflex sympathetic dystrophy?		No, this model does not present all the CRPS features.				NO, DON'T HAVE CONTROL GROUP

15	Motor dysfunction and reflex sympathetic dystrophy. Bilateral motor denervation in an experimental model		No, this model does not present all the CRPS features.				
17	Factor-Xa inhibitors protect against systemic oxidant damage induced by peripheral-ischemia reperfusion		NO, the induction is not assumed as CRPS.		NO, the induction is not assumed as CRPS.		NO, IT'S NOT ASSUMED AS CRPS
18	Bimodal Modulation of Ipsilateral Spinal-Coeruleo-Spinal Pathway in CRPS: A Novel Model for Explaining Different Clinical Features of the Syndrome		No, it's a Review.		No, it's review.		NO, IT'S A REVIEW
21	A hypothesis for the cause of complex regional pain syndrome-type I (reflex sympathetic dystrophy): pain due to deep-tissue microvascular pathology		NO, the induction is not assumed as CRPS.		NO, don't have control group.		NO, DON'T HAVE CONTROL GROUP
22	Chronic post-ischemia pain (CPIP): a novel animal model of complex regional pain syndrome-type I (CRPS-I; reflex sympathetic dystrophy) produced by prolonged hindpaw ischemia and reperfusion in the rat			YES			
25	Neurogenic inflammation in an animal model of neuropathic pain.		NO, the induction is not assumed as CRPS.		NO, the induction is not assumed as CRPS.		NO, IT'S NOT ASSUMED AS CRPS

26	Neurogenic inflammation and reflex sympathetic dystrophy (in vivo and in vitro assessment in an experimental model)		NO, the induction is not assumed as CRPS.		NO, the induction is not assumed as CRPS.		NO, IT'S NOT ASSUMED AS CRPS
27	7th International Immunoglobulin Conference: Interlaken Leadership Awards		No, it's not an experimental study.		No, it's not an experimental study.		NO, IT'S NOT A PRECLINICAL STUDY
28	Role of NFkappaB in an animal model of complex regional pain syndrome-type I (CRPS-I)						
30	Sympathetic or reflex footpad swelling due to crystal-induced inflammation in the opposite foot						
31	Dexmedetomidine alleviates rat post-ischemia induced allodynia through GRK2 upregulation in superior cervical ganglia						
32	Increased bilateral expression of alpha1-adrenoceptors on peripheral nerves, blood vessels and keratinocytes does not account for pain or neuroinflammatory changes after distal tibia fracture in rats						
33	Upregulation of alpha1-adrenoceptors on cutaneous nerve fibres after partial sciatic nerve ligation and in complex regional pain syndrome type II.		NO, the induction is not assumed as CRPS.				

35	Refinement of tourniquet-induced peripheral ischemia/reperfusion injury in rats: comparison of 2 h vs 24 h reperfusion		NO, the induction is not assumed as CRPS.		NO, the induction is not assumed as CRPS.		NO, IT'S NOT ASSUMED AS CRPS
38	Cellular and behavioural models to predict responses to immunoglobulin G treatment in complex regional pain syndrome		No, it's not an experimental paper.				NO, IT'S NOT A PRECLINICAL STUDY
40	The passive transfer of immunoglobulin G serum antibodies from patients with longstanding Complex Regional Pain Syndrome		NO, the induction is not assumed as CRPS.				
43	Continuous intra-arterial application of substance P induces signs and symptoms of experimental complex regional pain syndrome (CRPS) such as edema, inflammation and mechanical pain but no thermal pain				No, don't have control group.		
44	Exaggeration of tissue trauma induces signs and symptoms of acute CRPS I, however displays distinct differences to experimental CRPS II						
45	In vivo evidence for apoptosis, but not inflammation in the hindlimb muscle of neuropathic rats		NO, the induction is not assumed as CRPS.		NO, the induction is not assumed as CRPS.		NO, IT'S NOT ASSUMED AS CRPS

47	Substance P signaling contributes to the vascular and nociceptive abnormalities observed in a tibial fracture rat model of complex regional pain syndrome type I					
48	Glucocorticoid inhibition of vascular abnormalities in a tibia fracture rat model of complex regional pain syndrome type I					
49	Immobilization contributes to exaggerated neuropeptide signaling, inflammatory changes, and nociceptive sensitization after fracture in rats					
50	Effect of superoxide on the development and maintenance of mechanical allodynia in a rat model of chronic post-ischemia pain					
53	Linagliptin attenuates chronic post-ischemia pain: Possible anti-inflammatory and anti-oxidant mechanisms					
54	Bone Trauma Causes Massive but Reversible Changes in Spinal Circuitry					
56	Hypoxia inducible factor-1alpha inhibition produced anti-allodynia effect and suppressed inflammatory cytokine production in early stage of mouse complex regional pain syndrome model					

57	TRPV1 Channel Contributes to the Behavioral Hypersensitivity in a Rat Model of Complex Regional Pain Syndrome Type 1					
58	Endogenous analgesic action of the pontospinal noradrenergic system spatially restricts and temporally delays the progression of neuropathic pain following tibial nerve injury		NO, the induction is not assumed as CRPS.		NO, the induction is not assumed as CRPS.	NO, IT'S NOT ASSUMED AS CRPS
64	Homocysteine-induced attenuation of vascular endothelium-dependent hyperalgesia in the rat					
72	Reactive oxygen species and N-methyl-D-aspartate receptor-mediated central sensitization in hindlimb ischemia/reperfusion injury-induced neuropathic pain rats		The article is in Korean language.		NO, wrote in another language.	
73	Sympathectomy alleviates mechanical allodynia in an experimental animal model for neuropathy in the rat		NO, the induction is not assumed as CRPS.		NO, the induction is not assumed as CRPS.	NO, IT'S NOT ASSUMED AS CRPS
74	An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat		NO, the induction is not assumed as CRPS.		NO, the induction is not assumed as CRPS.	NO, IT'S NOT ASSUMED AS CRPS
75	Role of neuropeptide, cytokine, and growth factor signaling in complex regional pain syndrome					

76	Capsaicin sensitive afferents mediate the development of heat hyperalgesia and hindpaw edema after sciatic section in rats				NO, the induction is not assumed as CRPS.		
77	A substance P receptor (NK1) antagonist can reverse vascular and nociceptive abnormalities in a rat model of complex regional pain syndrome type II						
78	Glucocorticoid inhibition of neuropathic limb edema and cutaneous neurogenic extravasation						
79	Acute and chronic nociceptive phases observed in a rat hind paw ischemia/reperfusion model depend on different mechanisms						
80	Endoneurial pathology of the needlestick-nerve-injury model of Complex Regional Pain Syndrome, including rats with and without pain behaviors						
86	Influence of partial nerve injury in the rat on efferent function of sympathetic and antidromically acting sensory nerve fibers		Unavailable		Unavailable		UNAVAILABLE
87	Partial peripheral neuropathy and denervation induced adrenoceptor supersensitivity		Unavailable		Unavailable		UNAVAILABLE

89	A peroxy nitrite decomposition catalyst prevents mechanical allodynia and NMDA receptor activation in the hind-paw ischemia reperfusion injury rats					
90	N-Acetyl-L-Cysteine Attenuates Ischemia/Reperfusion Injury-Induced Allodynia and N-Methyl-D-Aspartate Receptor Activation in Rats					
91	Reflex sympathetic dystrophy in a dog		No, it's not an experimental paper.		NO, don't have control group.	NO, DON'T HAVE CONTROL GROUP
92	Topical combinations to treat microvascular dysfunction of chronic postischemia pain					
94	Effect of lumbar 5 ventral root transection on pain behaviors: a novel rat model for neuropathic pain without axotomy of primary sensory neurons		NO, the induction is not assumed as CRPS.			NO, IT'S NOT ASSUMED AS CRPS
95	Substance P signaling controls mast cell activation, degranulation, and nociceptive sensitization in a rat fracture model of complex regional pain syndrome				NO, don't have control group.	
96	Neuropeptide regulation of adaptive immunity in the tibia fracture model of complex regional pain syndrome					

97	Autoimmunity contributes to nociceptive sensitization in a mouse model of complex regional pain syndrome					
98	Substance P spinal signaling induces glial activation and nociceptive sensitization after fracture					
99	The role of enhanced cutaneous IL-1beta signaling in a rat tibia fracture model of complex regional pain syndrome					
100	Epidermal adrenergic signaling contributes to inflammation and pain sensitization in a rat model of complex regional pain syndrome					
101	Preventive Treatment with Ketamine Attenuates the Ischaemia-Reperfusion Response in a Chronic Postischaemia Pain Model					
108	High-intensity swimming exercise reduces neuropathic pain in an animal model of complex regional pain syndrome type I: Evidence for a role of the adenosinergic system					
109	Caffeine prevents antihyperalgesic effect of gabapentin in an animal model of CRPS-I: evidence for the involvement of spinal adenosine A1 receptor					

110	Electroacupuncture induces antihyperalgesic effect through endothelin-B receptor in the chronic phase of a mouse model of complex regional pain syndrome type I					
112	Role of peripheral endothelin receptors in an animal model of complex regional pain syndrome type 1 (CRPS-I)					
116	Antinociceptive effect of linear polarized 0.6 to 1.6 microm irradiation of lumbar sympathetic ganglia in chronic constriction injury rats					
117	Development of animal model for vasculatic neuropathy: Induction by ischemic-reperfusion in the rat femoral artery		NO, the induction is not assumed as CRPS.		NO, the induction is not assumed as CRPS.	NO, IT'S NOT ASSUMED AS CRPS
118	Ameliorative potential of montelukast on ischemia-reperfusion injury induced vasculitic neuropathic pain in rat		NO, the induction is not assumed as CRPS.		NO, the induction is not assumed as CRPS.	NO, IT'S NOT ASSUMED AS CRPS
119	Development of animal model for vasculatic neuropathy: Induction by ischemic-reperfusion in the rat femoral artery		NO, the induction is not assumed as CRPS.			

121	Increased cerebral nuclear factor kappa B in a complex regional pain syndrome rat model: possible relationship between peripheral injury and the brain						
122	Proteomic identification of altered cerebral proteins in the complex regional pain syndrome animal model						
123	Oleaginous extract from the fruits Pterodon pubescens Benth induces antinociception in animal models of acute and chronic pain						
127	Pathological mechanism of musculoskeletal manifestations associated with CRPS type II: an animal study		NO, the induction is not assumed as CRPS.				
133	Pentoxifylline reduces chronic post-ischaemia pain by alleviating microvascular dysfunction						
134	Topical combinations aimed at treating microvascular dysfunction reduce allodynia in rat models of CRPS-I and neuropathic pain						
135	Arteriovenous differences in plasma concentrations of catechols in rats with neuropathic pain				NO, the induction is not assumed as CRPS.		NO, IT'S NOT ASSUMED AS CRPS
136	Muscle IL1beta Drives Ischemic Myalgia via ASIC3-Mediated Sensory Neuron Sensitization		NO, the induction is not assumed as CRPS.		NO, the induction is not assumed as CRPS.		NO, IT'S NOT ASSUMED AS CRPS

137	Behavioral and histological effects of endoneurial administration of nerve growth factor: possible implications in neuropathic pain		NO, the induction is not assumed as CRPS.		NO, the induction is not assumed as CRPS.		NO, IT'S NOT ASSUMED AS CRPS
138	Superoxide and Nitric Oxide Involvement in Enhancing of N-methyl-D-aspartate Receptor-Mediated Central Sensitization in the Chronic Post-ischemia Pain Model						
139	TNF signaling contributes to the development of nociceptive sensitization in a tibia fracture model of complex regional pain syndrome type I						
140	Effect of anti-NGF antibodies in a rat tibia fracture model of complex regional pain syndrome type I						
142	Adrenergic excitation of cutaneous pain receptors induced by peripheral nerve injury		NO, the induction is not assumed as CRPS.				NO, IT'S NOT ASSUMED AS CRPS
143	The bifunctional mu opioid agonist/antioxidant (SCHILLER; NGUYEN; SARAY; POON <i>et al.</i>)DALDA is a superior analgesic in an animal model of complex regional pain syndrome-type I						
146	A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury		NO, the induction is not assumed as CRPS.		NO, the induction is not assumed as CRPS.		NO, IT'S NOT ASSUMED AS CRPS

149	Exercise Reverses Nociceptive Sensitization, Upregulated Neuropeptide Signaling, Inflammatory Changes, Anxiety, and Memory Impairment in a Mouse Tibia Fracture Model					
150	Facilitated spinal neuropeptide signaling and upregulated inflammatory mediator expression contribute to postfracture nociceptive sensitization.					
152	A-fibers mediate mechanical hyperesthesia and allodynia and C-fibers mediate thermal hyperalgesia in a new model of causalgiform pain disorders in rats		NO, the induction is not assumed as CRPS.			NO, IT'S NOT ASSUMED AS CRPS
153	Effects of sympathectomy in a model of causalgiform pain produced by partial sciatic nerve injury in rats		NO, the induction is not assumed as CRPS.			
154	Needlestick distal nerve injury in rats models symptoms of complex regional pain syndrome					
157	Effect of spinal cord stimulation in an animal model of neuropathic pain relates to degree of tactile "allodynia"		NO, the induction is not assumed as CRPS.		NO, the induction is not assumed as CRPS.	NO, IT'S NOT ASSUMED AS CRPS

159	Transcutaneous electrical nerve stimulation for the management of neuropathic pain: the effects of frequency and electrode position on prevention of allodynia in a rat model of complex regional pain syndrome type II					
164	Differential Efficacy of Ketamine in the Acute versus Chronic Stages of Complex Regional Pain Syndrome in Mice					
165	Brain neuroplastic changes accompany anxiety and memory deficits in a model of complex regional pain syndrome					
166	Identification of KRT16 as a target of an autoantibody response in complex regional pain syndrome					
167	Sex differences in a Murine Model of Complex Regional Pain Syndrome					
169	A CRPS-IgG-transfer-trauma model reproducing inflammatory and positive sensory signs associated with complex regional pain syndrome					
170	Antinociceptive effects of neurotrophin in a rat model of painful peripheral mononeuropathy				NO, the induction is not assumed as CRPS.	NO, IT'S NOT ASSUMED AS CRPS

172	Comparing partial and total tibial-nerve axotomy: long-term effects on prevalence and location of evoked pain behaviors.		NO, the induction is not assumed as CRPS.		NO, the induction is not assumed as CRPS.		NO, IT'S NOT ASSUMED AS CRPS
174	Clinical signs and symptoms of acute reflex sympathetic dystrophy in one hindlimb of the rat, induced by infusion of a free-radical donor		Unavailable.		Unavailable		UNAVAILABLE
182	Acute versus chronic phase mechanisms in a rat model of CRPS						
183	Post-junctional facilitation of Substance P signaling in a tibia fracture rat model of complex regional pain syndrome type I						
184	Pentoxifylline attenuates nociceptive sensitization and cytokine expression in a tibia fracture rat model of complex regional pain syndrome						
186	Comparison of two methods for establishing rat models of complex regional pain syndrome type 1		Unavailable.		Unavailable		UNAVAILABLE
187	Norepinephrine-induced nociception and vasoconstrictor hypersensitivity in rats with chronic post-ischemia pain						
188	Sympathetic vasoconstrictor antagonism and vasodilatation relieve mechanical allodynia in rats with chronic postischemia pain						

191	Effects of Glutathione on Mechanical Allodynia and Central Sensitization in Chronic Postischemic Pain Rats						
192	Effect of dexmedetomidine on the development of mechanical allodynia and central sensitization in chronic post-ischemia pain rats						
NEW SEARCH							
1	Effects of photobiomodulation on different application points and different phases of complex regional pain syndrome type I in the experimental model		NO, don't have control group.		NO, don't have control group.		
2	Expression profiling of spinal cord dorsal horn in a rat model of complex regional pain syndrome type-I uncovers potential mechanisms mediating pain and neuroinflammation responses						
4	Longitudinal translocator protein-18 kDa-positron emission tomography imaging of peripheral and central myeloid cells in a mouse model of complex regional pain syndrome						
5	Autoantibodies produce pain in complex regional pain syndrome by sensitizing nociceptors		NO, don't have control group.		NO, don't have control group.		NO, DON'T HAVE A CONTROL GROUP

7	Early Treatment With Metformin in a Mice Model of Complex Regional Pain Syndrome Reduces Pain and Edema						
8	Nociceptive mechanisms involved in the acute and chronic phases of a complex regional pain syndrome type 1 model in mice						
9	Topical combination of meldonium and N-acetyl cysteine relieves allodynia in rat models of CRPS-1 and peripheral neuropathic pain by enhancing NO-mediated tissue oxygenation		NO, don't have control group.		NO, don't have control group.		NO, DON'T HAVE A CONTROL GROUP
10	Bradykinin Receptors Play a Critical Role in the Chronic Post-ischaemia Pain Model						
11	Sex differences in the temporal development of pronociceptive immune responses in the tibia fracture mouse model						
12	Dimethyl Fumarate Reduces Oxidative Stress and Pronociceptive Immune Responses in a Murine Model of Complex Regional Pain Syndrome						
13	Complex regional pain syndrome patient immunoglobulin M has pronociceptive effects in the skin and spinal cord of tibia fracture mice		NO, don't have control group.		NO, don't have control group.		

14	Transfer of complex regional pain syndrome to mice via human autoantibodies is mediated by interleukin-1-induced mechanisms					
15	The analgesic effect of propofol associated with the inhibition of hypoxia inducible factor and inflammasome in complex regional pain syndrome					
16	Chronic Post-Ischemia Pain Model for Complex Regional Pain Syndrome Type-I in Rats					
17	Electroacupuncture Alleviates Mechanical Allodynia in a Rat Model of Complex Regional Pain Syndrome Type-I via Suppressing Spinal CXCL12/CXCR4 Signaling					
19	Efficacy of the ketamine metabolite (2R,6R)-hydroxynorketamine in mice models of pain		NO, don't have control group.		NO, don't have control group.	NO, DON'T HAVE A CONTROL GROUP
20	Sphingosine 1-phosphate receptor modulation attenuate mechanical allodynia in mouse model of chronic complex regional pain syndrome by suppressing pathogenic astrocyte activation					
21	Anti-Allodynic Effects of Polydeoxyribonucleotide in an Animal Model of Neuropathic Pain and					

	Complex Regional Pain Syndrome						
22	IL-6 signaling mediates the germinal center response, IgM production and nociceptive sensitization in male mice after tibia fracture		NO, don't have control group.		NO, don't have control group.		
23	Germinal center formation, immunoglobulin production and hindlimb nociceptive sensitization after tibia fracture		NO, don't have control group.		NO, don't have control group.		NO, DON'T HAVE A CONTROL GROUP
25	Increased calcium-mediated cerebral processes after peripheral injury: possible role of the brain in complex regional pain syndrome						
26	Gene Expression Profiling of Contralateral Dorsal Root Ganglia Associated with Mirror-Image Pain in a Rat Model of Complex Regional Pain Syndrome Type-I						
27	Involvement of nuclear factor κ B and descending pain pathways in the anti-hyperalgesic effect of β -citronellol, a food ingredient, complexed in β -cyclodextrin in a model of complex regional pain syndrome - Type 1						
28	Comparative Study of Chronic Postischemic Pain Models in Mice: O-Ring Versus Tie Method						

29	C5a complement and cytokine signaling mediate the pronociceptive effects of complex regional pain syndrome patient IgM in fracture mice		NO, don't have control group.		NO, don't have control group.		NO, DON'T HAVE A CONTROL GROUP
36	N-methyl-d-aspartate receptor subunit 2B on keratinocyte mediates peripheral and central sensitization in chronic post-ischemic pain in male rats						

Apêndice E – Estatísticas descritivas e inferenciais

Análise	Tempo	Grupo SHAM		Grupo SDRC-I		Teste	p	95% IC	
		n	Média	DP	n				Média
Edema	Basal	8	2884.91	249.60	10	2967.93	211.56	>0.9999	-652.6 to 486.6
	1	8	3025.08	262.48	10	3925.01	501.88	0.0002***	-1470 to -330.3
	3	8	2969.84	296.98	10	3849.85	667.89	0.0002***	-1450 to -310.4
	5	8	2793.04	205.13	10	3616.22	704.11	0.0007***	-1393 to -253.6
	7	8	2803.01	182.16	10	3403.64	672.47	0.0315*	-1170 to -31.01
	9	8	2695.43	152.90	10	3362.54	583.50	0.0111*	-1237 to -97.49
	11	8	2743.96	163.93	10	3254.89	637.34	0.1138	-1081 to 58.69
	13	8	2737.58	126.40	10	3225.44	402.12	0.1544	-1057 to 81.76
Nociceção térmica ao frio	Basal	8	0.73	0.77	8	0.95	2.41	0.9971	-1.277 to 0.8320
	1	7	0.28	0.71	8	2.28	6.63	0.1528	-4.546 to 0.5566
	3	8	0.43	0.17	10	1.40	1.03	0.1309	-2.138 to 0.1993
	5	7	0.44	0.98	10	3.77	3.31	0.0967	-7.110 to 0.4502
	7	8	0.44	0.33	10	3.07	1.99	0.0201*	-4.894 to -0.369
	9	8	0.54	0.50	9	1.43	1.16	0.1384	-1.949 to 0.1758
	11	8	0.28	0.13	10	1.90	0.93	0.0031**	-2.674 to -0.561
	13	8	0.40	0.19	10	1.25	0.70	0.0360*	-1.648 to -0.045
Temperatura	Basal	8	29.47	1.12	10	29.10	1.37	>0.9999	-2.091 to 2.815
	2	8	27.07	1.10	10	30.19	2.16	0.0043**	-5.568 to -0.662
	4	8	26.57	2.43	10	27.49	3.08	>0.9999	-3.375 to 1.531
	6	8	26.79	1.94	10	27.64	3.54	>0.9999	-3.301 to 1.604
	8	8	27.22	1.05	10	29.52	1.52	0.0839	-4.749 to 0.1569

	10	8	26.95	1.66	10	28.76	1.37		0.351	-4.268 to 0.6379
	12	8	26.02	0.76	10	27.26	1.59		>0.9999	-3.695 to 1.211
	14	8	25.85	1.88	10	27.12	1.30		>0.9999	-3.728 to 1.178
	Basal	8	17.50	14.88	10	25.00	14.34		>0.9999	-31.19 to 16.19
	2	8	20.00	16.90	10	19.00	28.07		>0.9999	-22.69 to 24.69
	4	8	32.50	13.89	10	37.00	24.06		>0.9999	-28.19 to 19.19
	6	8	40.00	21.38	10	71.00	25.14	Two-way ANOVA + post hoc Bonferroni	0.0029**	-54.69 to -7.31
Nociceção mecânica	8	8	31.25	15.53	10	94.00	8.43		<0.0001* ***	-86.44 to -39.06
	10	8	22.50	19.09	10	95.00	5.27		<0.0001* ***	-96.19 to -48.81
	12	8	37.50	18.32	10	94.00	8.43		<0.0001* ***	-80.19 to -32.81
	14	8	27.50	19.09	10	97.00	6.75		<0.0001* ***	-93.19 to -45.81
CA Velocidade máxima	14	6	0.31	0.06	10	0.32	0.05	unpaired t test	0.7005	-0.0467 to 0.067
CA distância percorrida	14	6	11.87	3.94	10	14.56	4.17	unpaired t test	0.2247	-1.846 to 7.208
CA entradas no centro	14	6	18.33	11.89	10	21.00	11.64	unpaired t test	0.6666	-10.33 to 15.66
CA tempo no centro	14	6	29.67	25.91	10	30.72	28.99	unpaired t test	0.9428	-29.88 to 31.99
CA tempo nas bordas	14	7	177.60	53.01	10	168.50	47.64	unpaired t test	0.718	-61.41 to 43.33
	Basal	8	17.23	9.71	8	16.12	5.47	Two-way ANOVA + post hoc Bonferroni	>0.9999	-9.251 to 11.49
Fuga/esquiva	7	8	8.00	9.83	8	6.83	9.38		>0.9999	-9.197 to 11.54
	14	8	2.43	3.80	8	9.99	9.58		0.2281	-17.93 to 2.806

MCAS latência	Basal	8	8.13	6.01	8	8.13	4.94	Two-way ANOVA + post hoc Bonferroni	>0.9999	-8.534 to 8.534
	7	8	14.88	9.28	8	11.75	6.41		>0.9999	-5.409 to 11.66
	14	8	22.38	4.75	8	19.75	8.41		>0.9999	-5.909 to 11.16
MCAS tempo meio aparato	Basal	5	1.20	0.45	6	2.33	2.80	Two-way ANOVA + post hoc Bonferroni	0.6664	-3.92 to 1.653
	7	5	1.80	0.84	6	1.83	2.04		>0.9999	-2.82 to 2.753
MCAS tempo total	Basal	5	4.20	1.10	5	3.20	1.10	Two-way ANOVA + post hoc Bonferroni	0.4923	-1.054 to 3.054
	7	5	3.40	1.14	5	3.80	1.79		>0.9999	-2.454 to 1.654
Grimace	Basal	8	0.39	0.27	8	0.40	0.09	Two-way ANOVA + post hoc Bonferroni	>0.9999	-0.29 to 0.265
	2	8	0.39	0.22	8	0.50	0.24		>0.9999	-0.39 to 0.165
	6	8	0.28	0.18	8	0.41	0.28		0.8251	-0.415 to 0.14
	13	8	0.30	0.19	8	0.31	0.20		>0.9999	-0.29 to 0.265
TNF Pele	2	10	1.914	0.81	10	5.744	2.936	Two-way ANOVA + post hoc Tukey	<0.0001* ***	-307.9 to -92.17
	7	8	1.081	0.4913	9	1.799	3.234		0.983	-90.17 to 144.3
	14	8	0.2586	0.1453	11	0.2279	0.179		0.9996	-100.2 to 124
TNF Músculo	2	11	1.321	1.245	9	2.179	1.732	Two-way ANOVA + post hoc Tukey	0.4702	-171.2 to 41.32
	7	9	0.4505	0.1483	11	0.1884	0.0719 3		0.5901	-48.08 to 164.4
	14	8	0.2428	0.1186	11	0.2522	0.2233		>0.9999	-113.7 to 106
TNF Soro	2	10	34.24	15.01	7	44.63	14.91	Two-way ANOVA +	0.9135	-157.6 to 96.86
	7	6	0.5638	0.6605	8	2.254	4.183		0.6876	-195.9 to 82.96

								post hoc Tukey		
TNF Medula espinal	2	11	9.251	3.445	10	11.39	4.419	Two-way ANOVA + post hoc Tukey	0.8644	-68.32 to 30.82
	7	5	0.5786	0.22	7	0.3487	0.0746		0.4824	-26.69 to 106.2
	14	5	1.265	0.7655	7	1.056	0.9749		0.3994	-23.61 to 109.3
TNF Tronco encefálico	2	5	2.406	1.585	8	2.455	1.448	Two-way ANOVA + post hoc Tukey	>0.9999	-104.2 to 100.1
	7	4	0.3875	0.153	7	0.5361	0.3601		>0.9999	-120.5 to 104.1
	14	5	2.257	2.423	8	1.33	0.6098		0.8238	-61.09 to 143.2
TNF Córtex pré- frontal	2	5	0.5666	0.26	8	0.4046	0.2092	Two-way ANOVA + post hoc Tukey	0.7727	-37.24 to 94.44
	7	5	0.3208	0.1103	7	0.2066	0.0636 2		0.6061	-32.03 to 103.2
	14	5	0.2702	0.1101	7	0.3287	0.1876		>0.9999	-70.11 to 65.14
BDNF Medula espinal	2	5	561.7	97.98	8	548.5	112.1	Two-way ANOVA + post hoc Tukey	>0.9999	-32.16 to 36.85
	7	5	171.4	39.71	8	173.2	32.35		>0.9999	-35.56 to 33.45
	14	5	249.8	38.93	8	268.4	56.69		0.9859	-41.94 to 27.07
BDNF Tronco encefálico	2	4	740.9	308.4	8	556.2	115.1	Two-way ANOVA + post hoc Tukey	0.9911	-33.57 to 49.72
	7	4	112	53.09	8	109.3	18.44		>0.9999	-39.26 to 44.03
	14	5	188.2	49.05	8	186	26.24		>0.9999	-37.58 to 39.95
BDNF Córtex pré-frontal	2	5	343.4	85.21	8	314.3	75.68	Two-way ANOVA + post hoc Tukey	0.9942	-39.43 to 56.38
	7	5	60.09	15.64	8	55.69	21.9		0.9971	-40.59 to 55.22
	14	5	100.9	26.52	7	120.8	39.83		0.9946	-57.78 to 40.63

IL-4 Medula espinal	2	12	19	16.28	10	17.18	12.84	unpaired t test	0.7768	-15.07 to 11.42
MCP-1 Medula espinal	2	5	3.683	0.8646	5	3.371	0.7385	unpaired t test	0.5573	-1.484 to 0.8612
IL-6 Medula espinal	2	5	0.1429	0.0485 7	5	0.1361	0.0302 7	unpaired t test	0.7968	-0.06583 to 0.05221
Receptor opioide tronco encefálico	14	5	0.283	0.1192	5	0.3096	0.1013	unpaired t test	0.7133	-0.1347 to 0.188
Receptor opioide córtex pré-frontal	14	6	0.3658	0.0883 6	6	0.6558	0.1597	unpaired t test	0.003**	0.124 to 0.456

Anexo A – Certificado Comissão de Ética no Uso de Animais UFSC



Universidade Federal
de Santa Catarina

Comissão de Ética no
Uso de Animais



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "EFEITOS E MECANISMOS DE AÇÃO DO PROBUCOL E DO EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE A INFLAMAÇÃO E ESTRESSE OXIDATIVO EM UM MODELO ANIMAL DE SÍNDROME DA DOR REGIONAL COMPLEXA", protocolada sob o CEUA nº 2051170718, sob a responsabilidade de **Marcelo Farina** e equipe; *Juliete Palandi; Franciane Bobinski* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina (CEUA/UFSC) na reunião de 17/09/2018.

We certify that the proposal "EFFECTS AND MECHANISMS OF PROBUCOL AND PHYSICAL EXERCISE ON INFLAMMATION AND OXIDATIVE STRESS IN AN ANIMAL MODEL OF COMPLEX REGIONAL PAIN SYNDROME", utilizing 512 Heterogenics mice (256 males and 256 females), protocol number CEUA 2051170718, under the responsibility of **Marcelo Farina** and team; *Juliete Palandi; Franciane Bobinski* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Santa Catarina (CEUA/UFSC) in the meeting of 09/17/2018.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa](#)

Vigência da Proposta: de [08/2018](#) a [12/2020](#)

Área: [Bioquímica](#)

Origem:	Biotério Central			
Espécie:	Camundongos heterogênicos	sexo:	Fêmeas	idade: 30 a 45 dias N: 256
Linhagem:	Swiss			Peso: 20 a 45 g
Origem:	Biotério Central			
Espécie:	Camundongos heterogênicos	sexo:	Machos	idade: 30 a 45 dias N: 256
Linhagem:	Swiss			Peso: 20 a 45 g

Resumo: A Síndrome da Dor Regional Complexa (SDRC) é uma condição clínica caracterizada por alterações sensoriais, autonômicas, motoras e tróficas. Ocorre distalmente em um membro, após um trauma inicial. Os principais sintomas apresentados pelos indivíduos com SDRC incluem alterações sensoriais de alodinia ou hiperalgesia, alterações vasomotoras de temperatura e coloração da pele, presença de edema ou suor, alterações motoras e tróficas como diminuição da amplitude de movimento, fraqueza e tremores. A incidência da SDRC é de 26,2 casos a cada 100 mil pessoas por ano, atingindo, na grande maioria, indivíduos entre 55 e 75 anos, em proporção de 3,5:1 mulheres para homens. Pela grande variabilidade diagnóstica, são poucos os dados epidemiológicos sobre a SDRC, assim como, sobre os mecanismos fisiopatológicos e os resultados de tratamentos em humanos. A fisiopatologia destas alterações começa a partir da inflamação promovida pelo trauma inicial e a ativação da resposta imunológica. A presença de substâncias pró-inflamatórias aumenta o extravasamento plasmático, promovendo edema local. O edema resulta em uma síndrome compartimental na região do membro afetado, e então, uma lesão microvascular por isquemia e reperfusão ou, eventualmente, isquemia dos tecidos profundos e quadro de inflamação crônica. Outro fator determinante no desenvolvimento da SDRC é a manutenção da isquemia tecidual na pele e nos tecidos profundos. Os tecidos do membro afetado apresentam um alto fluxo arterial juntamente com acúmulo de lactato periférico, associado ao baixo consumo de oxigênio. Isto implica em alterações no metabolismo energético tecidual, sugestivo de deficiência mitocondrial. Apesar dos diversos estudos realizados na área, sejam experimentais ou clínicos, até o presente momento não há tratamento estabelecido para a SDRC. Esta dificuldade é associada a fisiopatologia multifacetária que SDRC apresenta e a falta de elucidação de seus mecanismos. Desta forma, as estratégias terapêuticas que englobem os diferentes aspectos fisiopatológicos da SDRC, como a associação entre tratamentos medicamentosos e fisioterapêuticos devem ser consideradas. O probucol (PB) pode apresentar efeitos protetores contra o aumento do estresse oxidativo e modular positivamente algumas defesas antioxidantes endógenas. Atualmente, o exercício físico regular tem sido reconhecido como uma abordagem capaz de beneficiar positivamente a saúde física e mental, além de melhorar a qualidade de vida da população em geral. Um dos principais mecanismos associados aos benefícios da prática de exercício físico relaciona-se à redução da inflamação crônica. No entanto, até o presente momento, nenhum estudo avaliou os efeitos da associação de PB e do exercício físico prévio sobre os mecanismos anti-inflamatórios e antioxidantes em modelo animal da SDRC. Entender os mecanismos de ação do PB e do exercício físico sobre as alterações comportamentais e bioquímicas em um



Universidade Federal
de Santa Catarina

Comissão de Ética no
Uso de Animais



modelo experimental da SDRC pode colaborar na elucidação da fisiopatologia, como também, para o desenvolvimento de uma estratégia terapêutica adequada, com possibilidade de translação para a clínica. Desta forma, a hipótese deste estudo é de que o PB e o exercício físico prévio têm efeito protetor sobre o desenvolvimento da dor neuropática em um modelo de SDRC por meio da redução do processo inflamatório e do estresse oxidativo. Para isto, este estudo utilizará de investigações experimentais pré-clínicas in vivo, por meio de testes comportamentais, bem como investigações ex vivo, através de análises bioquímicas e imunistoquímicas, para elucidar os mecanismos anti-inflamatórios e antioxidantes do PB e do exercício físico prévio na SDRC em camundongos.

Local do experimento: Os animais serão transportados do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC [] Florianópolis) ao Biotério de manutenção do Laboratório de Neurociência Experimental da Universidade do Sul de Santa Catarina (LANEX, Campus Universitário da Pedra Branca, Bloco I2, da Universidade do Sul de Santa Catarina, UNISUL [] Palhoça, Brasil) através de automóvel para transporte de carga disponibilizado pela UNISUL. O trajeto percorrido é de 23km, com estimativa de aproximadamente 30 minutos de trânsito. Os animais serão mantidos em caixa de propileno fechadas com grade de alumínio, forradas com maravalha, específicas para transporte, separados por sexo e ninhada. Também serão tomados os devidos cuidados quanto a não exposição de variações bruscas de temperatura, ruídos e incômodos visuais e de vibração. Após a chegada, os animais permanecerão por período de aclimação ao novo biotério por duas semanas para posterior realização dos experimentos. Os camundongos serão acomodados em microambiente de sistema aberto, em caixas de propileno (42 x 34 x 17 cm) e mantidos no biotério de manutenção do LANEX em condições controladas de temperatura ($21 \pm 2^\circ\text{C}$) e umidade (60% - 80%), com o ciclo claro/escuro de 12 horas (das 7 às 19 horas), com livre acesso à ração e água, e tubo plástico (3,5 x 8 cm) para enriquecimento ambiental.

Florianópolis, 17 de setembro de 2018

Prof. Dr. Aderbal Silva Aguiar Junior
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Santa Catarina

Maria Alcina Martins de Castro
Vice-Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Santa Catarina

Anexo B – Certificado Comissão de Ética no Uso de Animais UNISUL



Pró Reitoria de Ensino, Pesquisa, Pós-Graduação, Extensão e Inovação
 Comissão de Ética no Uso de Animais (Res. CONSUN 46/2009)

Palhoça, 13 de setembro de 2018
 Registro na CEUA (código): 18.020.2.07.IV

Ao Pesquisador/Professor(a): Franciane Bobinski


Prezado(a),

Vimos por meio deste, certificar que a proposta de estudo e/ou projeto de pesquisa intitulada "Efeitos e mecanismos de ação do probucol e do exercício físico sobre a inflamação e estresse oxidativo em um modelo animal de síndrome da dor regional complexa", registrada com o 18.020.2.07.IV, sob a responsabilidade de Franciane Bobinski - que envolve a manutenção ou utilização de modelos animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei Federal nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovado** pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) desta Instituição, em reunião de 21 de setembro de 2018.

A CEUA/UNISUL tem por finalidade cumprir e fazer cumprir, no âmbito da UNISUL e nos limites de suas atribuições, os dispostos na legislação Federal aplicável à criação, manutenção e a utilização de animais em atividades de ensino e de pesquisa, realizadas pelos corpos docente, discente e técnico-administrativo da UNISUL e pesquisadores de outras instituições, caracterizando-se a sua atuação como educativa, consultiva, de assessoria e fiscalização nas questões relativas à matéria, sob os aspectos: I - Ético; II - Legal: enquadramento na legislação vigente.

Gostaríamos de salientar que, embora aprovado, qualquer alteração dos procedimentos e metodologias que houver durante a realização do projeto em questão, deverá ser informada imediatamente à Comissão.

Atenciosamente,


 Prof. Sandro Melini Sgrott
 Coordenador da Comissão