

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

**ESTUDO FARMACOLÓGICO DE UM NOVO MODELO DE DOR
NEUROPÁTICA: AVULSÃO DO TRONCO INFERIOR DO PLEXO
BRAQUIAL DE RATO**

Tese apresentada ao Curso de
Pós-graduação em Farmacologia do
Centro de Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Santa Catarina
como requisito para obtenção do título
de Doutor em Farmacologia.

Orientador: Prof. Dr. João Batista Calixto

RUBENS RODRIGUES FILHO

FLORIANÓPOLIS - SC

Dezembro/2003

Nada na vida
pode substituir a persistência:
nem o talento o fará,
pois o mundo está cheio
de homens de talento fracassados;
nem a genialidade o fará,
pois gênios desprezados
são quase um provérbio;
nem o conhecimento o fará,
pois encontramos
muitos diplomados medíocres.
Só a persistência e a determinação
são onipotentes.
Calvin Coolidge

A minha esposa Sônia e a minha filha Letícia, pelo carinho, por entenderem a minha ausência, mas, sobretudo, por não terem me abandonado nesta difícil jornada.

AGRADECIMENTOS

A Deus por não ter me abandonado e ter-me dado forças para não fraquejar diante das dificuldades que se contrapuseram a minha caminhada.

A Sônia e a Letícia, que dividiram comigo as alegrias e as tristezas, não me deixando desistir e ajudando sempre para que eu pudesse concretizar o sonho de ser Doutor.

A meu pai e a minha mãe, que já não está comigo, que muito se sacrificaram para que eu chegasse até aqui.

Ao professor Calixto, que aprendi a admirar pela grande capacidade científica e de trabalho; pela orientação científica deste trabalho, sem a qual eu não o teria concluído; pela preocupação com minha formação científica; pela amizade e pelo incentivo e do qual terei sempre o orgulho e a satisfação de dizer que fui seu orientando.

Ao Prof. Giles, um amigo, que nos momentos de grande dificuldade me ouviu e orientou para que eu escolhesse o melhor caminho a seguir.

Aos demais professores do Curso que de alguma forma contribuíram com a minha formação.

A todos os funcionários, pelo carinho e amizade e por nunca terem medido esforços em atender minhas solicitações.

A todos os colegas do Curso de Pós-Graduação, que, com seu respeito, amizade e solidariedade fizeram com que eu me sentisse em minha própria casa.

A todos os colegas do Laboratório do Prof. Calixto que me receberam com os braços abertos e que não vou citar individualmente para não correr o risco de me esquecer de algum.

Aos colegas Juliano e Martha que tiveram participações importantes na execução científica deste trabalho.

Aos Professores Doutores Jaime Augusto Bertelli e Adair Santos, dois grandes amigos, que me ajudaram dando idéias, incentivando, discutindo resultados e dividindo as vitórias e os fracassos.

Aos animais que passaram pelas minhas mãos e doaram suas vidas, não só para que eu realizasse este trabalho, mas também em prol da ciência.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS	xiv
GLOSSÁRIO DE TERMOS	xv
RESUMO	xvii
1. INTRODUÇÃO	1
2. HIPÓTESE	28
3. OBJETIVOS	28
3.1 Geral.....	28
3.2 Específicos.....	28
4. MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1 Animais.....	30
4.2 Anatomia do plexo braquial	30
4.3 Procedimentos cirúrgicos.....	32
4.4 Aparelhos e procedimentos.....	34
4.4.1 Medida da hiperalgesia mecânica.....	34
4.4.2 Medida da hiperalgesia térmica.....	35
4.4.3 Medida da alodinia mecânica.....	36
4.4.4 Medida da alodinia ao frio.....	38
4.4.5 Avaliação da atividade funcional das patas anteriores.....	39
4.4.6 Teste de atividade locomotora.....	40
4.5 Protocolos experimentais.....	42
4.5.1 Caracterização do modelo.....	42
4.5.2 Influência do tratamento neonatal com capsaïcina.....	43
4.5.3 Estudo farmacológico.....	43
4.5.4 Medida dos níveis de citocinas.....	45
4.5.5 Participação de fatores de crescimento neural.....	46
5. DROGAS	46

6. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	47
7. RESULTADOS.....	49
7.1 Caracterização do modelo.....	49
7.1.1 Efeito sobre a hiperalgesia mecânica.....	49
7.1.2 Efeito sobre a hiperalgesia térmica.....	51
7.1.3 Efeito sobre a alodinia mecânica.....	54
7.1.4 Efeito sobre a alodinia ao frio.....	56
7.1.5 Efeito sobre a atividade funcional das patas anteriores	58
7.1.6 Efeito sobre a atividade locomotora.....	59
7.2 Tratamento neonatal com capsaïcina	61
7.3 Estudo farmacológico (tratamento agudo).....	63
7.3.1 Efeito da morfina.....	64
7.3.2 Efeito do L-NAME.....	65
7.3.3 Efeito da clonidina.....	66
7.3.4 Efeito da cetamina.....	68
7.3.5 Efeito da gabapentina.....	69
7.3.6 Efeito da lidocaína.....	70
7.3.7 Efeito da imipramina.....	71
7.3.8 Efeito do celecoxib.....	72
7.3.9 Efeito do diclofenaco.....	73
7.3.10 Efeito da dexametasona.....	74
7.3.11 Efeito da dipirona.....	75
7.3.12 Efeito da diacereína.....	76
7.3.13 Efeito da adenosina	77
7.4 Estudo farmacológico (tratamento repetida).....	78
7.4.1 Efeito da gabapentina.....	78
7.4.2 Efeito da imipramina.....	79
7.4.3 Efeito do diclofenaco.....	80
7.4.4 Efeito da dexametasona.....	81
7.4.5 Efeito da dipirona.....	82
7.5 Medida dos níveis de citocinas.....	83

7.6 Participação dos fatores de crescimento neural.....	86
8. DISCUSSÃO.....	87
9. CONCLUSÕES.....	124
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	128

LISTA DE ABREVIATURAS

NMDA	N-metil-D-aspartato
L-NAME	N^G -metil-L-arginina metil éster HCl
SP	substância P
CGRP	peptídeo relacionado ao gene da calcitonina
NGF	fator de crescimento do nervo
BDNF	fator neurotrófico derivado do cérebro
GDNF	fator neurotrófico derivado da glia
NT3	neurotrofina 3
VIP	peptídeo intestinal vasoativo
COX	ciclooxigenase
COX-1	ciclooxigenase 1
COX-2	ciclooxigenase 2
GABA	ácido gama amino butírico
s	segundos
kg	quilograma
mg	miligrama
μ g	micrograma
μ l	microlitro
s.c.	via subcutânea
i.p.	via intraperitoneal
v.o.	via oral
$^{\circ}$ C	graus centígrados
IL-1 β	interleucina 1 β
IL-6	interleucina 6
IL-10	interleucina 10
TNF- α	fator de necrose tumoral α
CFA	adjuvante completo de Freund

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Vias envolvidas na dor neuropática periférica e sítios potenciais de Intervenção farmacológica.....	26
Figura 2 - Representação esquemática de diferentes lesões do nervo ciático.....	27
Figura 3 - Anatomia do plexo braquial do rato.....	31
Figura 4 - Esquema representativo mostrando as lesões cirúrgicas do tronco inferior do plexo braquial do rato.....	33
Figura 5 - Medida da hiperalgesia mecânica (método de Randall e Selitto).....	34
Figura 6 - Medida da hiperalgesia térmica ao calor (Testes de Hargreaves e “paw-flick”).....	36
Figura 7 - Medida da alodinia mecânica com o uso do filamento de von Frey (2g).....	37
Figura 8 - Medida da alodinia ao frio avaliada pelo teste da acetona.....	39
Figura 9 - Avaliação da capacidade de apreensão das patas anteriores (“grasping test”).....	40
Figura 10 - Medida da atividade locomotora dos animais avaliadas no teste do campo aberto.....	41
Figura 11 - Latência de retirada das patas traseiras ipsilateral e contralateral avaliadas no teste de Randall e Selitto em ratos controle, falso operados, avulsão, ligadura e constrição do tronco inferior do plexo braquial direito de ratos em diferentes intervalos de tempo.....	50
Figura 12 - Latência de retirada das patas traseiras ipsilateral e contralateral avaliados no teste do “Hargreaves” em ratos controle, falso operados, ou após avulsão, ligadura ou constrição do tronco inferior do plexo braquial direito de ratos em diferentes intervalos de tempo.....	53
Figura 13 - Latência de retirada das patas traseiras ipsilateral e contralateral avaliadas no teste do “paw-flick” em ratos controle, falso operados, ou após avulsão, ligadura ou constrição do tronco inferior do plexo braquial direito de ratos em diferentes intervalos de tempo.....	54
Figura 14 - Alterações da sensibilidade táctil das patas traseiras ipsilateral e contralateral avaliadas com o uso dos filamentos de von Frey (2 g) em ratos controle, falso operado, ou após avulsão, ligadura ou constrição do tronco inferior do plexo braquial direito de ratos em diferentes intervalos de tempo.....	55

Figura 15 - Alterações da sensibilidade ao frio das patas traseiras ipsilateral e contralateral avaliadas com o uso do teste da acetona em ratos controle, falso operado, ou após avulsão, ligadura ou constrição do tronco inferior do plexo braquial direito de ratos em diferentes intervalos de tempo.....	57
Figura 16 - Atividade funcional das patas anteriores avaliadas com o uso do teste de apreensão (“grasping test”) em ratos controle, falso operado, ou após avulsão, ligadura e constrição do tronco inferior do plexo braquial direito de ratos em diferentes intervalos de tempo.....	59
Figura 17 - Atividade locomotora avaliada em ratos controle, falso operado, ou após a avulsão, ligadura ou constrição do tronco inferior do plexo braquial direito de ratos 5 dias após o procedimento cirúrgico.....	60
Figura 18 - Efeitos do tratamento neonatal com capsaïcina (50 mg/kg) sobre a hiperalgisia mecânica induzida pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial de rato 20 dias após a cirurgia.....	61
Figura 19 - Efeitos do tratamento neonatal com capsaïcina (50 mg/kg) sobre a alodinia mecânica induzida pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial de rato 20 dias após a cirurgia.....	62
Figura 20 - Efeitos do tratamento neonatal com capsaïcina (50 mg/kg) sobre a alodinia ao frio induzida pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial de rato 20 dias após a cirurgia.....	62
Figura 21 - Efeitos anti-hiperalgésico e anti-alodínico causados pela administração s.c. de morfina, avaliados 20 dias após a cirurgia nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito.....	65
Figura 22 - Efeitos anti-hiperalgésico e anti-alodínico causados pela administração i.p. de L-NAME, avaliados 20 dias após a cirurgia nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito.....	66
Figura 23 - Efeitos anti-hiperalgésico e anti-alodínico causados pela administração i.p. de clonidina, avaliados 20 dias após a cirurgia nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito.....	67
Figura 24 - Efeitos anti-hiperalgésico e anti-alodínico causados pela administração i.p. de cetamina, avaliados 20 dias após a cirurgia nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito.....	68
Figura 25 - Efeitos anti-hiperalgésico e anti-alodínico causados pela administração v.o. de gabapentina, avaliados 20 dias após a cirurgia nas patas posteriores de ratos	

com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito.....	69
Figura 26 - Efeitos anti-hiperalgésico e anti-alodínico causados pela administração i.p. de lidocaína, avaliados 20 dias após a cirurgia nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito.....	70
Figura 27 - Efeitos causados pela administração i.p. de imipramina sobre a hiperalgesia e alodinia, avaliados 20 dias após a cirurgia nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito.....	71
Figura 28 - Efeitos da administração v.o. de celecoxib sobre a hiperalgesia e alodinia, avaliados 20 dias após a cirurgia nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito.....	72
Figura 29 - Efeitos causados pela administração i.p. de diclofenaco sobre a hiperalgesia e alodinia, avaliados 20 dias após a cirurgia nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito.....	73
Figura 30 - Efeitos causados pela administração i.p. de dexametasona sobre a hiperalgesia e alodinia, avaliados 20 dias após a cirurgia nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito.....	74
Figura 31 - Efeitos causados pela administração i.p. de dipirona sobre a hiperalgesia e alodinia, avaliados 20 dias após a cirurgia nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito.....	75
Figura 32 - Efeitos causados pela administração i.p. de diacereina sobre a hiperalgesia e alodinia, avaliados 20 dias após a cirurgia nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito.....	76
Figura 33 - Efeitos causados pela administração i.p. de adenosina sobre a hiperalgesia e alodinia, avaliados 20 dias após a cirurgia nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito.....	77
Figura 34 - Efeitos causados pela administração repetida v.o. de gabapentina sobre a hiperalgesia e alodinia, avaliados a partir do 20º dia após a cirurgia, nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito.....	79
Figura 35 - Efeitos causados pela administração repetida i.p. de imipramina sobre a hiperalgesia e alodinia, avaliados a partir do 20º dia após a cirurgia, nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito.....	80
Figura 36 - Efeitos causados pela administração repetida i.p. de diclofenaco sobre a hiperalgesia e alodinia, avaliados a partir do 20º dia após a cirurgia, nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito.....	81

Figura 37 - Efeitos causados pela administração repetida i.p. de dexametasona sobre a hiperalgesia e alodinia, avaliados a partir do 20° dia após a cirurgia, nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito.....	82
Figura 38 – Efeitos causados pela administração repetida de dipirona (3 dias, i.p.) sobre a hiperalgesia e alodinia, avaliados a partir do 20° dia após a cirurgia, nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito.....	83
Figura 39 – Efeitos causados pela aplicação local de anticorpos anti-NGF, anti-BDNF e anti-GDNF sobre a hiperalgesia mecânica e alodinia ao frio, avaliados a partir do 20° dia após a cirurgia, nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito.....	86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais modelos animais disponíveis para o estudo da dor neuropática.....	25
Tabela 2 - Efeito da administração de CFA (150 µl/pata) sobre a latência de retirada das patas traseiras de ratos controle submetidos aos testes do Hargreaves e “paw-flick”.....	52
Tabela 3 - Níveis de IL-1 β na medula espinhal de animais controle, falso operados e submetidos a avulsão do tronco inferior do plexo braquial de ratos, 5, 20 e 45 dias o procedimento cirúrgico, expresso em pg/mg de tecido.....	84
Tabela 4 - Níveis de TNF- α na medula espinhal de animais controle, falso operados e submetidos a avulsão do tronco inferior do plexo braquial de ratos, 5, 20 e 45 dias o procedimento cirúrgico, expresso em pg/mg de tecido.....	84
Tabela 5 - Níveis de IL-10 na medula espinhal de animais controle, falso operados e submetidos a avulsão do tronco inferior do plexo braquial de ratos, 5, 20 e 45 dias o procedimento cirúrgico, expresso em pg/mg de tecido.....	85
Tabela 6 - Níveis de IL-6 na medula espinhal de animais controle, falso operados e submetidos a avulsão do tronco inferior do plexo braquial de ratos, 5, 20 e 45 dias o procedimento cirúrgico, expressos em pg/mg de tecido.....	85

GLOSSÁRIO DE TERMOS USADOS NO ESTUDO DA DOR NEUROPÁTICA

(MERSKEY e BOGDUK, 1994; VRINTEN et al., 2001; ZIMMERMANN, 2001; SAH et al., 2003)

- 4.1- **Alodinia**: dor provocada por um estímulo que normalmente não provoca dor.
- 4.2- **Autotomia**: termo usado para descrever uma forma de auto mutilação que pode resultar no aparecimento de feridas ou na amputação dos dígitos.
- 4.3- **Estímulo nocivo**: um estímulo que é danoso para o tecido normal.
- 4.4- **Gânglio da raiz dorsal**: é um grupo de corpos celulares de neurônios sensoriais que correspondem a um nível particular da medula espinhal.
- 4.5- **Rizotomia**: cirurgia na qual as raízes dorsais são cortadas.
- 4.6- **Deaferentação**: perda de fibras nervosas sensoriais que normalmente conduzem informações sensoriais dos tecidos periféricos para a medula espinhal.
- 4.7- **Dor por deaferentação**: dor iniciada ou causada por uma lesão primária do sistema nervoso central ou periférico.
- 4.8- **Disestesia**: sensação anormal desagradável, sendo espontânea ou provocada
- 4.9- **Hiperalgisia**: resposta dolorosa aumentada para um estímulo que é normalmente doloroso.
- 4.10- **Hiperestesia**: sensibilidade aumentada para uma estimulação, excluindo estímulos especiais.

4.11- **Hipoalgesia**: sensação dolorosa diminuída em resposta a um estímulo normalmente doloroso.

4.12- **Hipoestesia**: sensibilidade diminuída para uma estimulação, excluindo estímulos especiais como visão, por exemplo.

4.13- **Dor neuropática**: dor iniciada por lesão primária ou disfunção no sistema nervoso.

4.14- **Nociceptor**: um receptor preferencialmente sensitivo para estímulo nocivo ou para estímulo que pode se tornar nocivo se prolongado.

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi caracterizar um novo modelo de dor neuropática periférica, produzida pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial de ratos. Comparou-se os efeitos da lesão por avulsão com aqueles da ligadura ou constrição do mesmo plexo. A avulsão, e com menor intensidade a ligadura e a constrição causaram hiperalgesia mecânica, alodinia mecânica e ao frio de longa duração nas patas traseiras dos animais sem causar hiperalgesia térmica. A capacidade de apreensão das patas anteriores foi reduzida no grupo avulsão durante todo o período de avaliação, não ocorrendo o mesmo para ligadura e constrição. A atividade locomotora dos animais não foi alterada. A administração aguda de morfina (5 mg/Kg; s.c.), clonidina (300 µg/Kg; i.p.), cetamina (25 mg/Kg; i.p.), gabapentina (70 mg/kg; v.o.), L-NAME (150 mg/Kg; i.p.) ou diacereína (100 mg/kg), reverteu a hiperalgesia mecânica e a alodinia ao frio em ambas as patas traseiras. Ao contrário, diclofenaco (100 mg/Kg; i.p.), dexametasona (1,5 mg/kg; i.p.), imipramina (10 mg/kg; i.p.) ou dipirona (180 mg/kg; i.p.) não interferiram com a hiperalgesia mecânica ou com a alodinia ao frio. Além disso, a lidocaína (40 mg/kg; i.p.) inibiu apenas a alodinia ao frio enquanto que o celecoxib (10 mg/Kg; v.o.) e a adenosina (100 mg/kg) reverteram apenas parcialmente a hiperalgesia mecânica, sem interferir com a alodinia ao frio. O tratamento repetido com dipirona, dexametasona, diclofenaco e imipramina foi semelhante à administração aguda. A administração repetida de gabapentina apresentou efeito antinociceptivo ligeiramente superior. Não foram observadas alterações significativas nos níveis medulares das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-10 ou TNF- α 5, 20 ou 45 dias após a

avulsão. Os anticorpos anti-NGF, anti-BDNF e anti-GDNF aplicados localmente reverteram tanto a hiperalgisia mecânica quanto a alodinia ao frio 20 dias após a avulsão. Finalmente, é possível sugerir que a hiperalgisia mecânica e a alodinia ao frio não são dependentes da ativação das fibras C ou A δ sensíveis à capsaïcina, pois o tratamento neonatal com capsaïcina (50 mg/Kg, s.c.) não modificou a hiperalgisia mecânica, mas reverteu de modo significativo a alodinia mecânica. Os resultados do presente estudo sugerem que a avulsão do tronco inferior do plexo braquial em ratos constitui um modelo adequado para o estudo da dor neuropática persistente, bem como pode contribuir para a avaliação da atividade de novas terapias para o tratamento de neuropatias periféricas.

Parte destes resultados está publicado em:

RODRIGUES-FILHO, R.; SANTOS, A.R.S.; BERTELLI, J.A.; CALIXTO, J.B.
Avulsion injury of the rat brachial plexus triggers hyperalgesia and allodynia in the hindpaws: a new model for the study of neuropathic pain. **Brain Research**, v. 982, p. 186-194, 2003.

Além deste trabalho, outro grupo de resultados do presente estudo está submetido para publicação:

RODRIGUES-FILHO, R.; CAMPOS, M.M.; FERREIRA, J.; SANTOS, A.R.S.; BERTELLI, J.A.; CALIXTO, J.B. Pharmacological characterisation of the rat brachial plexus avulsion model of neuropathic pain.

ABSTRACT

The primary aim of the present study was to characterise a novel behavioural model of peripheral neuropathic pain, produced by brachial plexus lower trunk avulsion of the rats. The avulsion and, to a lesser extent, ligation or crushing elicits a long-lasting mechanical hyperalgesia, cold allodynia and mechanical allodynia but not thermal hyperalgesia in the hindpaws of the animals. The analysis of the functional activity of the forepaws revealed that, when compared with control and sham-operated rats, avulsion, ligation and crushing of brachial plexus lead to a marked reduction in grasping on the 5th day after the nerve damage. The locomotor activity was not modified. The acute administration of morphine (5 mg/Kg; s.c.), clonidine (300 µg/Kg; i.p.), ketamine (25 mg/Kg; i.p.), gabapentin (70 mg/kg; v.o.), L-NAME (150 mg/Kg; i.p.) or diacerhein (100 mg/kg; i.p.) consistently reduced mechanical hyperalgesia and cold allodynia. In contrast, diclofenac (100 mg/Kg; i.p.), dexamethasone (1,5 mg/kg; i.p.), imipramine (10 mg/kg; i.p.) or dipyrone (180 mg/kg; i.p.) failed to significantly attenuate both mechanical hyperalgesia and cold allodynia induced by lower trunk brachial plexus avulsion in both hindpaws. On the other hand, lidocaine (40 mg/kg; i.p.) reduced only cold allodynia, whereas celecoxib (10 mg/Kg; v.o.) and adenosine (100 mg/kg) partially inhibit the mechanical hyperalgesia, without affecting cold allodynia. The repeated treatment with dipyrone, dexamethasone, diclofenac and imipramine produced results similar to acute administration. However, the repeated administration of gabapentin produced a gain its antinociceptive effects. We have

not observed significant alterations in the medullary levels of the IL-1 β , IL-6, IL-10 or TNF- α at 5, 20 or 45 days after avulsion.

The local administration of antibodies to NGF, BDNF and GDNF administered locally, significantly reverted both mechanical hyperalgesia and cold allodynia 20 days after avulsion. Finally, it is possible to suggest that the mechanical allodynia, but not mechanical hyperalgesia and cold allodynia is dependent of the activation of the C-fibers and A δ -fibers capsaicin-sensitive since the neonatal treatment with capsaicin (50 mg/Kg, s.c.) did not affect the mechanical hyperalgesia.

The results of the present suggest that avulsion of the brachial plexus lower trunk avulsion in rats is a new model for the study of persistent neuropathic pain and also for the evaluation of new alternatives for the management of peripheral neuropathies.

1. INTRODUÇÃO

Conceitua-se a dor como uma percepção sensorial altamente complexa de uma sensação aversiva e desagradável em uma região específica do corpo. A dor possui um caráter protetor pois ela nos alerta sobre uma lesão tecidual real ou iminente, determinando respostas reflexas ou comportamentais para que o dano causado seja o menor possível (MERSKEY, 1986; SAKATA e GOZZANI, 1994; VRINTEN et al., 2001; BORSOOK e BECERRA, 2003).

Basicamente dois processos estão envolvidos na percepção e na transmissão da dor; um processo periférico, relacionado com a detecção e transmissão da informação relacionada ao dano potencial ou real do tecido, e um processo central, comandado pela resposta cerebral para esta informação (KANJHAN, 1995). Além disso, receptores, vias de transmissão e de modulação, assim como diferentes substâncias, estão direta ou indiretamente envolvidos nos processos dolorosos (MELZACK e WALL, 1983). Em geral, os receptores para estímulos nocivos, conhecidos como nociceptores, estão localizados em várias partes do corpo e representam ramos terminais livres e especializados das fibras nervosas sensoriais. Os nociceptores apresentam estrutura particular e específica, necessárias para transformar o estímulo nociceptivo em impulso nervoso (JESSELL e KELLY, 1991). Desta forma, o calor, o frio, a pressão, a distensão, os traumas e os estímulos químicos podem, direta ou indiretamente, ativar os nociceptores (BESSOU e PERL, 1969; LICO, 1979; HANDWERKER e REEH, 1994). Estes nociceptores conduzem as informações nociceptivas até o sistema nervoso central, conectados por sua vez com seus corpos celulares localizados

dentro do gânglio da raiz dorsal, adjacente a medula espinhal (DRAY e PERKINS, 1997; GRUBB, 1998; RUSSO e BROSE, 1998; BESSON, 1999). Sob condições fisiológicas, a transmissão do estímulo nocivo para a medula espinhal é feita fundamentalmente pelas fibras C e A δ . As fibras C, não mielinizadas realizam a condução lenta do estímulo doloroso (ADRIAENSEN et al., 1983; RAJA et al., 1988; COHEN e PERL, 1990), enquanto que as fibras A δ são pouco mielinizadas e de condução rápida (GEORGOPOULOS, 1976, 1977). Esse estímulo nociceptivo faz com que neurônios localizados no corno dorsal da medula espinhal liberem mediadores químicos diretamente envolvidos na transmissão do impulso nociceptivo. Dentre estes mediadores destacam-se a substância P, o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), as prostaglandinas e os aminoácidos excitatórios, como por exemplo o glutamato (JACKSON et al., 1995). A liberação destes neurotransmissores resulta na ativação de um segundo neurônio localizado predominantemente na lâmina II (substância gelatinosa) da medula espinhal e também de vias ascendentes, que transmitem a dor (nocicepção) para os centros supra-espinhais (BESSON e CHAOU DI, 1987; RAJA e MEYER, 1988; WOOLF, 1989; HALEY et al., 1990).

A transferência das informações nociceptivas entre a medula espinhal e os níveis supra-segmentares sofre alterações intensas devido à participação de mecanismos modulatórios da nocicepção. As fibras periféricas A β ativam as células da lâmina II e estas, bloqueiam a transferência das informações entre as fibras aferentes nociceptivas e os neurônios da medula espinhal. Por outro lado, a modulação da nocicepção feita pelas vias descendentes ocorre a partir de

diversas estruturas, como por exemplo a substância cinzenta periaquedutal, o tálamo, o hipotálamo, o núcleo caudato, o núcleo magno da rafe e o núcleo gigantocelular (DUGGAN e MORTON, 1988; WILLIS, 1988), causando liberação de neurotransmissores inibitórios, como a serotonina, a noradrenalina, as encefalinas (HERTZ e MILLAN, 1988; ZEMLAN et al., 1988; BONICA, 1990), e outros opióides endógenos, como por exemplo as dinorfinas (DICKENSON, 1995). Desta forma, a modulação da nocicepção é um processo dinâmico que envolve interações contínuas entre o complexo ascendente e os sistemas descendentes (MELZACK e DENNIS, 1978).

Em termos de duração, a nocicepção pode se apresentar nas formas transitória, aguda e crônica. Na nocicepção transitória, a ativação dos nociceptores é feita na ausência de qualquer dano tecidual, e contribui para proteger o organismo de potenciais danos físicos causados pelo ambiente ou por estresse de tecidos corporais. A nocicepção aguda é causada por lesão tecidual e ativação de nociceptores no local da lesão. Este tipo de nocicepção tem causa bem definida, com um curso temporal característico, desaparecendo até mesmo antes da remoção ou cura do dano tecidual. A nocicepção crônica por sua vez é causada geralmente por lesão ou doença que supera a capacidade de cura do organismo. Este tipo de nocicepção pode ocorrer mesmo quando o trauma inicial já desapareceu, e pode se estender por meses ou anos (MELZACK e WALL, 1983; ASHBURN e STAATS, 1999; LOESER e MELZACK, 1999).

A nocicepção crônica difere substancialmente da nocicepção aguda em relação à sua duração, alterações adaptativas como a neuroplasticidade em vários níveis do sistema nervoso e também quanto as dificuldades de tratamento

(IADAROLA e CAUDLE, 1997; BESSON, 1999; WANG e WANG, 2003). Esse tipo de dor (nocicepção) afeta centenas de milhares de pessoas em todo o mundo, estando associada com mudanças da função física e emocional, com reflexo na qualidade de vida e nas atividades ocupacionais (ASHBURN e STAATS, 1999).

A nocicepção crônica está associada com dano tecidual, inflamação ou neuropatologias, onde a sensação nociceptiva não possui utilidade biológica. Neste tipo de nocicepção, muitos processos ocorrem em associação com os eventos básicos da nocicepção, que alteram a relação entre o estímulo e a resposta nociceptiva, e afetam a modulação do estado nociceptivo resultante. Alguns desses eventos ocorrem durante o desenvolvimento e a consolidação do estado nociceptivo, levando a mudanças desde a excitabilidade das fibras aferentes primárias, até alterações drásticas no fenótipo celular dessas fibras, como por exemplo a expressão de novas moléculas, incluindo os canais iônicos, os neurotransmissores, as enzimas e alguns receptores. Além disso, alterações centrais crônicas na neuroquímica da sinalização da nocicepção produzem hipersensibilidade, aumentando e prolongando níveis relativamente pequenos de impulsos aferentes, e permitindo que estímulos inócuos passem a ser percebidos como nociceptivos (como a alodinia por exemplo). Mudanças estruturais, secundárias à lesão nervosa periférica, incluem a perda de interneurônios espinhais, rearranjos não apropriados de processos nervosos aferentes na medula espinhal e a proliferação de fibras simpáticas no gânglio sensorial. Essas mudanças não são uniformes e dependem do tipo de lesão tecidual, do envolvimento de tipos específicos de fibras e da participação do sistema imune

(DRAY et al., 1994; PERKINS e TRACEY, 2000; WATKINS e MAIER, 2002; DOGRUL et al., 2003).

As dores crônicas mais comuns incluem a síndrome dolorosa miofascial, a fibromialgia, a dor associada a artrite reumatóide, a dor do membro fantasma, as síndromes dolorosas centrais e a dor neuropática (ASHBURN e STAATS, 1999).

A primeira descrição da dor neuropática é atribuída ao Dr. Weir Mitchell (1829-1914) que avaliou inúmeros soldados com lesões nervosas após a guerra civil americana. A descrição clara da dor associada com causalgia foi detalhada em seu livro “Lesões de Nervos e suas Conseqüências” publicado em 1872, e que hoje ainda é válida. Em 1906, Dejerine e Roussy publicaram um estudo sobre dor associada com lesão talâmica, com o título “*Le syndrome thalamique*” publicada no “*Revue Neurologique*”. A dor associada com esta síndrome foi subsequente chamada de “dor central” por Riddoch em 1938 (BEYDOUN, 2003). Ambas as síndromes, uma associada com lesão do sistema nervoso periférico e a outra com lesão do sistema nervoso central, são classificadas como dor neuropática, de acordo com a definição da Associação Internacional para Estudo da Dor (IASP) (MERSKEY e BOGDUK, 1994).

Segundo a IASP a dor neuropática pode ser definida como “a dor iniciada ou causada por uma lesão ou disfunção primária no sistema nervoso” (MERSKEY e BOGDUK, 1994). Esta definição é importante para guiar a avaliação clínica e o tratamento da dor neuropática, e inclui tanto as situações nas quais existe uma lesão nervosa atual, como aquelas relacionadas com o trauma do nervo ou doença, e aquelas nas quais existe dor na ausência de lesão física atual do nervo.

As síndromes da dor neuropática em humanos estão, em muitos casos, associadas com lesões de nervos periféricos devido ao trauma (por exemplo: amputação, tração, compressão), drogas (como vincristina, cisplatina, taxol), desordens metabólicas (por exemplo a diabetes) e infecções por herpes vírus (SELTZER, 1995; DICKINSON et al., 1999; ALEY e LEVINE, 2002; HANSSON, 2002; BAUMGÄRTNER et al., 2002; BORSOOK e BECERRA, 2003).

Embora as causas da lesão do sistema nervoso possam variar, os sintomas da dor neuropática são comuns e podem ser classificados em negativos e positivos. Os sintomas negativos consistem de sensibilidade diminuída para a dor ou estimulação (hipoalgesia e hipoestesia), (ver glossário para definição de termos). Os sintomas positivos podem ser representados por sensações espontâneas e evocadas. As sensações espontâneas são caracterizadas pela dor independente de estímulo, que pode ser contínua (freqüentemente descrita como dor em queimação, em pontada, tipo cortante ou como ardência) ou paroxística (descrita como dor de ferimento a bala ou como choque elétrico) e pelas sensações espontâneas anormais, tais como, formigamento, dormência, picada ou sensação de coceira (disestesias e parestesias); (ver glossário para definição de termos). As sensações evocadas são representadas pela resposta aumentada para um estímulo doloroso (hiperalgesia) e/ou a percepção dolorosa para um estímulo inócuo (alodinia) (MILLAN, 1999; BESSON, 1999). Estas sensações podem ser provocadas tanto pela estimulação mecânica, quanto térmica (calor e frio) e são comuns na dor neuropática (para revisão ver: KINGERY, 1997; MALMBERG e BASBAUM, 1998; SYRIATOWICZ et al., 1999; ZIMMERMANN, 2001; VRINTEN et al., 2001).

Na prática clínica, tem sido extensivamente descrito que a dor neuropática é de difícil tratamento, pois envolve etiologia distinta e, principalmente, porque os mecanismos celulares e moleculares envolvidos são complexos e até o momento pouco entendidos (ZIMMERMANN, 2001; ERICHSEN e BLACKBURN-MUNRO, 2002; ALEY e LEVINE, 2002; BAUMGÄRTNER et al., 2002; BOLAY e MOSKOWITZ, 2002; HARDEN e COHEN, 2003). Sabe-se que tanto o sistema nervoso periférico, quanto o sistema nervoso central, estão implicados na gênese da dor neuropática. A lesão do nervo periférico pode mudar a fisiologia do corno dorsal e como consequência a dor pode se tornar progressivamente centralizada, resultando na sua amplificação e persistência (IGNATOWSKI et al., 1999; SCHWARTZMAN et al., 2001).

A variedade de opções terapêuticas para o tratamento da dor neuropática tem aumentado nos últimos anos (GALER, 1995), embora a resposta da dor neuropática para a maioria dos tratamentos disponíveis não seja satisfatória. Dentre os tratamentos farmacológicos disponíveis na clínica estão incluídos os antidepressivos, os anticonvulsivantes, os agentes tópicos, os anestésicos locais, os analgésicos opióides e não opióides, os antiinflamatórios e os antiarrítmicos (GALER, 1995; ATTAL, 2000; SAH et al., 2003; GUSTAFSSON et al., 2003; KVARNSTROM et al., 2003). Além do alívio limitado da dor neuropática obtido com estas drogas, o tratamento se torna ainda mais difícil em função da janela terapêutica, normalmente estreita e dos efeitos colaterais difíceis de serem tolerados pelos pacientes. Como muitas destas drogas têm normalmente efeitos muito mais paliativos do que curativos, existe na atualidade uma grande necessidade do desenvolvimento de novas drogas que possam ser úteis no

tratamento da dor neuropática. Evidências recentes indicam que fatores neurotróficos podem ser candidatos potenciais para cura ou revesão do processo natural da doença. Dentre os fatores neurotróficos mais estudados podemos destacar o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), o fator de crescimento do nervo (NGF), a neutrofina 3 (NT3) e o fator neurotrófico derivado da glia (GDNF) (KIDD e URBAN, 2001; SAH et al., 2003; SAWYNOK, 2003; GWAK et al., 2003; LI et al., 2003).

A relação entre a etiologia, a síndrome neuropática e a eficácia do tratamento é complexa. Dentre os pacientes com lesão de nervo, alguns não desenvolvem dor neuropática, entretanto, outros pacientes desenvolvem dor acentuada e de longa duração após lesão de nervo periférico ou central (WOOLF e MANNION, 1999; ZIMMERMANN, 2001). A susceptibilidade para o desenvolvimento de dor neuropática após a lesão nervosa ainda não é bem compreendida, sendo difícil prever quais pacientes com lesão de nervo desenvolverão dor neuropática (WOOLF e MANNION, 1999; ZIMMERMANN, 2001). Além disso, em geral, a eficácia de um tratamento particular nem sempre pode estar relacionada com a etiologia (HANSSON, 2002). Causas e mecanismos fisiopatológicos distintos podem existir entre os diferentes pacientes, mas estes podem se manifestar clinicamente com sintomas similares.

Por causa da sua heterogeneidade e complexidade, a dor neuropática é de difícil classificação. Em geral, as síndromes de dor neuropática são classificadas de acordo com a etiologia do dano causado. Baseando-se nos mecanismos envolvidos, DelleMijn (1997) definiu três grupos diferentes de síndromes: 1) dor nociceptiva do nervo, é a dor relacionada a um processo

inflamatório do tecido que envolve o nervo, ou seja, epineuro ou perineuro, e este tipo de dor sempre se origina no sistema nervoso periférico; 2) síndrome da dor regional complexa e distrofia, que pode ser mantida pelo sistema nervoso simpático; 3) dor por deafferentação, é a dor originada de lesão do sistema nervoso central ou periférico, sem componente inflamatório (BOIVIE, 1999).

Atualmente, existe maior tendência em se classificar a dor neuropática com base nos sinais e sintomas detectados (WOOLF e MANNION, 1999; NICHOLSON, 2000) e não apenas em relação a sua etiologia. Similarmente, a eficácia das drogas usadas no tratamento dos diferentes tipos de síndromes neuropáticas dolorosas gera outra possível classificação, baseada nas respostas obtidas com o uso de diferentes agentes farmacológicos (SINDRUP e JENSEN, 1999). Este tipo de abordagem pode possibilitar que se estabeleça um tratamento farmacológico de acordo com as necessidades individuais do paciente (ATTAL, 2000). Além disso, na pesquisa de novas estratégias de tratamento é importante entender quais mecanismos fisiopatológicos estão envolvidos na dor neuropática.

A transecção de nervo periférico está associada com várias alterações neuroanatômicas que normalmente envolvem tanto o sistema nervoso central como o periférico. Na periferia, desenvolve-se um neuroma no local onde ocorreu a lesão. Este neuroma é desenvolvido no coto proximal do nervo lesado, e consiste de brotamentos do nervo em regeneração em todas as direções. A porção distal à lesão do nervo degenera pela falta de suprimento energético oriundo do corpo celular (localizado no gânglio da raiz dorsal), mas a porção proximal à lesão sobrevive formando o neuroma. No neuroma é observado o desenvolvimento de descargas ectópicas, particularmente de fibras C que chegam

ao sistema nervoso central, e são interpretadas como originárias do membro lesionado. Estas descargas ectópicas podem ser causadas pelo acúmulo de transmissores e de receptores na região do neuroma, que deveriam chegar até a porção distal da lesão por transporte anterógrado (MAcFARLANE et al., 1997). A lesão axonal também resulta no transporte retrógrado de proteínas ao núcleo, causando hiperexcitabilidade do soma (no gânglio da raiz dorsal) e degeneração trans-sináptica (YAMAMOTO e YAKSH, 1993; WATKINS et al., 1995).

As descargas ectópicas periféricas podem provocar reorganização e alterações nas fibras que chegam ao corno dorsal da medula espinhal. Em conseqüência ocorre queda do controle inibitório da nocicepção com a estimulação das fibras C que causam liberação excessiva de glutamato, aspartato, substância P e peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), causando sensibilização dos neurônios do corno dorsal medular, como resultado dos níveis elevados de atividade das sinapses glutamatérgicas (mediadas pelo receptor NMDA) (WOOLF e THOMPSON, 1991; MENDELL e SAHENK, 2003). Dessa maneira, os estímulos excitatórios periféricos tornam-se exagerados e os neurônios do corno dorsal podem ser despolarizados espontaneamente (Figura 1; p.26). Além disso, fibras A β (de baixo limiar) que transmitem estímulos mecânicos inócuos, reorganizam-se anatomicamente e passam a fazer sinapse na lâmina II do corno dorsal da medula espinhal, produzindo neurotransmissores como substância P e CGRP que participam da transmissão da nocicepção (WOOLF e MANNION, 1999; MENDELL e SAHENK, 2003; SAH et al., 2003). Com esta reorganização funcional, os alvos pós-sinápticos que recebiam usualmente

impulsos de fibras aferentes pequenas (WOOLF et al., 1992), podem contribuir para a percepção da nocicepção evocada por estímulos mecânicos inócuos (SUGIMOTO et al., 1990; MAO et al., 1997) (Figura 1; p. 26). Estas fibras passam então a interpretar o estímulo inócuo como sendo nocivo, constituindo assim base anatômica para o estabelecimento da alodinia mecânica (VRINTEN et al., 2001).

Foi também demonstrado que os neurônios aferentes primários não lesados das áreas que circundam à lesão formam novos brotos para inervar áreas desnervadas da pele e freqüentemente emitem descargas espontâneas. Estas áreas da pele podem então desenvolver respostas anormais e limiares reduzidos, tornando-se hiperalgésicas e alodínicas. Não está claro entretanto, se estes são produzidos através de mecanismos periféricos ou centrais ou se resultam da combinação de ambos. Em conjunto, estas mudanças podem levar a hiperexcitabilidade dos neurônios do corno da raiz dorsal (VRINTEN et al., 2001).

Como já comentado anteriormente, uma das conseqüências da lesão dos nervos periféricos é o desenvolvimento de descargas ectópicas espontâneas. Estas descargas se originam no local da lesão e no gânglio da raiz dorsal e contribuem para o surgimento de nocicepção espontânea e da hiperestesia (SAH et al., 2003). Mais recentemente, evidências tem demonstrado que a geração das descargas ectópicas espontâneas que ocorrem na dor neuropática está relacionada com mudanças nos canais de sódio que regulam a voltagem (SAH et al., 2003; LAI et al., 2003; LoGRASSO e McKELVY, 2003). Estes canais estão localizados na membrana plasmática de axônios lesados, no gânglio da raiz dorsal, e em sítios proximais a transecção do nervo (ENGLAND et al., 1996; HOLDEN e PIZZI, 2003; LoGRASSO e McKELVY, 2003, LAI et al., 2003; SAH et

al., 2003). A sua despolarização permite a entrada de íons sódio para o interior da célula, que causa em consequência a geração de potenciais de ação (SAH et al., 2003).

Dos canais de sódio ativados por voltagem, 9 subtipos estão associados à subunidade α ($\text{Na}_v1.1$ – $\text{Na}_v1.9$), e 3 subtipos estão associados às subunidades β ($\beta1-3$), que podem regular a função da subunidade α (BLACKBURN-MUNRO et al., 2002; LAI et al., 2003). Várias subunidades α e todas as subunidades β têm sido detectadas em neurônios do gânglio da raiz dorsal, contribuindo dessa forma para o aparecimento de dois tipos de correntes de sódio que são definidas de acordo com a sua sensibilidade farmacológica à tetrodotoxina (BLACKBURN-MUNRO et al., 2002; LAI et al., 2003). Os subtipos de canais de sódio insensíveis à tetrodotoxina são específicos de neurônio sensorial (LoGRASSO e McKELVY, 2003). O subtipo $\text{Na}_v1.8$ é encontrado principalmente nas fibras periféricas não mielinizadas de pequeno diâmetro (fibras C), mas também pode ser expresso em fibras mielinizadas A, no gânglio da raiz dorsal (BLACKBURN-MUNRO et al., 2002; LAI et al., 2003). Entretanto, não são encontrados em outros neurônios periféricos ou centrais ou mesmo em tecidos não neuronais (COWARD et al., 2000; HOLDEN e PIZZI, 2003; SAH et al., 2003; LoGRASSO e McKELVY, 2003). Existem evidências recentes que indicam que a dor neuropática pode ser parcialmente mediada pela redistribuição anormal dos canais de sódio do subtipo $\text{Na}_v1.8$ em decorrência da lesão nervosa (DECOSTERD et al., 2002). Embora a ligação de nervos espinhais (L5 e L6) resulte na redução do RNAm e da proteína $\text{Na}_v1.8$ e das correntes resistentes a tetrodotoxina nos neurônios do gânglio da

raiz dorsal após a lesão, o gânglio da raiz dorsal não lesado adjacente apresenta acentuada redistribuição da proteína para canais $Na_v1.8$ para o axônio, determinando assim aumento significativo de correntes resistentes a tetrodotoxina ao longo do nervo ciático (LAI et al., 2003; LoGRASSO e McKELVY, 2003; SAH et al., 2003). Redistribuição similar foi observada após lesão por constrição crônica bem como em tecidos obtidos de pacientes portadores de dor neuropática crônica (LAI et al., 2003).

Os canais de sódio tipo $Na_v 1.9$ (Na_N) também são relativamente resistentes a tetrodotoxina, embora suas propriedades cinéticas sejam diferentes das propriedades dos canais $Na_v1.8$. Os canais $Na_v1.9$ são expressos seletivamente em neurônios nociceptivos, e não são detectados em fibras A não nociceptivas (FANG et al., 2002). Estes canais são ativos em potencial de repouso da membrana (-70 mV), e podem modular o potencial de repouso dos nociceptores e suas respostas para estímulos sub-limiáres (HERZOG et al., 2001). Em condições de excitabilidade persistente, muitos destes canais de sódio encontram-se em estado inativo e portanto não viáveis para serem abertos. Recentemente, Konnerth e colaboradores demonstraram que o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) ativa este tipo de canal de sódio no hipocampo, indicando que a sua distribuição não é restrita ao gânglio da raiz dorsal (BLUM et al., 2002). Como acontece com os canais do $Na_v1.8$, o subtipo 1.9 também é pouco expresso em fibras nervosas transectadas (SLEEPER et al., 2000; DECOSTERD et al., 2002). A participação destes dois subtipos de canais de sódio na dor neuropática é portanto, bastante diferente, e pode não somente ser influenciada por suas propriedades distintas mas também por sua expressão

diferencial e/ou distribuição nos subtipos de fibras aferentes sensoriais em resposta à lesão (LAI et al., 2003).

Além disso, tem também sido observado que o subtipo Na_v 1.3 está aumentado em lesões do tipo axotomia, contusão de nervo periférico, ligação de nervos espinhais ou constrição crônica do nervo ciático. O aumento da expressão destes canais (Na_v 1.3) em neurônios sensoriais de segunda ordem do corno dorsal, após lesão nervosa, sugere que existe relação funcional entre a expressão de Na_v 1.3 e a hiperexcitabilidade neuronal associada com dor neuropática (KIM et al., 2001; HAINS et al., 2003; LAI et al., 2003).

Atualmente, vem crescendo o interesse pelo esclarecimento da possível participação de canais de cálcio e canais de potássio na dor neuropática. O íon cálcio entra nas terminações nervosas através de canais de cálcio e regulam muitas funções, incluindo proteínas relacionadas ao crescimento. Os canais de cálcio também surgem em brotos de nervos em regeneração, e podem influenciar a liberação de substância P em neuroma de rato (ZIMMERMANN, 2001). Existem cinco tipos de canais de cálcio sensíveis a voltagem (L, T, N, P/Q e R) com características eletrofisiológicas e farmacológicas distintas (CATTERALL, 2000; DOGRUL et al., 2003). Os canais de cálcio tipo L e N estão implicados na liberação de neurotransmissores e de neuromoduladores como o CGRP, de neurônios sensoriais na medula espinhal. O bloqueio dos canais de cálcio sensíveis a voltagem do tipo N e P/Q, mas não os do tipo L, reduzem os sinais comportamentais da dor neuropática em modelos animais de lesão nervosa. Os canais de cálcio tipo T possuem limiar mais baixo para potenciais de ação e promovem excitação sináptica rápida, que podem favorecer o desenvolvimento de

dor acentuada (MATTHEWS e DICKENSON, 2001; SEKIZAWA et al., 2000; DOGRUL et al., 2003). Entretanto, a ausência de antagonistas seletivos para estes canais impede uma avaliação mais precisa com relação a participação dos mesmos na dor neuropática (DOGRUL et al., 2003). Pouco se sabe sobre o envolvimento dos canais de potássio na dor neuropática. Sabe-se que a sua abertura pode resultar em hiperpolarização ou estabilização do potencial de membrana, e portanto, contribuir para a geração das descargas ectópicas que induzem a dor neuropática (ZIMMERMANN, 2001).

Como o neuroma contém fibras C aferentes e fibras eferentes pós-ganglionares simpáticas que liberam adrenalina e noradrenalina, é possível que o aumento da sensibilidade dos brotos em regeneração possa ser influenciado por mediadores nociceptivos, em situações onde há níveis aumentados da atividade simpática (JANIG, 1988). A noradrenalina liberada dos terminais simpáticos por ativação de autorreceptores leva a produção de eicosanóides, que se difundem para o neurônio sensorial resultando em sua sensibilização (GONZALES et al., 1991). Além disso, os neurônios sensoriais lesados tornam-se sensíveis às catecolaminas, com aumento da expressão de α -adrenoceptores (HU e ZHU, 1989). A lesão de nervos periféricos também induz crescimento de axônios de fibras simpáticas para dentro do gânglio da raiz dorsal, formando redes entrelaçadas ao redor dos corpos celulares de aferentes primários (McLACHLAN et al., 1993; MENDELL e SAHENK, 2003) (Figura 1; p. 26). Estes dois fatos juntos podem representar o mecanismo pelo qual a atividade simpática mantém descargas em fibras aferentes primárias.

Além de todas as alterações já descritas, os níveis de vários outros neuropeptídeos e de neurotransmissores são regulados em função da lesão nervosa. Esta plasticidade neuronal pode contribuir para a transmissão da informação sensorial alterada que é observada na dor neuropática. Após a lesão nervosa existe aumento acentuado dos níveis de galanina em neurônios lesados ou preservados do gânglio da raiz dorsal (VRINTEN et al., 2001), facilitando a transmissão nociceptiva e aumentando a liberação de substância P determinada pela estimulação (KURAISHI et al., 1991). O peptídeo intestinal vasoativo (VIP) também está aumentado após a lesão de nervos periféricos (NAHIN et al., 1994; DICKINSON e FLEETWOOD-WALKER, 1999). Sugere-se que o VIP tenha atividade excitatória mantendo a transmissão no corno dorsal (VRINTEN et al., 2001). Além destes, o neuropeptídeo Y, a colecistocinina, a somatostatina, o fator neurotrófico derivado do cérebro e o fator de ativação de transcrição tipo 3 também têm seus níveis aumentados na dor neuropática (NOGUCHI et al., 1993; MARCHAND et al., 1999; ANTUNES et al., 1999; SAH et al., 2003). Estas alterações nos níveis dos neuropeptídeos refletem uma resposta adaptativa complexa do organismo em relação ao estado neuropático estabelecido e podem contribuir com a sensibilização neuronal presente em pacientes com dor neuropática.

Por outro lado, a sensibilização dos nociceptores também pode contribuir para mecanismos periféricos (WOOLF e DOUBELL, 1994; THEODOSIOU et al., 1999; ZIMMERMANN, 2001). Tem sido relatado que a sensibilização periférica pode ser associada com a liberação de mediadores álgicos por células imunes. Dentre estas células, mastócitos e macrófagos parecem ser recrutados para o

nervo lesado, processo esse que ocorre em paralelo com a resposta inflamatória (CLATWORTHY et al., 1995; TRACEY e WALKER, 1995; VRINTEN et al., 2001). Células envolvidas com o processo inflamatório produzem mediadores que provocam sensibilização das fibras sensoriais. Portanto, a dor neuropática é, pelo menos em parte, mantida pela reação inflamatória (TRACEY e WALKER, 1995; BENNETT, 1999). Neste caso, a lesão deve envolver o recrutamento de leucócitos (polimorfonucleares na fase aguda e macrófagos e células T na fase crônica) e liberação de mediadores inflamatórios (cininas, complemento, citocinas e metabólitos do ácido araquidônico) (TRACEY e WALKER, 1995; PERKINS e TRACEY, 2000; VRINTEN et al., 2001).

De fato, a hiperalgesia causada pela lesão de nervos periféricos pode ser resultado da liberação de citocinas pró-inflamatórias pelas células imunes ativadas. Tem sido descrito que a lesão nervosa é seguida por invasão massiva e rápida de macrófagos ao sítio da lesão, que liberam citocinas pró-inflamatórias. Outras células, como por exemplo as células de Schwann e a micróglia também podem produzir citocinas como o fator de necrose tumoral (TNF α) e as interleucinas-1 e 6 (IL-1 e IL-6) (WATKINS et al., 1995). Estas células fagocíticas parecem ser responsáveis pela sensibilidade anormal a vários estímulos e pela atividade espontânea exagerada dos nervos periféricos lesados. Além das citocinas, os macrófagos podem liberar também glutamato, causando aumento da excitabilidade neuronal (WATKINS et al., 1995). Esta sensibilização é refletida pela atividade espontânea aumentada, limiar reduzido ou aumento da responsividade para estimulação aferente, estimulação repetida para descargas

prolongadas, e expansão para campos receptivos periféricos de neurônios do corno dorsal (VRINTEN et al., 2001).

Durante a sensibilização central ocorrem alterações eletrofisiológicas como o “wind up” (facilitação dependente do uso), na qual os neurônios da medula espinhal, ao receberem estímulos de pequenas fibras, geram potenciais de ação repetidos após cada estimulação. Neste fenômeno, o receptor NMDA desempenha função fundamental (VRINTEN et al., 2001). Associada com a sensibilização e excitação prolongada das células do corno dorsal da medula espinhal, a estimulação nociva e a lesão tecidual também produzem expansão dos campos receptivos dos neurônios do corno dorsal. Neurônios do corno dorsal da medula espinhal com campos receptivos adjacentes a uma lesão cutânea expandem seus campos receptivos para incorporar o sítio da lesão (McMAHON e WALL, 1984).

Portanto, mudanças na função química e na estrutura dos neurônios (plasticidade neuronal) estão claramente envolvidas na produção da sensibilidade alterada, característica da dor neuropática. Essas mudanças têm sido mais estudadas em neurônios periféricos e espinhais, mas alterações semelhantes ocorrem no cérebro, particularmente no córtex, e podem ser medidas experimentalmente ou por tomografia funcional (WOOLF e MANNION, 1999). Assim, as síndromes dolorosas neuropáticas freqüentemente desenvolvem um componente mediado pelo sistema nervoso central com influência sobre a experiência cognitiva da dor e que está associada a mudanças de humor (IGNATOWSKI et al., 1999).

Como a dor neuropática pode resultar de várias etiologias e apresentar diferentes sintomas, inúmeros mecanismos têm sido propostos como possíveis responsáveis por suas manifestações. Os mecanismos envolvidos na gênese da dor neuropática são comumente identificados e estudados em modelos animais (Tabela 1; p. 25).

Em 1986, Zimmermann re-interpretou a definição de dor publicada pela Associação Internacional para Estudo da Dor para que se pudesse aplicar tal definição para o estudo em animais. Assim, a dor foi definida como uma experiência sensorial aversiva causada por lesão atual ou potencial que determina reações motoras e vegetativas progressivas, resulta em comportamento de aprendizado para esquiva, e pode modificar o comportamento específico das espécies, incluindo comportamento social (LE BARS et al., 2001).

Nos últimos 25 anos vários modelos animais têm sido desenvolvidos para o estudo dos mecanismos básicos envolvidos na nocicepção neuropática. Estes modelos animais mimetizam com certa variabilidade alguns dos principais sintomas observados clinicamente após a lesão nervosa. Estes modelos, apesar de suas limitações têm contribuído para o entendimento de alguns dos mecanismos envolvidos na produção e na manutenção da dor neuropática, além de serem úteis para o desenvolvimento de novas drogas para o tratamento da dor neuropática persistente (MCMAHON e PRIESTLEY, 1995; SELTZER, 1995; PITCHER et al., 1999; ZIMMERMANN, 2001; SMITH et al., 2002; WANG e WANG, 2003).

A transecção completa ou axotomia do nervo ciático é um dos modelos mais utilizados para estudo da nocicepção neuropática. Este modelo tem

proporcionado muitas informações importantes, mas também tem uso limitado por causa da dificuldade de produzir respostas comportamentais na pata desnervada (WALL et al., 1979). O comportamento nociceptivo dos animais é representado pela autotomia do membro lesado. Como muitos pacientes que sofrem de dor neuropática possuem lesão parcial de um nervo, vários modelos refletindo esta condição têm sido desenvolvidos. O modelo de lesão por constrição crônica (figura 2) é um modelo de mononeuropatia (BENNETT e XIE, 1988), onde um fio de sutura é passado ao redor do nervo ciático e fortemente amarrado resultando em perda substancial tanto de fibras mielinizadas, quanto não mielinizadas na porção distal a ligadura (BASBAUM et al., 1991; KAJANDER and BENNETT, 1992). Esta lesão resulta em recolhimento da pata afetada, comportamento defensivo espontâneo, assim como alodinia ao frio ou a estímulo mecânico e hiperalgesia para estímulos térmicos (BENNETT and XIE, 1988). Tem sido proposto, que a chegada de estímulos aferentes significantes na área extraterritorial é mediada pelo nervo safeno sensibilizado e pelo processamento da disfunção central para o impulso periférico (TAL e BENNETT, 1994).

Outro modelo desenvolvido e muito utilizado consiste na ligação parcial do nervo ciático, que determina o aparecimento de alterações semelhantes às aquelas observadas na dor causalgiforme clínica (SELTZER et al., 1990). Neste modelo, somente um terço ou metade do nervo ciático é ligado (figura 2), e assim, tanto as fibras não mielinizadas quanto as mielinizadas de pequeno diâmetro são preservadas (SHIR e SELTZER, 1990). Os animais apresentam comportamento indicativo de nocicepção espontânea, incluindo recolhimento ou lambida da pata

afetada poucas horas após a cirurgia, além do aparecimento de alodinia tátil e hiperalgesia térmica de longa duração.

Mais recentemente, foram desenvolvidos os modelos de ligação de nervos espinhais e lesão preservada do nervo. No modelo de ligação de nervos espinhais, as raízes L5 e L6 são ligadas distalmente ao gânglio da raiz dorsal (Figura 2; p. 27). A principal vantagem deste modelo é que as ligaduras são proximais a trifurcação do nervo ciático envolvendo apenas as raízes sensoriais L5 e L6, correspondentes aos nervos lesados, enquanto a raiz L4 recebe impulsos somente de nervos intactos, permitindo um exame seletivo dos componentes do nervo responsáveis pela dor neuropática (KIM e CHUNG, 1992; BOUCHER e McMAHON, 2001). Os ratos com ligadura de nervos espinhais desenvolvem comportamentos sugestivos de nocicepção espontânea, hiperalgesia térmica e mecânica acentuadas, alodinia mecânica estável e de longa duração, correspondendo a causalgia clínica (KIM e CHUNG, 1992).

O modelo de lesão preservada do nervo se caracteriza pela ligadura dos nervos peroneal e tibial, mantendo intacto o nervo sural (figura 2). O objetivo deste modelo foi possibilitar o estudo de mudanças nos nervos lesados e no nervo intacto, proximalmente a junção destes três nervos para formar o nervo ciático. Os ratos com este tipo de lesão desenvolvem sinais comportamentais de nocicepção espontânea já observada 24 horas após, e que persiste por mais de 6 meses, demonstrando respostas intensificadas para estímulos táteis, nocivos ou não, e alodinia ao frio (DECOSTERD e WOOLF, 2000).

Várias patologias podem causar dor neuropática. O diabetes melito determina perda de axônios mielinizados e não mielinizados. O modelo animal que

corresponde o diabetes melito foi desenvolvido a partir da injeção sistêmica de estreptozotocina, que destrói as células β -pancreáticas e resulta em aumento da glicose plasmática, perda de peso, diminuição da mobilidade, polidipsia e poliúria (COURTEIX et al., 1993). Após a injeção de estreptozotocina os animais desenvolvem hiperalgesia térmica seguida de hipoalgesia térmica, hiperalgesia mecânica e alodinia para estímulos quentes e frios (COURTEIX et al., 1993). Entretanto, diferente da doença em humanos, a perda de axônios periféricos não ocorre em extensão significativa durante os primeiros meses após a injeção de estreptozotocina, e o modelo é geralmente definido como severo, estando associado com toxicidade aguda e rápida, ao contrário da lenta neurodegeneração que ocorre em pacientes diabéticos (COURTEIX et al., 1993; NAKAMURA-CRAIG e FOLLENFANTS, 1995; D' ALMEIDA et al., 1999).

A dor neuropática também pode ocorrer em consequência do tratamento do câncer. O uso de agentes quimioterápicos é freqüentemente acompanhado pelo desenvolvimento de dor neuropática. Um modelo de dor neuropática associada com quimioterapia foi desenvolvido após o tratamento repetido por administração intravenosa de vincristina. Este tratamento resulta em hipersensibilidade para estímulos térmicos (hiperalgesia) e mecânicos (alodinia) em ratos (ALEY et al., 1996; TANNER et al., 1998). Além disso, no modelo de neuropatia induzida por vincristina, as fibras C são hiperresponsivas à estimulação nociva (TANNER et al., 1998).

Embora muitos destes modelos sejam de grande valor para a análise experimental dos mecanismos patológicos no próprio nervo, devido a

complexidade da dor neuropática, poucos deles parecem produzir desordens com sensação nociceptiva semelhante às observadas nas neuropatias periféricas em humanos (BESSON, 1999). Por essa razão, apesar de existirem na literatura vários modelos para o estudo da nocicepção neuropática persistente, o desenvolvimento de novos modelos que permitam avaliar as alterações nociceptivas associadas com as lesões nervosas ainda são necessários.

A lesão por tração do plexo braquial com avulsão de raízes nervosas é um evento comum em humanos que pode levar a importantes alterações patológicas que são responsáveis pela indução das sensações dolorosas e estabelecimento de dor neuropática (CARVALHO et al., 1997). Este tipo de lesão não se reproduz nos modelos experimentais existentes atualmente.

A dor por deaferentação é uma das mais significantes razões de incapacidade nos pacientes que sofrem avulsão do plexo braquial. Wynn Parry observou que 98 dos 108 pacientes, que apresentavam avulsão das raízes do plexo braquial, referiam dor significativa durante o período pós-traumático (WYNN PARRY, 1980). A lesão do plexo braquial é causada pela avulsão da raiz medular, que produz dor característica constante, intermitente e freqüentemente intratável (BERMAN et al., 1998; ANAND e BIRCH, 2002). A dor geralmente localiza-se na projeção do ombro e região supraescapular com irradiação para o membro superior ipsilateral, dependendo da intensidade e da região do plexo lesado. Pode ser idiopática, de caráter familiar, ou induzida por certas posições do membro superior, além de compressões, traumas e procedimentos anestésicos ou pós-radioterapia.

Acidentes de motocicleta constituem a causa mais comum de lesão do plexo braquial, seguido de acidentes automobilísticos e atropelamentos (GARCIA-MARCH et al., 1987; MOSSY e NASHOLD, 1988; WAIKAKUL et al., 2000). Há predomínio de pacientes do sexo masculino e com idade inferior a 35 anos, o que é justificado pelo fato desses indivíduos participarem de atividades mais freqüentemente associadas com acidentes graves (WYNN PARRY, 1970; WAIKAKUL et al., 2000).

Acompanha-se de distúrbios da sensibilidade superficial como parestesias e déficits motores associados a alterações dos reflexos miotáticos. Exaustão física, assim como situações de ansiedade e depressão, costumam agravar o desconforto. Na casuística de Wynn Parry, o início da dor ocorreu imediatamente após o traumatismo em 60% dos pacientes e nos demais, nas primeiras 12 semanas. Além disso, a presença de zonas de gatilho distantes da área deaferentada, no hemicorpo ipsi ou contralateral, também foi descrita (WYNN PARRY, 1984).

O tratamento dos pacientes com avulsão do plexo braquial, freqüentemente é insatisfatório (WYNN PARRY, 1970). O emprego de técnicas de reabilitação física, interações psicossociais, terapia ocupacional, psicoterapia e o retorno precoce às atividades habituais são importantes e, aparentemente, melhoram o rendimento funcional e o ajuste psicossocial podendo reduzir a freqüência de dor crônica. A dor, quando presente, comumente é resistente às drogas analgésicas disponíveis no mercado.

Desta forma, dada a complexidade fisiopatológica da dor neuropática induzida pela avulsão do plexo braquial associada a ausência de um modelo

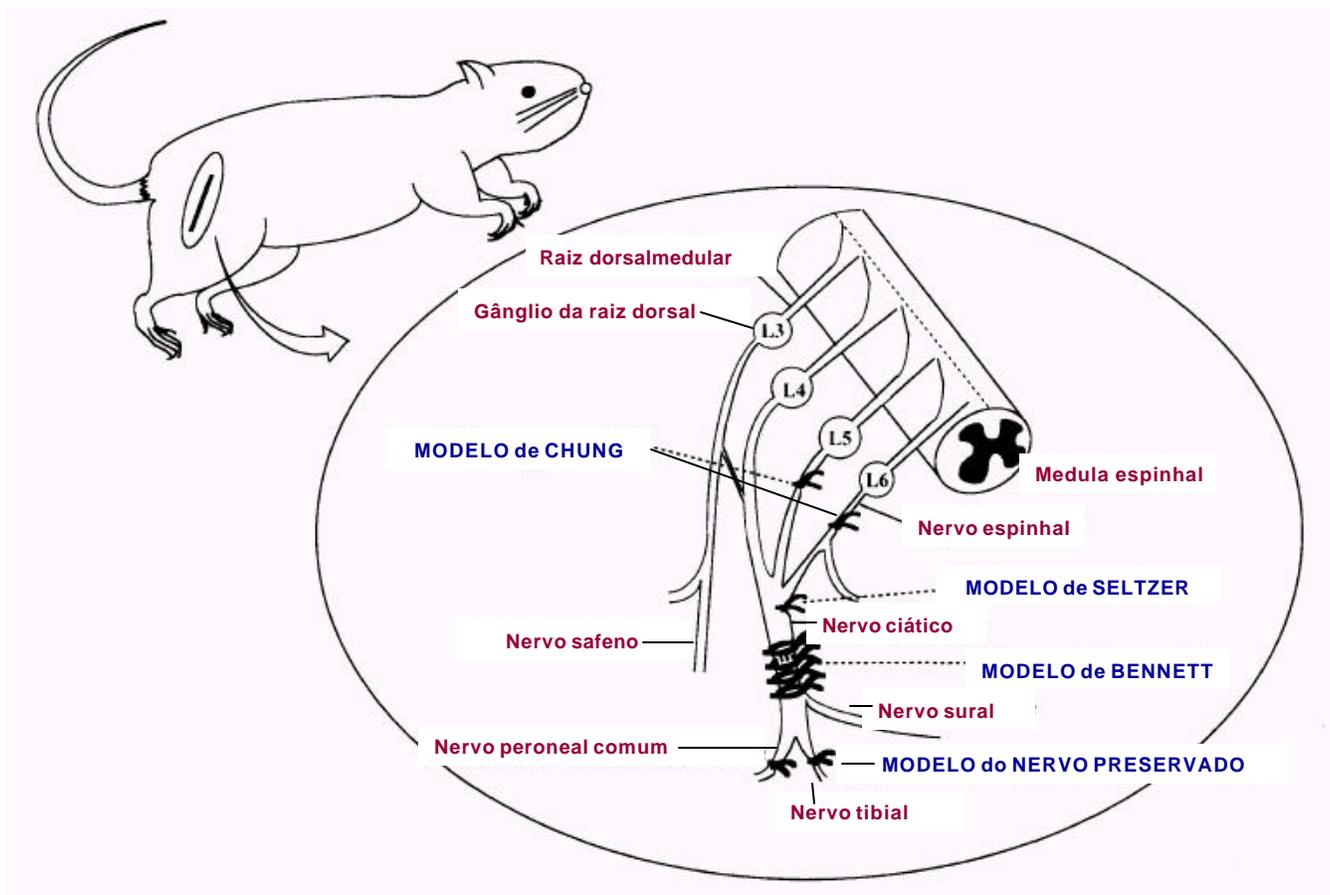
animal adequado, o presente trabalho se propõe a caracterizar um modelo para o estudo da dor neuropática induzida pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial em ratos.

Tabela 1: Principais modelos animais disponíveis para o estudo da dor neuropática

Tipo de Lesão	Modelo	Comportamento de Dor	Extensão da Deafferentação
Lesão traumática	Transecção do nervo ciático	Autotomia	Completa
	Lesão por constrição crônica	Alodinia ao frio Hiperalgisia térmica	Extensa
	Ligação parcial do nervo ciático	Alodinia tátil Hiperalgisia térmica	Moderada
	Ligação de nervo espinhal	Alodinia tátil Hiperalgisia térmica	Moderada
	Lesão preservada do nervo	Alodinia tátil Hiperalgisia mecânica Alodinia ao frio	Moderada
Metabólica	Estreptozotocina	Alodinia tátil Hiperalgisia térmica Hipoalgisia térmica	Nenhuma
Quimioterapia	Vincristina	Alodinia tátil Hiperalgisia térmica	Nenhuma

Adaptado de Sah et al., 2003

disparar espontaneamente (sensibilização central) através do receptor NMDA. A excitação do neurônio de segunda ordem leva ao aumento de cálcio intracelular e ativação de proteínas quinases que fosforilam proteínas intracelulares tais como receptores NMDA. A dinorfina, um neuropeptídeo opióide cujos níveis estão elevados nas síndromes de dor crônica, podem também contribuir para a excitação ectópica dos neurônios de segunda ordem através da ativação dos receptores NMDA. Existe uma perda da inibição dos neurônios de segunda ordem pela redução de estímulos provenientes do ácido gama amino butirico (GABA) através da baixa regulação dos receptores GABA_A. O brotamento de terminais centrais de neurônios não nociceptivos no gânglio da raiz dorsal (neurônios A β) expressam substâncias nociceptivas no corno dorsal, contribuindo para hiperalgesia e alodinia mecânica.



Adaptado de Ueda e Inoue, 2001

Figura 2: Representação esquemática de diferentes lesões do nervo ciático

2. HIPÓTESE

A avulsão do plexo braquial é um trauma comum causado pela lesão da raiz medular, e que produz dor constante, intermitente e freqüentemente intratável. Como este tipo de lesão não é reproduzível nos modelos animais existentes atualmente, gerou-se a hipótese de desenvolver um modelo capaz de reproduzir alguns desses sintomas em ratos.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O presente trabalho teve como principal objetivo desenvolver e caracterizar um novo modelo para o estudo da dor neuropática após a lesão do tronco inferior do plexo braquial em ratos e avaliar a sensibilidade deste modelo a diferentes classes de drogas analgésicas disponíveis clinicamente.

3.2 Objetivos específicos

1- Comparar por meio de diferentes testes comportamentais as respostas nociceptivas obtidas após as lesões por avulsão, ligadura ou constrição do tronco inferior do plexo braquial de rato.

- 2- Caracterizar a avulsão do tronco inferior do plexo braquial como um novo modelo de estudo para a dor neuropática crônica.
- 3- Estudar a sensibilidade farmacológica do modelo de dor neuropática induzida pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial utilizando diferentes classes de drogas empregadas ou não na clínica, para o tratamento de pacientes com neuropatias.
- 4- Avaliar a participação de citocinas no modelo de avulsão do tronco inferior do plexo braquial.
- 5- Investigar o envolvimento de alguns fatores de crescimento neste modelo experimental de dor neuropática.
- 6- Determinar o possível envolvimento de fibras sensíveis a capsaicina na alodinia e hiperalgesia induzidas pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais

Foram utilizados ratos Wistar machos pesando entre 200 e 300 gramas, (entre 2 e 3 meses de idade, n=8 por grupo, exceto para os fatores de crescimento neural, n=4 por grupo) obtidos do biotério central da Universidade Federal de Santa Catarina. Os animais foram mantidos em câmaras com umidade (60-80%) e temperatura controladas (22 ± 2 °C), com ciclo claro-escuro de 12 horas (luz após as 7:00 horas) e com livre acesso a água e comida, exceto durante as sessões de teste.

Antes do início de cada sessão experimental, realizada sempre entre 8 e 17 horas, os animais foram aclimatizados no laboratório, por um período de pelo menos 1 hora. Todos os procedimentos usados no presente estudo foram conduzidos de acordo com as orientações éticas da Associação Internacional para Estudo da Dor (ZIMMERMANN, 1983). Além disso, todos os esforços foram feitos para minimizar o sofrimento dos animais e usar somente o número necessário de animais para produzir dados científicos confiáveis.

4.2 Anatomia do Plexo Braquial

O plexo braquial de rato é bastante semelhante ao plexo braquial humano. Ele é formado pelos feixes anteriores de C5 a T1. A união de C5 e C6 forma o tronco superior, enquanto que feixe C7 dá origem ao tronco médio. Os feixes C8 e T1 se combinam para formar o tronco inferior (Figura 3), que é

amplamente responsável pelos movimentos e sensibilidade das patas anteriores (BERTELLI et al., 1995b). Todos os experimentos foram realizados no tronco inferior do plexo braquial, intimamente relacionado com vasos subclávios. Em um estudo piloto, todo o plexo braquial dos ratos (n=10) foi extraído da medula espinhal. Ao final da primeira semana, todos os animais desenvolveram autotomia do membro superior relacionado. Em outro grupo de experimentos, somente o tronco inferior do plexo braquial foi lesado e nenhuma autotomia foi observada. Assim, este modelo de lesão parcial do plexo braquial (lesão do tronco inferior) foi adotado para realização do presente estudo.

C5 = Quinta raiz cervical

T1 = Primeira raiz torácica

C6 = Sexta raiz cervical

C7 = Sétima raiz cervical

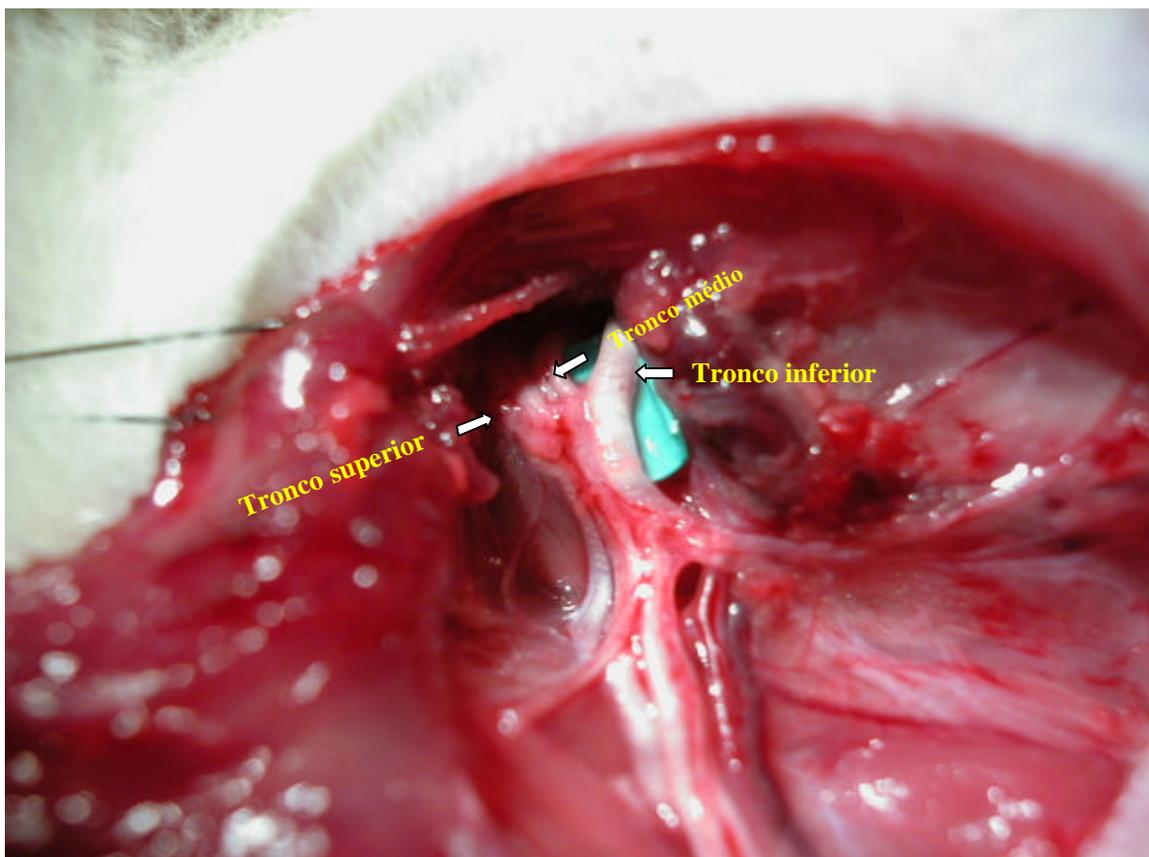


Figura 3: Anatomia do plexo braquial do rato

4.3 Procedimento Cirúrgico

Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados usando técnica asséptica, sob anestesia profunda, induzida pela injeção i.p. de solução de hidrato de cloral a 7% (0,6 ml/100 gramas de peso corporal). O plexo braquial foi identificado por uma incisão horizontal paralela a clavícula, que se estendeu do esterno até a região axilar. Após exposição, o músculo peitoral maior foi cortado com uma tesoura cirúrgica e afastado mantendo-se intacta a veia cefálica. Os vasos subclávios foram localizados, preservados e o tronco inferior do plexo braquial foi dissecado até a medula espinhal. Do ponto anatômico onde o plexo braquial se divide nos troncos superior, médio e inferior até as respectivas raízes medulares temos um comprimento que varia entre 1 e 1,5 cm. Para produzir a lesão do tipo constrição, em um grupo de ratos o tronco inferior foi esmagado no mesmo local por 3 vezes com duração de 5 segundos cada, usando um fórceps microcirúrgico (Figura 4 F). Ao final deste procedimento o nervo apresentou-se esmagado e transparente. Para a lesão do tipo ligadura em outro grupo de animais o tronco inferior foi ligado em apenas um local usando-se um fio de sutura (4.0 Ethicon, Edinburgh), que diminuiu o lúmen deste tronco a um diâmetro inferior ao original (Figura 4 E) (HOWE et al., 1977; BENNETT e XIE, 1988). Para produzir a lesão do tipo avulsão, em um terceiro grupo de animais, o tronco inferior do plexo foi pinçado com um fórceps e extraído da medula espinhal por tração (Figura 4 C e D). Neste tipo de lesão utilizamos uma força mecânica suficiente para que o tronco inferior seja arrancado juntamente com o gânglio da raiz dorsal. No grupo falso operado, o plexo braquial foi exposto e o tronco inferior dissecado sem

nenhuma lesão aos nervos. Em seguida, as camadas de tecido foram reposicionadas e a pele suturada com fio de sutura 4.0.

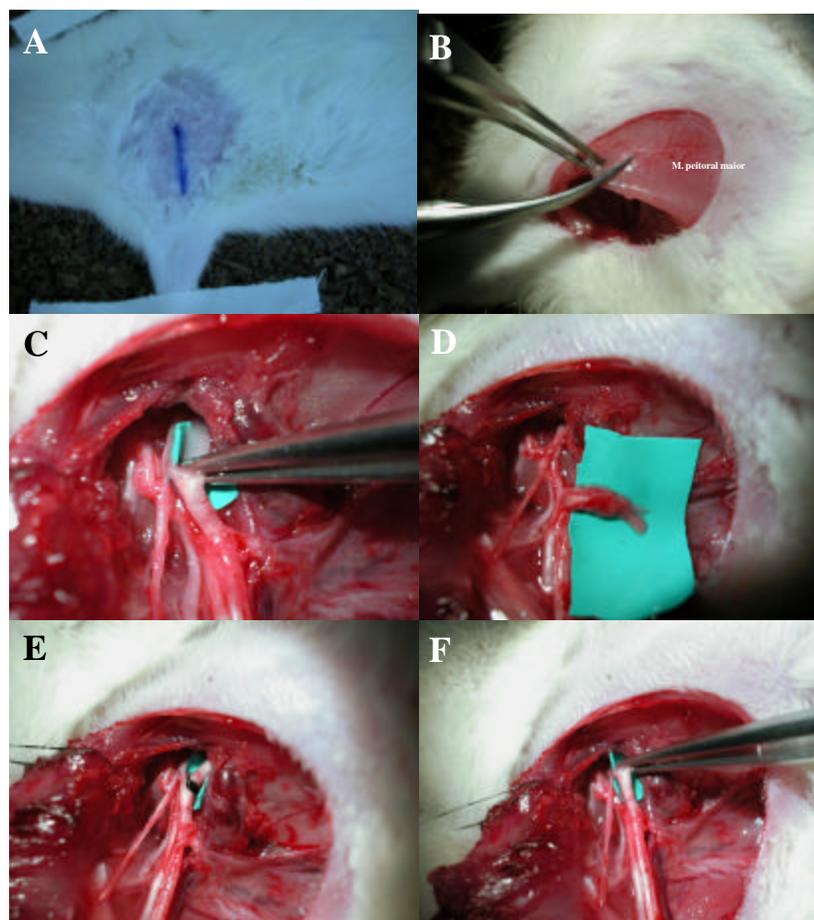


Figura 4: Esquema representativo mostrando as lesões cirúrgicas do tronco inferior do plexo braquial do rato: A) região da incisão; B) incisão do músculo peitoral maior; C) tração; D) avulsão do tronco inferior de suas raízes medulares; E) ligadura e F) constrição.

4.4 Aparelhos e Procedimentos

4.4.1 Medida da Hiperálgia Mecânica

O limiar mecânico doloroso foi avaliado com o emprego de um analgesiômetro (Ugo Basile, Itália) e expresso em gramas de acordo com o método descrito por Randall e Selitto (1957). Foi aplicada uma pressão que aumenta linearmente através de um cone sobre a superfície dorsal de cada pata traseira até a sua retirada (Figura 5). O valor registrado foi considerado como o limiar de retirada da pata ao estímulo mecânico e expresso como carga suportada (g). Este estímulo foi aplicado entre o terceiro e o quarto metatarso. Antes da sessão experimental, os animais foram treinados no aparelho por 3 dias consecutivos para reduzir a variabilidade das medidas (TAIWO et al., 1989).

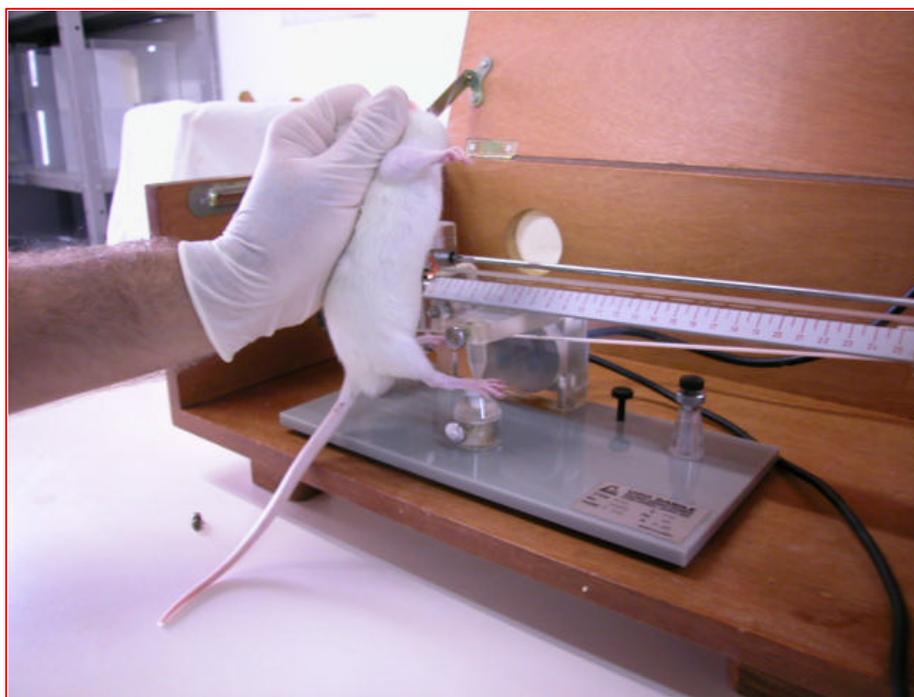


Figura 5: Medida da hiperálgia mecânica (método de Randall e Selitto)

4.4.2 Medida da Hiperalgisia Térmica

A hiperalgisia térmica foi avaliada por meio da latência de retirada da pata como descrito previamente (HARGREAVES et al., 1988). Os ratos foram colocados individualmente em um compartimento acrílico posicionado sobre uma plataforma de acrílico transparente, elevada em cerca de 15 cm (Plantar Test, Ugo Basile, Italia). Após 15 minutos de adaptação ao ambiente de teste, um feixe de calor radiante (lâmpada halógena de 50 W com intensidade controlada por uma fonte de voltagem constante), foi direcionada sobre a superfície plantar de cada pata traseira (Figura 6). Normalmente os animais reagem ao estímulo térmico (feixe luminoso) retirando a sua pata do contato com a luz. Ambas as patas foram testadas com intervalo de 1 a 2 minutos entre cada medida. O tempo máximo de cada exposição foi de 40 segundos para evitar danos teciduais. O tempo para retirada da pata foi considerado como índice de nocicepção (MALAN et al., 2000; MILLIGAN et al., 2000, 2001).

Para confirmar os resultados do teste de Hargreaves, foi utilizado o teste de retirada da pata (“paw-flick”), um ensaio modificado do teste de retirada da cauda (“tail-flick”), que possibilita medir em segundos (s) o tempo de reação dos animais expostos a um feixe de luz (90 W). Após contenção, cada animal foi posicionado de maneira que a superfície plantar de cada pata traseira foi individualmente colocada sobre o feixe luminoso, com um tempo de exposição máximo de 30 segundos para prevenir danos teciduais. O reflexo de retirada da pata traseira exposta a luz interrompe a fotocélula e também a contagem do tempo. O valor registrado neste momento foi considerado como índice de nocicepção (LASHBROOK et al., 1999).

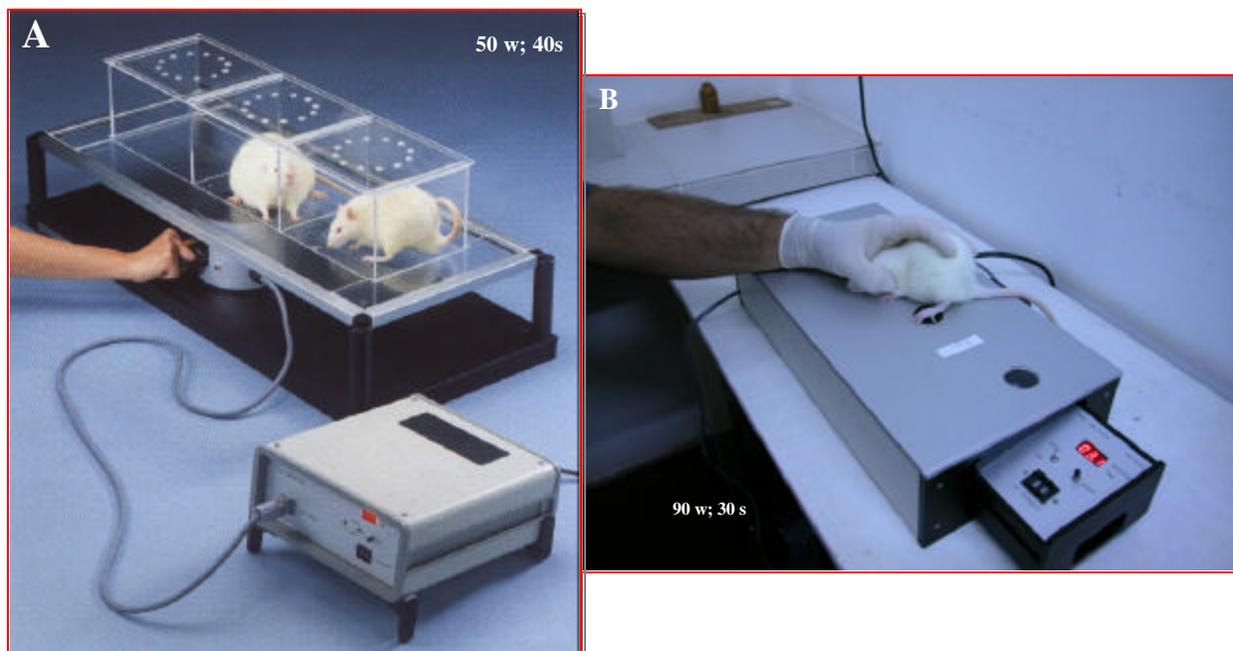


Figura 6: Medida da hiperalgesia térmica ao calor (Testes de Hargreaves [A]) e “paw-flick” [B]).

4.4.3 Medida da Alodinia Mecânica

A sensibilidade tátil foi avaliada através da aplicação de um estímulo representado por uma pressão leve e constante, necessária para determinar a retirada da pata traseira. Os ratos foram colocados sobre uma plataforma metálica perfurada (célula de 0,8 x 0,8 cm), elevada 30 cm da superfície, sobre a qual foi adaptada uma caixa acrílica transparente (8 x 8 x 18 cm) dividida em três compartimentos iguais. Os animais foram adaptados individualmente por aproximadamente 15 minutos, até cessar a atividade exploratória (Figura 7). Durante o período de teste, a elevação da pata devido a atividade locomotora normal foi ignorada. A frequência de retirada para o estímulo mecânico foi

avaliada usando um grupo de filamentos calibrados de von Frey (Stoelting, Chicago, EUA). Estudos preliminares realizados em nosso laboratório mostraram que o filamento de von Frey de 2 g praticamente não produz resposta de retirada da pata em animais normais, o que foi considerado como adequado para avaliar alodinia mecânica. O monofilamento foi aplicado 5 vezes com intervalos de 1 a 4 segundos, em diferentes regiões da superfície plantar de ambas as patas traseiras. A resposta de retirada foi considerada válida apenas quando a pata traseira foi completamente retirada do contato com a plataforma (ALEY e LEVINE, 2002; ERICHSEN e BLACKBURN-MUNRO, 2002).



Figura 7: Medida da alodinia mecânica com o uso do filamento de von Frey (2g)

4.4.4 Medida da Alodinia ao Frio

Para avaliação da alodinia ao frio, os animais foram colocados sobre uma plataforma metálica perfurada (célula de 0,8 x 0,8 cm) sobre a qual foi adaptada uma caixa acrílica transparente (8 x 8 x 18 cm), dividida em três compartimentos iguais e elevada 30 cm da superfície. Os animais foram adaptados individualmente por aproximadamente 15 minutos até cessar a atividade exploratória. A alodinia ao frio foi medida com a utilização da acetona como descrito por Choi et al. (1994). Com o auxílio de uma seringa, 250 µl de acetona foram aplicados sobre a parte central da superfície plantar de cada pata traseira (Figura 8). Neste teste, os ratos controle ignoram o estímulo ou respondem ocasionalmente com uma retirada breve e de pequena intensidade. Entretanto, os ratos com neuropatia responderam freqüentemente com forte retirada das patas, que é claramente exagerada em amplitude e duração. A resposta de retirada foi avaliada com auxílio de uma escala de 0 a 3 pontos após aplicação única de acetona: (a) nenhuma resposta, 0 pontos, caracterizada pela ausência de movimentação da pata; (b) resposta leve, 1 ponto, onde o rato expressa resposta na qual a pata tem pouco ou nenhum peso sobre ela; (c) resposta moderada, 2 pontos, se caracteriza pela pata elevada que não entra em contato com a superfície; (d) resposta acentuada, 3 pontos, uma resposta na qual o rato lambe, morde ou bate a pata (SHIMIZU et al., 2000).



Figura 8: Medida da alodinia ao frio avaliada pelo teste da acetona

4.4.5 Avaliação da Atividade Funcional das Patas Anteriores

As lesões do tronco inferior do plexo braquial causam paralisia do membro lesado que pode ser temporária ou permanente dependendo do tipo de lesão. Para esta avaliação ser feita em ratos, uma grade de arame medindo 8 x 14 cm (diâmetro do arame: 1,5 cm) foi conectada a uma balança eletrônica por meio de 4 cabos de 15 cm de comprimento. Um peso de 500 a 800 g foi colocado sobre o prato da balança. Os ratos foram suspensos pela cauda e aproximados da balança até que conseguissem agarrar a grade metálica com as duas patas anteriores, quando então foram puxados para cima até soltarem a grade (Figura 9). O valor registrado pela balança no momento preciso em que o animal soltou a

grade foi anotado e a força de apreensão foi calculada (500g menos o valor registrado). Este procedimento foi repetido 3 vezes registrando-se a melhor performance. Para evitar falsas medidas devido a flexão dos pulsos, a situação dos 4 dedos agarrando o centro da grade foi considerado como posicionamento correto do animal no aparato (BERTELLI et al., 1993; 1995a).



Figura 9: Avaliação da capacidade de apreensão das patas anteriores (“Grasping test”)

4.4.6 Teste de Atividade Locomotora

A influência do procedimento cirúrgico sobre a atividade locomotora dos animais foi avaliada pelo uso do teste do campo aberto (“open-field”). O aparelho

consiste de uma arena pintada de branco medindo 32,5 cm de altura e 97 cm de diâmetro. O chão da arena é dividido em 19 unidades por linhas pretas, e iluminadas de cima por duas lâmpadas de cor vermelha (40 W). A frequência de linhas cruzadas com as quatro patas (índice de locomoção) foi registrada durante 5 minutos (Figura 10). Na fase de caracterização do modelo, a atividade locomotora dos ratos controle, falso operados ou operados (avulsão, ligadura e constrição) foi medido apenas no quinto dia após a lesão do plexo braquial (ZANINI e TAKAHASHI, 1994). Entretanto, durante a caracterização farmacológica, os animais tratados com drogas depressoras do sistema nervoso central, quando administradas agudamente, foram avaliados no teste do campo aberto 20 dias após a cirurgia.



Figura 10: Medida da atividade locomotora dos animais avaliadas no teste do campo aberto.

4.5 Protocolos Experimentais

4.5.1 Protocolo Experimental 1: Caracterização do modelo

Para a caracterização do modelo experimental foram usados os seguintes grupos experimentais: controle, falso operado, avulsão, ligadura e constrição do tronco inferior do plexo braquial. As cirurgias foram realizadas no plexo braquial da pata dianteira direita. Num estágio inicial do nosso estudo, as observações comportamentais foram feitas em ambas as patas traseiras (5, 20, 30, 90, 120, 165 e 330 dias após) para análise de pontos de gatilho distantes do local da lesão, como pode ser observado após a lesão do plexo braquial em humanos (WYNN PARRY, 1980, 1984). Para tal foi utilizado o método descrito por Randall e Selitto para avaliação da hiperalgesia mecânica. Após o período de 330 dias os animais foram sacrificados. Como os animais do grupo avulsão desenvolveram hiperalgesia mecânica significativa em ambas as patas traseiras durante todo o período de avaliação, os intervalos de avaliação foram fixados nos dias 5, 20, 30 e 90 após a cirurgia. Foram ainda utilizados outros procedimentos experimentais com o objetivo de avaliar além da hiperalgesia mecânica, também a hiperalgesia térmica (calor), a alodinia mecânica e térmica (frio), a movimentação espontânea e a capacidade de apreensão das patas anteriores. Nos intervalos de tempo descritos acima cada animal foi submetido seqüencialmente aos diferentes testes. Como as lesões do tronco inferior do plexo braquial determinam perda temporária ou definitiva dos movimentos e da sensibilidade da pata lesada dificultando registros nas patas anteriores, todos os testes nociceptivos foram realizados nas patas traseiras. Além disso, para os testes de Randall e Selitto e da acetona

medidas nas patas anteriores são difíceis de serem realizadas devido ao posicionamento do animal no aparato ou pela proximidade do focinho do animal. Após 90 dias, os animais foram sacrificados.

4.5.2 Protocolo Experimental 2: Influência do tratamento neonatal com capsaïcina

Para avaliar o possível envolvimento das fibras C sensíveis a capsaïcina neste modelo experimental, ratos neonatos (2 dias de idade) receberam injeção subcutânea de veículo (10% de etanol + 10% de Tween 80 + 20% de salina) ou o mesmo veículo mais capsaïcina (50 mg/kg de peso). Ao completarem dois meses, estes ratos foram divididos em grupos controle, falso operado e submetidos a avulsão do tronco inferior do plexo braquial, cujo procedimento cirúrgico já foi descrito anteriormente (n=8 em cada grupo). No período compreendido entre 20 e 40 dias após a cirurgia, os animais foram avaliados nos testes de Randall e Selitto, acetona e von Frey como descrito anteriormente.

4.5.3 Protocolo Experimental 3: Estudo farmacológico

Para o estudo farmacológico foram utilizados os grupos controle, falso operados e animais submetidos a avulsão do tronco inferior do plexo braquial. Com base na avaliação das respostas obtidas durante a fase de caracterização do modelo e tempo de reparação da ferida cirúrgica, objetivando facilitar as medidas comportamentais, optou-se por avaliações entre 20 e 40 dias após o procedimento cirúrgico, com o emprego do método de Randall e Selitto e do teste da acetona.

Nestes grupos foram registradas as medidas basais seguida de novas avaliações após a administração de salina ou de cada droga. Como o mesmo animal de cada grupo passou por 3 períodos de avaliação, as medidas basais, após salina e após tratamento foram feitas em dias distintos separados por um intervalo de aproximadamente 5 dias.

- No **tratamento agudo**, as drogas foram administradas da seguinte forma: morfina (5 mg/Kg) foi injetada por via subcutânea 30 minutos antes; cetamina (25 mg/Kg), diclofenaco (100 mg/Kg), donidina (300 µg/Kg), L-NAME (150 mg/Kg), dipirona (180 mg/kg), imipramina (10 mg/kg), lidocaína (40 mg/kg), adenosina (100 mg/kg) e diacereina (100 mg/kg) foram administrados por via i.p. 30 minutos antes; dexametasona (1,5 mg/kg) foi administrada por via i.p. 120 minutos antes; celecoxib (10 mg/kg) e gabapentina (70 mg/kg), foram administrados por via oral, 60 minutos antes. Uma solução de salina 0.9% foi administrada pela mesma via e no mesmo tempo de cada droga e foi utilizada como controle. Após o término dos procedimentos os animais foram sacrificados.

- No **tratamento repetido**, a dipirona (180 mg/kg) foi administrada por via i.p. duas vezes ao dia por 3 dias consecutivos e no dia do teste uma outra dose foi administrada 30 minutos antes. A gabapentina (70 mg/kg) foi administrada por via oral uma vez ao dia por 3 dias consecutivos e no dia do teste uma dose foi administrada uma hora antes. A imipramina (10 mg/kg) foi administrada por via i.p. durante uma semana e no dia do teste outra dose foi administrada 30 minutos antes. O diclofenaco (100 mg/kg) e a dexametasona (1,5 mg/kg) foram administrados por via i.p. uma vez ao dia por 2 dias e no último dia mais uma dose

foi administrada 30 ou 120 minutos antes, respectivamente. Após o término dos procedimentos os animais foram sacrificados.

4.5.4 Protocolo Experimental 4: Medida dos níveis de citocinas

Para medida dos níveis das citocinas IL-1 β , TNF α , IL-10 e IL-6, foi utilizada a metodologia previamente descrita por Francischi et al. (2000), com pequenas modificações. Após sedação prévia com éter os animais dos grupos controle, falso operado e submetidos a avulsão do tronco inferior do plexo braquial foram submetidos a perfusão com salina + EDTA 10 mM. Durante este procedimento os animais foram mortos e, em seguida, a medula espinhal foi retirada, lavada com a mesma solução e congelada a 70°C negativos. Posteriormente, as amostras foram colocadas em tampão fosfato, contendo: tween 20 a 0,5%, cloreto de benzametônio 0,1 mM, EDTA 10 mM, aprotinina A 2 μ g/ml, PMSF 0,1 mM e BSA 0,5%. Os tecidos foram homogeneizados e centrifugados a 6.900 rpm, por 10 min, a 4°C. O sobrenadante obtido foi utilizado para o ensaio. Os níveis das citocinas foram medidos através de kit de Elisa de acordo com as recomendações do fabricante (R & D Systems[®]). Os experimentos foram realizados em duplicata para 3 animais de cada grupo 5, 20 e 45 dias após o procedimento cirúrgico. As respostas foram expressas em pg/mg de tecido.

4.5.5 Protocolo Experimental 5: Participação dos fatores de crescimento neural

Para investigar o envolvimento dos fatores de crescimento neural com a hiperalgesia e a alodinia induzidas pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial do rato foram utilizados os grupos falso operado e os animais submetidos a avulsão do tronco inferior do plexo braquial. Cada grupo (n=4) recebeu no dia da cirurgia uma aplicação local de salina ou de um dos seguintes anticorpos: anti-NGF, anti-BDNF ou anti-GDNF (2µg/sítio num volume de 50 µl), na área da lesão. Entre 20 e 40 dias após a cirurgia e o respectivo tratamento, os animais foram submetidos aos testes de Randall e Selitto ou com acetona como descrito anteriormente. Após o término dos experimentos os animais foram sacrificados.

5. Drogas e Soluções

As drogas empregadas para caracterização farmacológica deste modelo foram as seguintes: sulfato de morfina, clonidina, diclofenaco, L-NAME (N^G -metil-L-arginine metil ester HCl), dipirona, adenosina, dexametasona, capsaïcina e CFA (SIGMA Chemical Company, St Louis, EUA), hidrocloreto de cetamina, hidrocloreto de lidocaína, hidrocloreto de imipramina (Research Biochemicals International, EUA), celecoxib (cápsulas de 200 mg, Celebra[®], SEARLE, Brasil), gabapentina cápsulas (Neurontin[®], PARKE-DAVIS, Brasil), diacereína (TRB-PHARMA, Brasil), anticorpos anti fator de crescimento do nervo (NGF), anti fator neuronal derivado do cérebro (BDNF) e anti fator neuronal derivado da glia

(GDNF) todos da (R & D Systems[®], EUA). Além destas drogas foi utilizada solução salina 0,9%.

Todas as drogas foram administradas em doses inferiores àquelas que produzem alteração motora em ratos controles. Morfina, clonidina, cetamina, celecoxib, L-NAME, gabapentina, diclofenaco, dipirona, imipramina, dexametasona, e lidocaína foram dissolvidas em salina estéril 0,9%. A adenosina e a diacereína foram homogeneizadas respectivamente com DMSO 5% e tween 80 5% e, em seguida, dissolvidas em salina 0,9% até completar o volume desejado. Os anticorpos para os fatores de crescimento anti-NGF, anti-BDNF e anti-GDNF foram dissolvidos em PBS. A solução de capsaïcina foi preparada com 10% de tween 80, 10% de etanol e o volume final completado com salina.

6. Análise Estatística

Para análise estatística das diferenças no limiar térmico (calor), mecânico e na atividade funcional das patas anteriores, utilizou-se ANOVA de duas vias com medidas repetidas, complementadas pelo teste de Student-Newman-Keuls. Estes dados foram apresentados como a média + erro padrão da média, em diferentes tempos após a lesão do tronco inferior do plexo braquial para os diferentes grupos experimentais. A análise de variância (ANOVA) de uma via foi utilizada para analisar a influência das lesões sobre a atividade locomotora. A alodinia ao frio foi apresentada como mediana com os seus respectivos intervalos interquartis. O teste de Mann-Whitney para dados não pareados foi utilizado para avaliar as

possíveis diferenças significativas. Para os controles positivos, feitos para os testes térmicos, utilizou-se o teste “t” de Student. Os níveis de citocinas foram determinados por meio de análise por regressão linear e posteriormente por ANOVA de uma via. O nível de significância aceito em todos os testes foi de $P < 0,05$.

7. RESULTADOS

7.1 Caracterização do modelo

7.1.1 Experimento 1: Efeito das lesões do tronco inferior do plexo braquial de rato sobre a hiperalgesia mecânica.

Este grupo de experimentos teve como objetivo investigar se as diferentes lesões realizadas no tronco inferior do plexo braquial seriam capazes de induzir hiperalgesia mecânica, bem como definir a característica temporal desta alteração. Inicialmente, não foi observada diferença significativa no limiar para estímulo mecânico entre os animais dos grupos controle e falso operado, demonstrando que o procedimento cirúrgico sem manipulação e/ou lesão concomitante do nervo não induziu qualquer alteração nociceptiva (Figura 11).

Comparando os três tipos de lesão cirúrgica (avulsão, ligadura e constrição) foi observado que a avulsão do tronco inferior do plexo braquial produziu diminuição acentuada no limiar mecânico caracterizado pela redução na carga necessária para induzir retirada da pata traseira, tanto da pata ipsilateral quanto da contralateral durante todo o período de avaliação (do 5° ao 90° dia) quando comparados aos grupos controle ou falso operado. A análise estatística dos dados mostrou diferenças significativas entre os grupos [$F_{9,70}=36,10$, $P<0,001$] (Figura 11). Observou-se ainda que as lesões por ligadura ou após a constrição do tronco inferior do plexo braquial produziram diminuição significativa no limiar mecânico de ambas as patas traseiras no 5°, 20° e 30° dias, retornando

aos valores basais 90 dias após a cirurgia (teste de Newman-Keuls, $P < 0,001$)

(Figura 11).

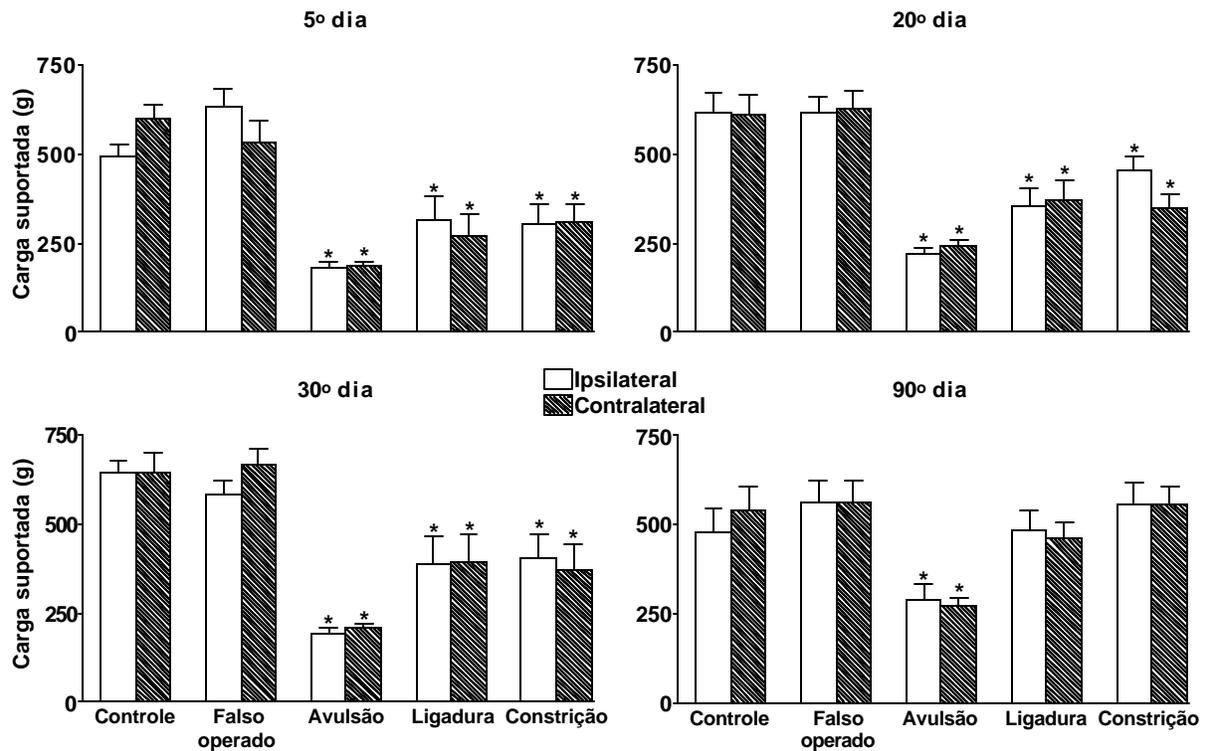


Figura 11: Carga suportada nas patas traseiras ipsilateral e contralateral avaliadas no teste de Randall e Selitto em ratos controle, falso operados, ou após avulsão, ligadura e constrição do tronco inferior do plexo braquial direito de ratos em diferentes intervalos de tempo. Os dados são expressos como a média + erro padrão da média de 8 animais em cada grupo. Os asteriscos indicam diminuição significativa na carga suportada em cada pata traseira. * $P < 0,05$ em relação aos grupos controle ou falso operados. Teste de Student Newman-Keuls.

7.1.2 Experimento 2: Efeito das lesões do tronco inferior do plexo braquial de rato sobre a hiperalgesia térmica.

Os resultados obtidos usando o método de Hargreaves estão apresentados na Figura 12. A análise estatística dos dados não revelou diferenças significantes entre os grupos analisados [$F_{9,70}=1,68$, $P<0,12$]. De modo semelhante, quando os animais foram avaliados no modelo do “paw-flick” (Figura. 13), nenhuma das lesões do tronco inferior do plexo braquial (avulsão, ligadura ou constrição) resultou em diferença estatisticamente significativa quando comparados com os resultados dos grupos controle ou falso operados [$F_{9,70}=8,11$, $P<0,07$]. Como controle positivo dos resultados obtidos nesses métodos, foram registradas as latências basais de retirada das patas traseiras de dois grupos ratos controle (n=8). Em seguida, os animais receberam injeção intraplantar de adjuvante completo de Freund (CFA, 150 μ l) na pata direita e 6 horas após foram novamente avaliados. Os resultados obtidos demonstraram que houve diminuição significativa ($P<0,05$) na latência de retirada da pata direita quando comparada com a pata esquerda em ambos os testes (Tabela 2).

Tabela 2: Efeito da administração de CFA (150 μ l/pata) sobre a latência de retirada (s) das patas traseiras de ratos controle submetidos aos testes do Hargreaves e “paw-flick”. Os valores são representados como a média + erro padrão da média de 8 animais em cada grupo. Os asteriscos indicam diminuição significativa no limiar de retirada da pata traseira direita quando comparada com a pata traseira esquerda após administração de CFA em cada procedimento. Teste “t” de Student. * $P < 0,05$. PD = pata direita; PE = pata esquerda

Hargreaves		“Paw-flick”	
	Basal	Após CFA	
PD	19,4 \pm 1,69	6,15 \pm 0,73 *	20,15 \pm 1,82
PE	20,94 \pm 2,01	20,07 \pm 1,58	1,27 \pm 0,04 *

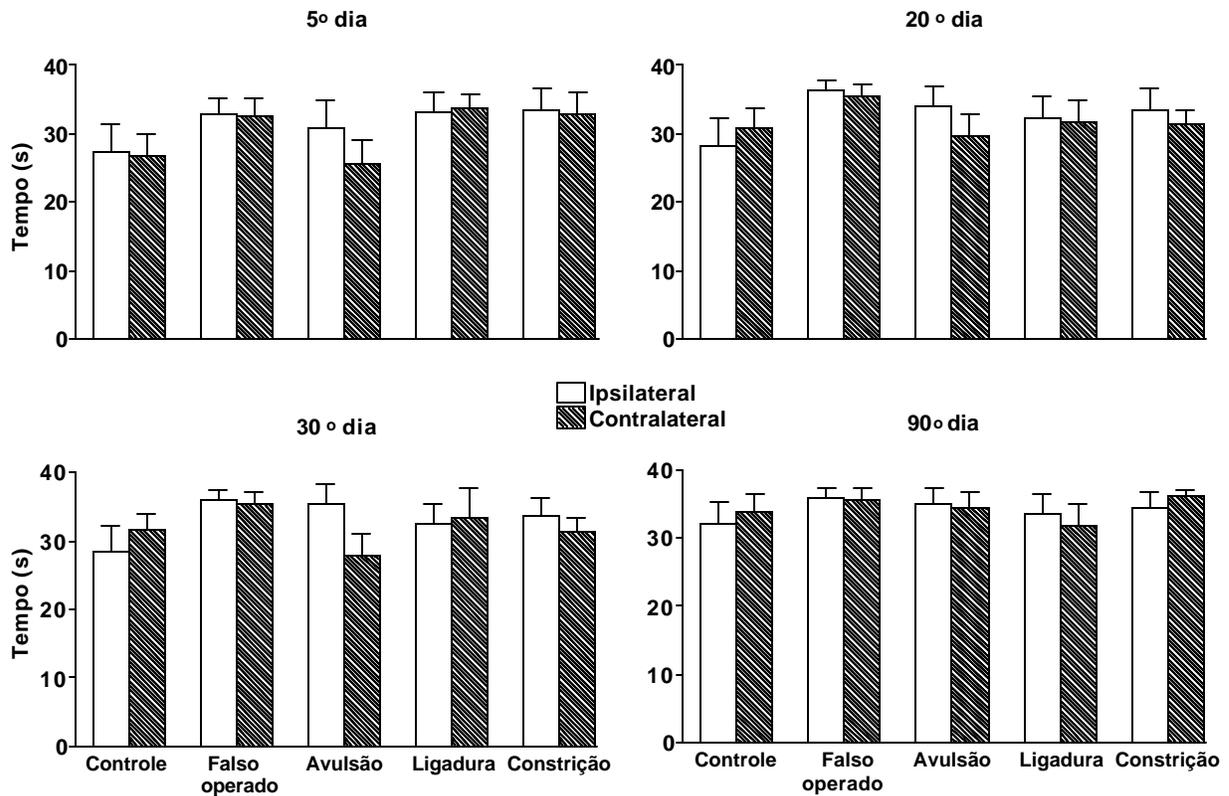


Figura 12: Latência de retirada das patas traseiras ipsilateral e contralateral avaliados no teste do Hargreaves em ratos controle, falso operados, ou após avulsão, ligadura ou constrição do tronco inferior do plexo braquial direito de ratos em diferentes intervalos de tempo. Os dados são expressos como a média + erro padrão da média de 8 animais em cada grupo. As diferenças entre os grupos foram analisadas por meio de ANOVA e comparados aos valores observados nos grupos controle ou falso operados.

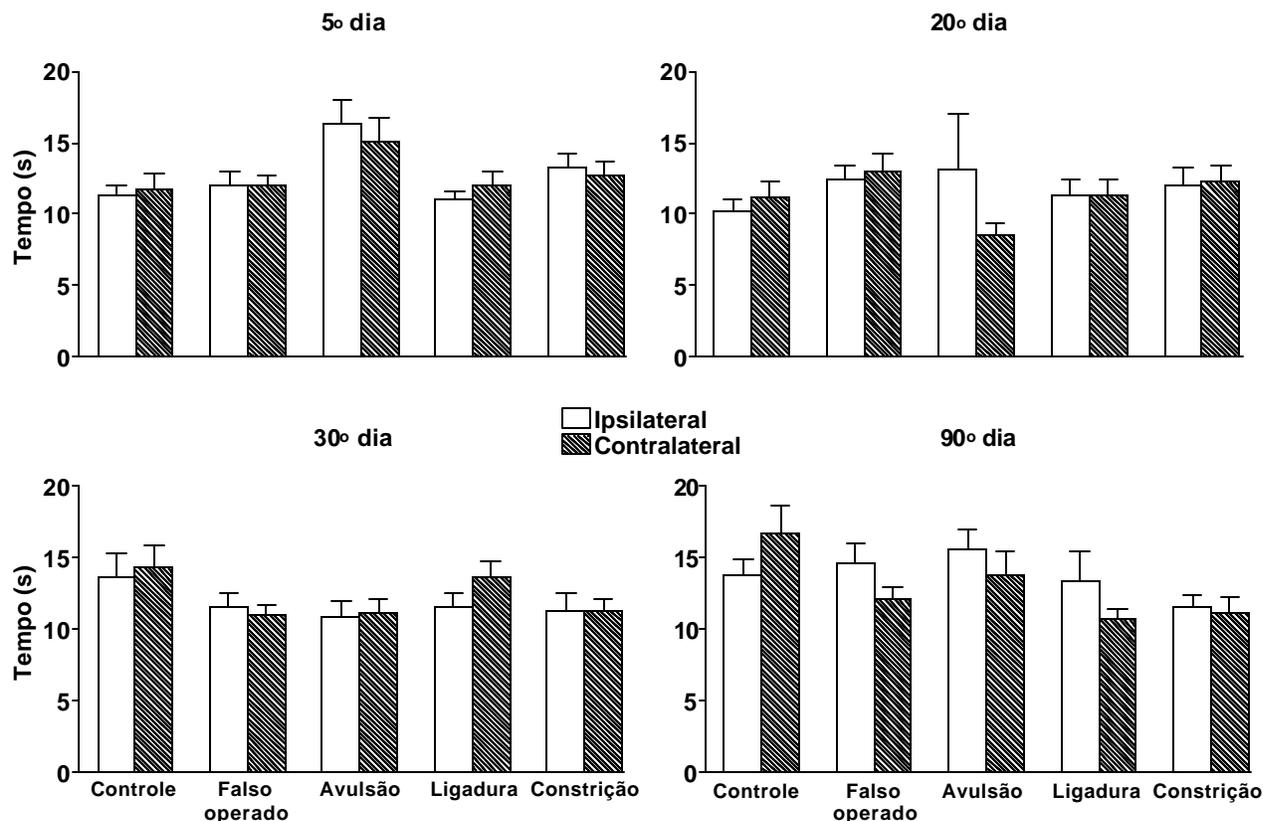


Figura 13: Latência de retirada das patas traseiras ipsilateral e contralateral avaliadas no teste do “paw-flick” em ratos controle, falso operados, ou após avulsão, ligadura ou constricção do tronco inferior do plexo braquial direito de ratos em diferentes intervalos de tempo. Os dados são expressos como a média + erro padrão da média de 8 animais em cada grupo. As diferenças entre os grupos foram analisadas por meio de ANOVA e comparados aos valores observados nos grupos controle ou falso operados.

7.1.3 Experimento 3: Efeito das lesões do tronco inferior do plexo braquial de rato sobre a alodinia mecânica.

A influência das diferentes lesões do tronco inferior do plexo braquial de rato sobre a alodinia mecânica foi avaliada pelo uso dos filamentos de von Frey. Os animais com avulsão do tronco inferior do plexo braquial apresentaram alodinia mecânica estatisticamente significativa, manifestada em ambas as patas traseiras

nos períodos de 20, 30 e 90 dias após a cirurgia, quando comparados com os resultados obtidos com os grupos controle ou falso operados [$F_{9,70}=9,70$, $P<0,001$]. Surpreendentemente, nenhuma alodinia mecânica foi observada nos animais submetidos a ligadura ou após constrição do tronco inferior do plexo braquial durante todo o período de avaliação (Figura 14).

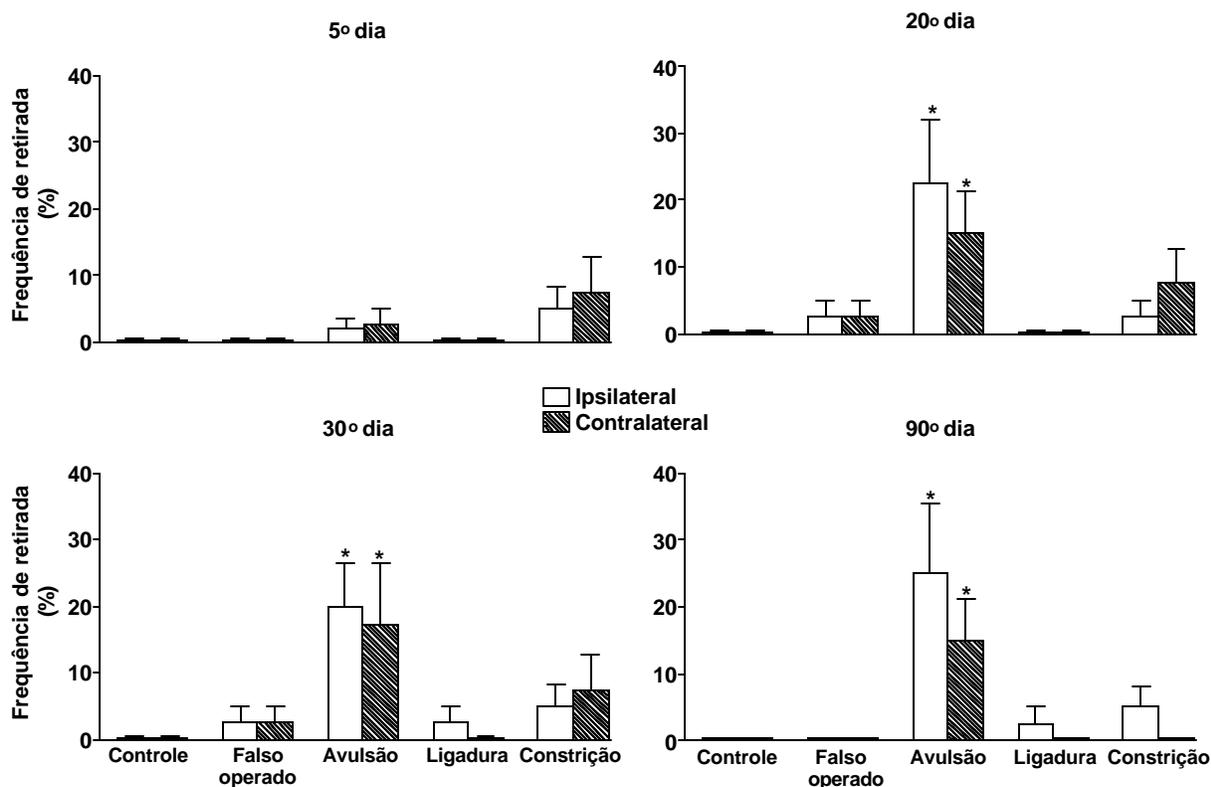


Figura. 14: Alterações da sensibilidade táctil das patas traseiras ipsilateral e contralateral avaliadas com o uso dos filamentos de von Frey (2 g) em ratos controle, falso operados, ou após avulsão, ligadura ou constrição do tronco inferior do plexo braquial direito de ratos em diferentes intervalos de tempo. Os dados são expressos como a média + erro padrão da média de 8 animais em cada grupo. Os asteriscos indicam uma diminuição significativa no limiar de retirada da pata. * $P < 0,05$ em relação aos grupos controle ou falso operados. Teste de Student-Newman-Keuls.

7.1.4 Experimento 4: Efeito das lesões do tronco inferior do plexo braquial de rato na alodinia ao frio.

Os efeitos das lesões do tronco inferior do plexo braquial sobre a sensibilidade ao frio estão representados na Figura 15. A análise destes dados revelou que a lesão por avulsão produziu alodinia marcante ao frio, efeito esse que foi de longa duração, em ambas as patas traseiras durante todo o período de avaliação (90 dias), quando os resultados obtidos foram comparados com aqueles dos grupos controle ou falso operados ($P < 0,05$). Porém, os ratos submetidos a constrição do tronco inferior do plexo braquial apresentaram alodinia ao frio 5, 20 e 30 dias após a cirurgia (Mann-Whitney U -test, $P < 0,05$), mas não 90 dias após o procedimento cirúrgico. Já nos animais com ligadura, a alodinia ao frio foi observada somente no 5º dia e muito discretamente na pata ipsilateral no 20º dia após a cirurgia (Mann-Whitney U -test, $P < 0,05$).

Para validar os resultados obtidos como alodinia ao frio e descartar a contribuição de um possível componente mecânico na aplicação da acetona, o mesmo protocolo foi realizado com água. Em um grupo de 8 ratos controle, a temperatura da superfície plantar de ambas as patas traseiras foi registrada. As médias observadas foram: pata direita = $28,9 \pm 2^\circ\text{C}$; pata esquerda = $28,7 \pm 2^\circ\text{C}$. Após adaptação dos animais ao ambiente de teste, 250 μl de água aquecida (28°C) foram aplicadas na superfície plantar de ambas as patas traseiras e nenhuma resposta foi observada (resultados não apresentados).

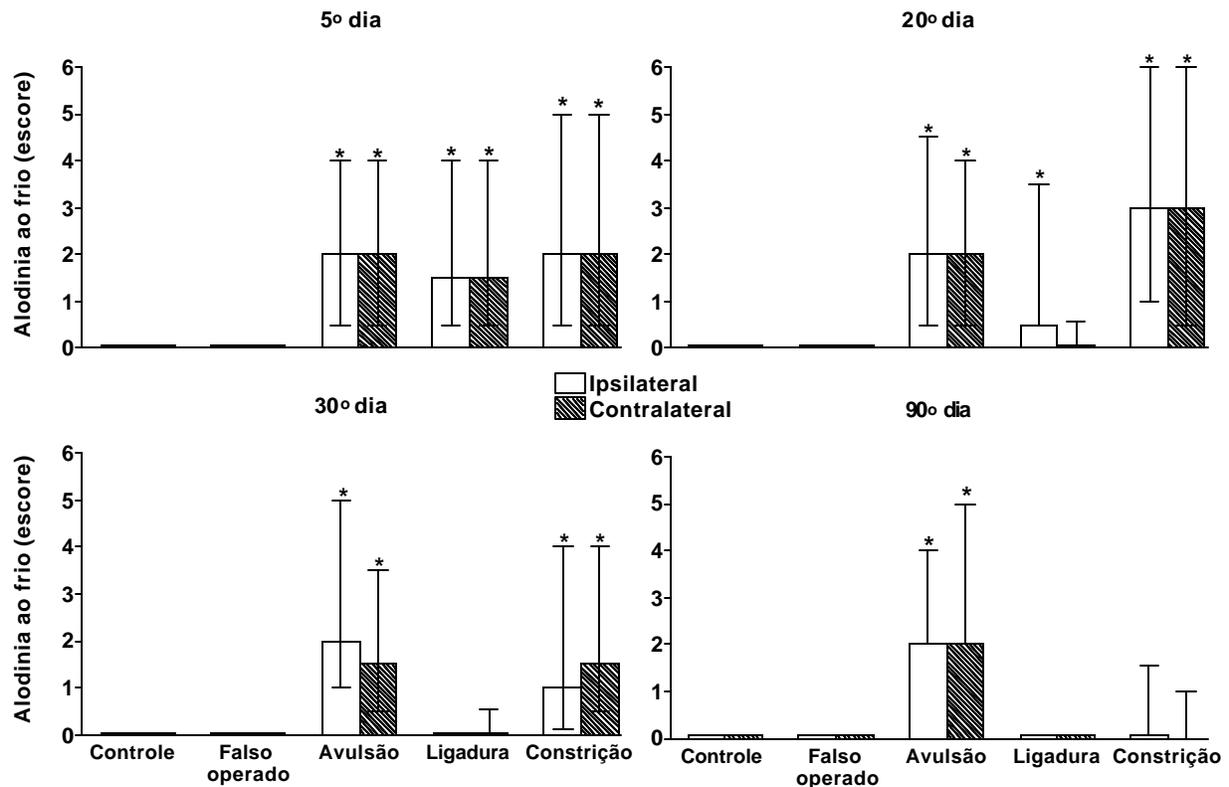


Figura. 15: Alterações da sensibilidade ao frio das patas traseiras ipsilateral e contralateral avaliadas com o uso do teste da acetona em ratos controle, falso operados, ou após avulsão, ligadura ou constrição do tronco inferior do plexo braquial direito de ratos em diferentes intervalos de tempo. As respostas de retirada da pata foram medidas por escores (0, nenhuma resposta; 1, resposta leve; 2, resposta moderada e 3, resposta acentuada). Os dados são expressos como a mediana com seus respectivos intervalos interquartis de 8 animais em cada grupo. Os asteriscos indicam uma diminuição significativa no limiar nociceptivo das patas. * $P < 0,05$ em relação aos grupos controle ou falso operados. Teste de Mann-Whitney.

7.1.5 Experimento 5: Efeito das lesões do tronco inferior do plexo braquial de rato sobre a atividade funcional das patas anteriores.

Este procedimento experimental teve como objetivo avaliar o prejuízo funcional das patas anteriores determinado pelas diferentes lesões do tronco inferior do plexo braquial. A análise estatística efetuada por meio de ANOVA de duas vias com medidas repetidas revelou diferenças significantes entre os grupos [$F_{4,35}=13,86$, $P<0,001$] (Figura 16). As comparações subseqüentes indicaram redução significativa da atividade funcional nas patas anteriores dos ratos (Newman-Keuls, $P<0,001$). Esta redução foi determinada principalmente pela perda de funcionalidade temporária ou definitiva da pata anterior direita (local de lesão do plexo). Observou-se ainda, que a partir de 20 dias após a cirurgia, os animais dos grupos ligadura e constrição começam a demonstrar sinais de recuperação da força de flexão dos dedos, sugerindo que somente a avulsão do tronco inferior do plexo braquial foi capaz de determinar diminuição acentuada e definitiva nesta função (Figura. 16).

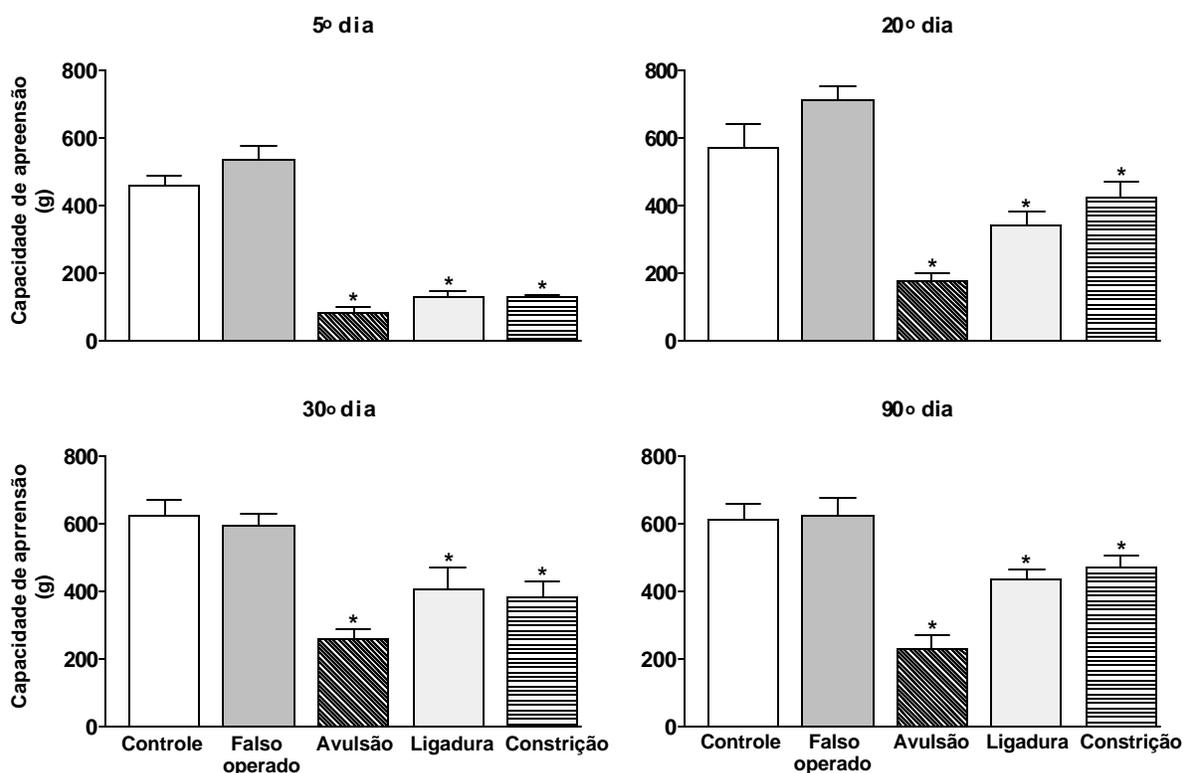


Figura 16: Atividade funcional das patas anteriores avaliadas com o uso do teste de apreensão (“grasping test”) em ratos controle, falso operados, ou após avulsão, ligadura ou constrição do tronco inferior do plexo braquial direito de ratos em diferentes intervalos de tempo. Os dados são expressos como a média + erro padrão da média de 8 animais em cada grupo. Os asteriscos indicam uma diminuição significativa da capacidade de apreensão das patas anteriores. * $P < 0,05$ em relação aos grupos controle ou falso operados. Teste de Student Newman-Keuls.

7.1.6 Experimento 6: Efeito das lesões do tronco inferior do plexo braquial de rato sobre a atividade locomotora.

Considerando que as lesões do tronco inferior do plexo braquial causaram hiperalgesia e alodinia das patas traseiras, além de prejuízo funcional das patas anteriores, o presente experimento teve como objetivo avaliar se estas alterações

poderiam modificar a atividade locomotora dos animais. Os resultados apresentados na Figura 17 demonstraram que 5 dias após a cirurgia, as lesões por avulsão, ligadura ou constrição não causaram mudanças significantes na atividade locomotora dos animais em comparação com os grupos controle e falso operados [$F_{4,35}=13,86$, $P<0,001$]. Foi possível dissociar também a atividade locomotora espontânea dos animais do estado hiperalgésico e alodínico, como também da paralisia temporária ou definitiva da pata anterior direita.

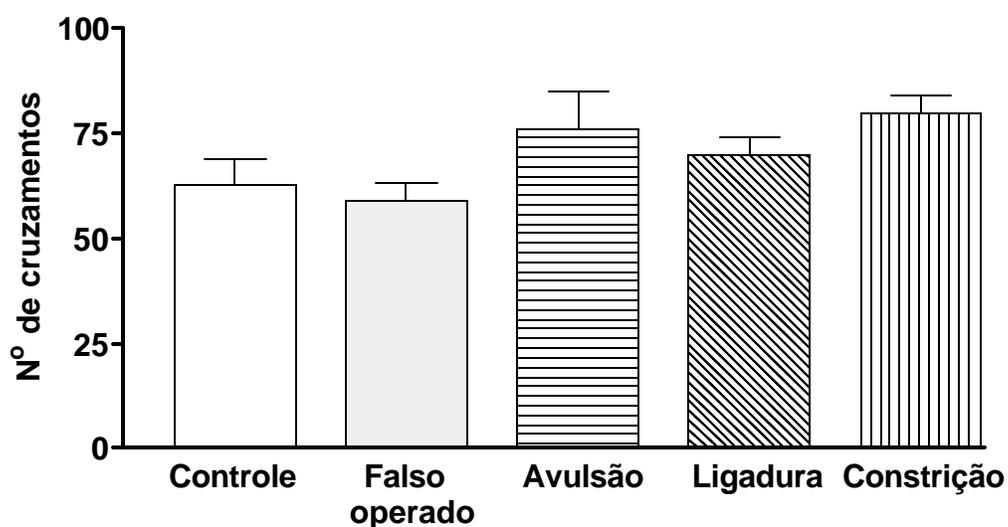


Figura. 17: Atividade locomotora avaliada em ratos controle, falso operado, ou após a avulsão, ligadura ou constrição do tronco inferior do plexo braquial direito de ratos 5 dias após o procedimento cirúrgico. Os dados são expressos como a média + erro padrão da média de 8 animais em cada grupo. As diferenças entre os grupos foram analisadas por meio de ANOVA e comparados aos valores observados nos grupos controle ou falso operados.

7.2 Tratamento neonatal com capsaïcina

O tratamento neonatal com capsaïcina (50 mg/Kg s.c.) não modificou a hiperalgesia mecânica (Figura 18), mas reverteu de modo significativo a alodinia mecânica (Figura 19) nas patas traseiras ipsilateral e contralateral de ratos submetidos a avulsão do tronco inferior do plexo braquial. Curiosamente, o tratamento neonatal com capsaïcina induziu resposta sugestiva de alodinia ao frio nos animais dos grupos controle e falso operados (Figura 20).

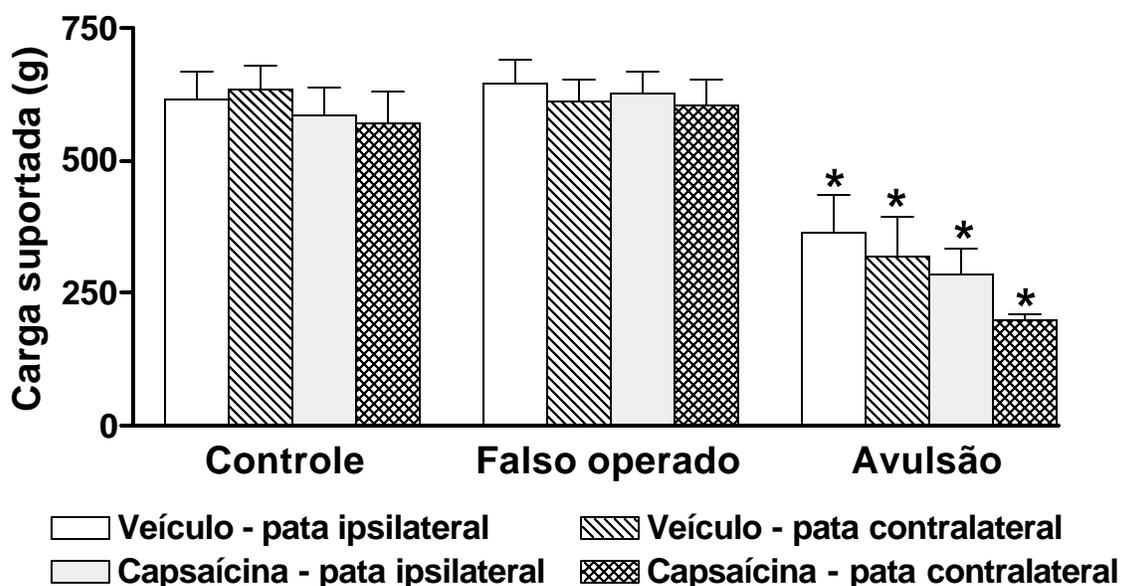


Figura 18: Efeitos do tratamento neonatal com capsaïcina (50 mg/kg) ou veículo sobre a hiperalgesia mecânica induzida pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial de rato, avaliada em ambas as patas traseiras 20 dias após a cirurgia. Os dados são expressos como a média + erro padrão da média de 8 animais em cada grupo. * $P < 0,05$ em relação aos grupos controle e falso operado. Testes de Student Newman-Keuls.

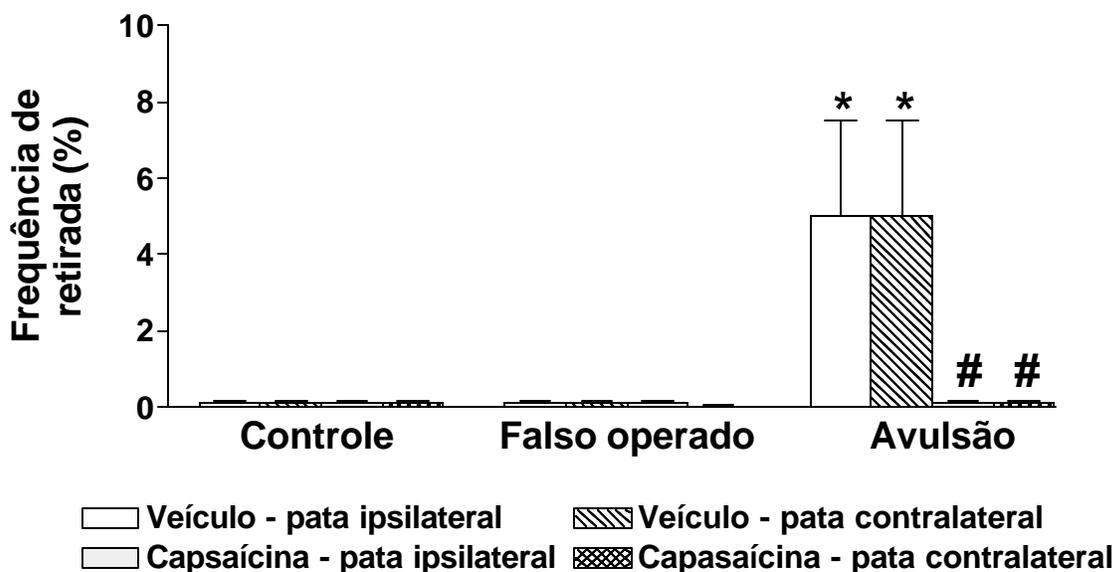


Figura 19: Efeitos do tratamento neonatal com capsaïcina (50 mg/kg) ou veículo sobre a alodinia mecânica induzida pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial de rato, avaliada em ambas as patas traseiras 20 dias após a cirurgia. Os dados são expressos como a média + erro padrão da média de 8 animais em cada grupo. * $P < 0,05$ em relação aos grupos controle e falso operado e # em relação aos grupos avulsão tratados com veículo. Testes de Student Newman-Keuls.

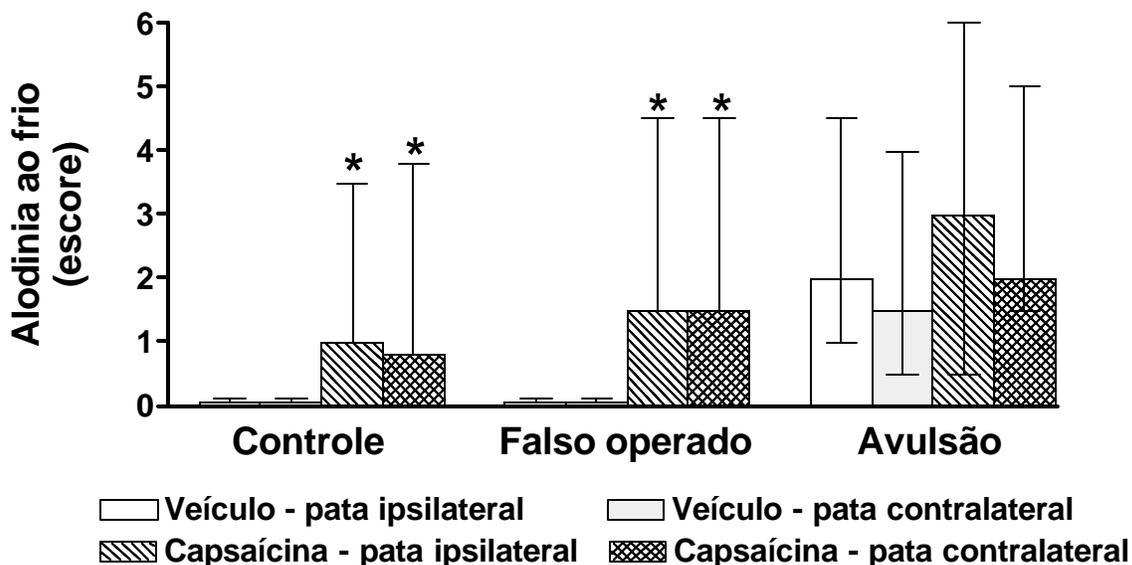


Figura 20: Efeitos do tratamento neonatal com capsaïcina (50 mg/kg) ou veículo sobre a alodinia ao frio induzida pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial de rato, avaliada em ambas as patas traseiras 20 dias após a cirurgia. Os dados são expressos como a mediana mais os intervalos interquartis de 8 animais em cada grupo. * $P < 0,05$ em relação aos grupos controle e falso operado tratados com veículo. Teste de Mann-Whitney.

7.3 Estudo Farmacológico (Tratamento agudo)

A partir dos resultados obtidos na etapa de caracterização do modelo de avulsão do tronco inferior do plexo braquial como um novo modelo de estudo da dor neuropática de longa duração, foi iniciado o estudo farmacológico do mesmo utilizando drogas pertencentes a diferentes classes farmacológicas, conhecidas por serem ativas ou inativas no tratamento clínico de pacientes que sofrem de dor neuropática de diferentes etiologias. Para tal foi avaliada a sensibilidade farmacológica e preditiva deste modelo utilizando os testes de Randall e Selitto e da acetona. Estes testes foram escolhidos em função dos resultados bastante significativos obtidos na caracterização do modelo, por serem testes que utilizam estímulos diferentes e também porque a cinética das drogas empregadas limita o tempo de manipulação dos animais.

Durante esta fase do estudo, foram utilizados para cada droga testada os grupos controle, falso operados e submetidos a avulsão do tronco inferior do plexo braquial. Em todos os casos não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos controle e falso operados. Além disso, a injeção de salina não alterou o limiar nociceptivo nos ratos normais ou neuropáticos .

Antes da administração de cada droga, a análise estatística efetuada por meio da ANOVA de duas vias com medidas repetidas mostrou diferenças significantes entre os grupos controle ou falso operados e avulsão para os valores basais ou após a administração de salina, ou seja, todos os animais com lesão por avulsão do tronco inferior do plexo apresentavam hiperalgesia mecânica e alodinia ao frio. Os valores de “F” obtidos foram: morfina [$F_{5,105} = 86,19$; $P < 0,05$]; L-NAME

[$F_{5,105}= 50,57$; $P<0,05$]; clonidina [$F_{5,105}= 48,85$; $P<0,05$]; cetamina [$F_{5,105}= 33,03$; $P<0,05$]; gabapentina [$F_{5,105}= 17,07$; $P<0,05$]; lidocaina [$F_{5,105}= 47,15$; $P<0,05$]; imipramina [$F_{5,105}= 184,08$; $P<0,05$]; celecoxib [$F_{5,105}= 45,65$; $P<0,05$]; diclofenaco [$F_{5,105}= 84,77$; $P<0,05$]; dexametasona [$F_{5,105}= 89,26$; $P<0,05$]; dipirona [$F_{5,105}= 193,08$; $P<0,05$]; diacereina [$F_{5,105}= 40,05$; $P<0,05$] e adenosina [$F_{5,105}= 19,44$; $P<0,05$].

Além disso, nas doses testadas, as diferentes drogas utilizadas não causaram alterações na atividade locomotora dos animais testados no campo aberto (resultados não apresentados).

7.3.1 Efeito da Morfina

A administração subcutânea de morfina, um analgésico opióide potente, na dose de 5 mg/kg, resultou em redução significativa da hiperalgesia mecânica e da alodinia ao frio induzidas pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial em ambas as patas traseiras do rato ($P<0,05$) (Figura 21 A - D).

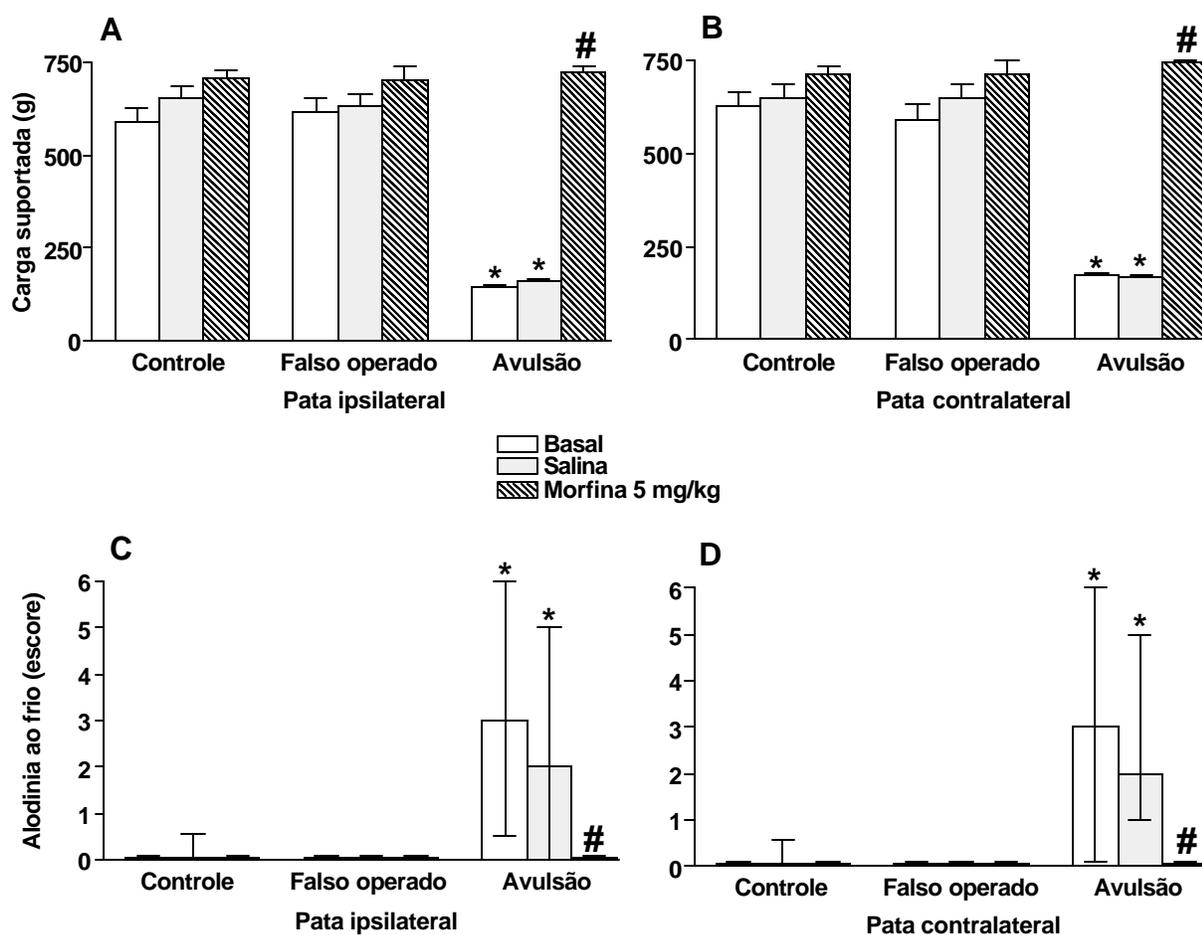


Figura 21: Efeitos anti-hiperalgésico (painéis A e B) e anti-alodínico (painéis C e D) causados pela administração s.c. de morfina (30 min antes), avaliados 20 dias após a cirurgia nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito. Os dados são expressos como a média + erro padrão da média (painéis A e B) e como a mediana mais os intervalos interquartis (painéis C e D) de 8 animais em cada grupo. * $P < 0,05$ em relação aos grupos controle e falso operados e # em relação aos grupos avulsão basal e avulsão salina. Testes de Student Newman-Keuls e Mann-Whitney.

7.3.2 Efeito do L-NAME

No presente estudo a administração aguda de L-NAME (150 mg/kg, i.p.) reverteu totalmente a hiperalgesia mecânica e a alodinia ao frio induzidas pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial em ambas as patas traseiras ($P < 0,05$), (Figura 22 A-D).

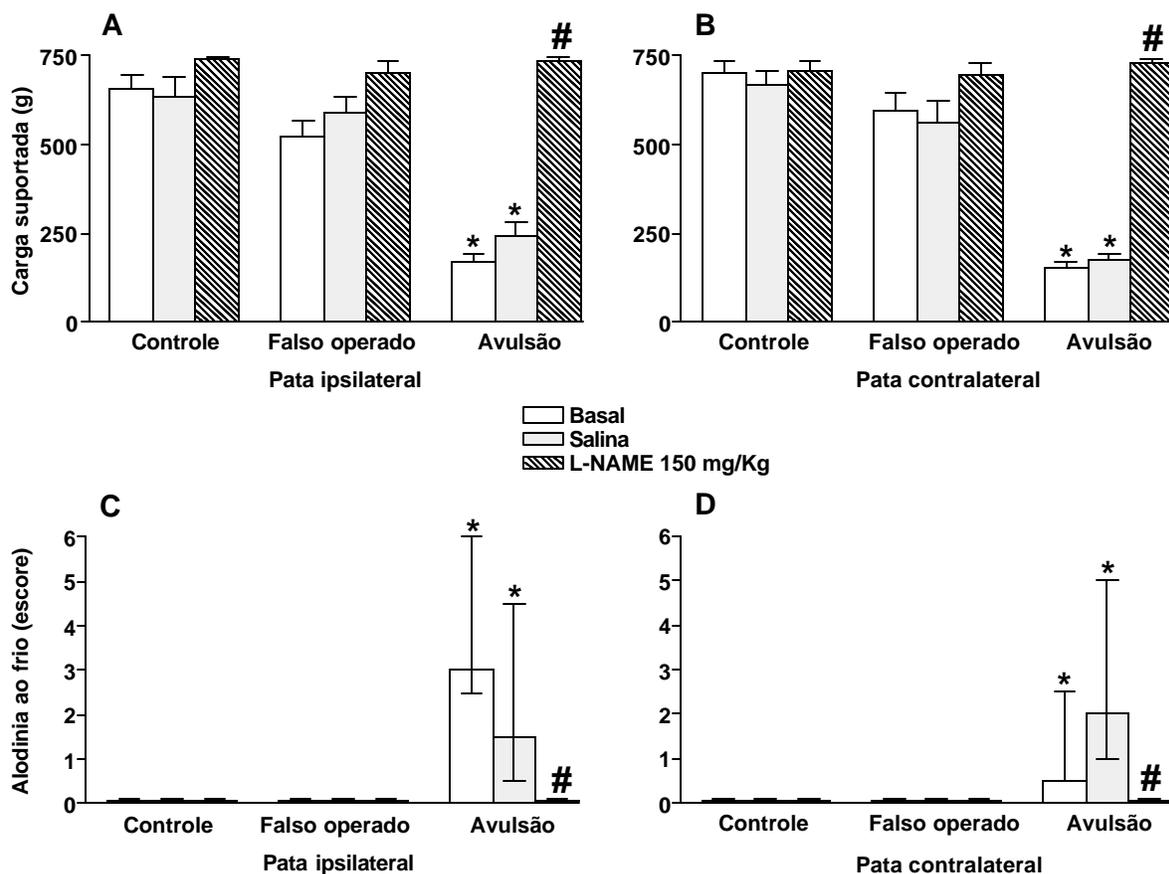


Figura 22: Efeitos anti-hiperalgésico (painéis A e B) e anti-alodínico (painéis C e D) causados pela administração i.p. de L-NAME (30 min antes), avaliados 20 dias após a cirurgia nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito. Os dados são expressos como a média + erro padrão da média (painéis A e B) e como a mediana mais os intervalos interquartis (painéis C e D) de 8 animais em cada grupo. * $P < 0,05$ em relação aos grupos controle e falso operados e # em relação aos grupos avulsão basal e avulsão salina. Testes de Student Newman-Keuls e Mann-Whitney.

7.3.3 Efeito da clonidina

Os efeitos do tratamento dos animais com clonidina, um agonista α_2 -adrenérgico, estão ilustrados na Figura 23 (A-D). A análise estatística dos dados obtidos demonstrou que a clonidina na dose de 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (i.p.) reduziu significativamente tanto a hiperalgésia mecânica quanto a alodinia ao frio

induzidas pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial nas patas traseiras ipsilateral e contralateral ($P < 0.05$). Efeito semelhante foi observado com a dose de 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (i.p.) (resultados não mostrados).

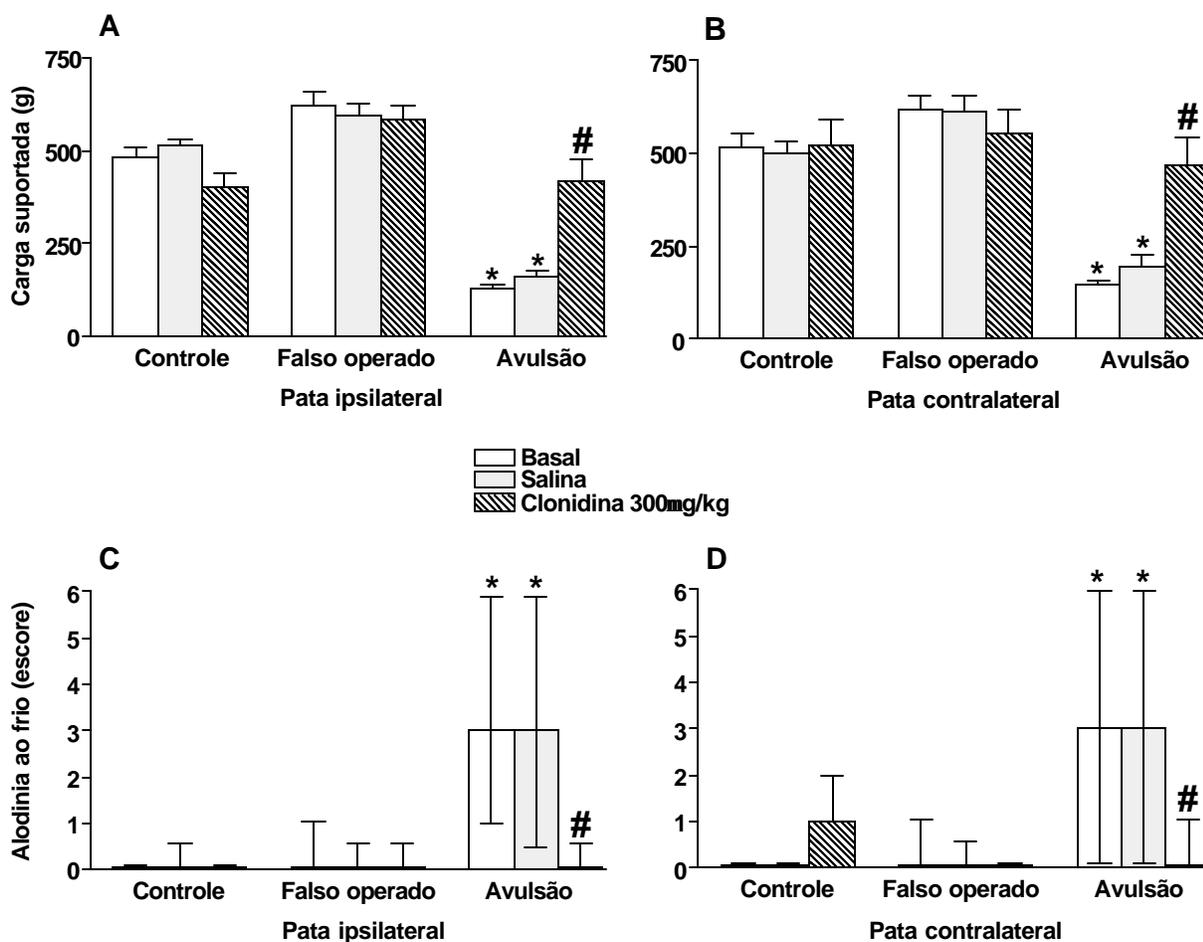


Figura 23: Efeitos anti-hiperalgésico (painéis A e B) e anti-alodínico (painéis C e D) causados pela administração i.p. de clonidina (30 min antes), avaliados 20 dias após a cirurgia nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito. Os dados são expressos como a média + erro padrão da média (painéis A e B) e como a mediana mais os intervalos interquartis (painéis C e D) de 8 animais em cada grupo. * $P < 0,05$ em relação aos grupos controle e falso operados e # em relação aos grupos avulsão basal e avulsão salina. Testes de Student Newman-Keuls e Mann-Whitney.

7.3.4 Efeito da cetamina

A participação do receptor NMDA neste modelo de dor neuropática foi avaliada pela administração intraperitoneal do antagonista cetamina na dose de 25 mg/kg. Os resultados representados na Figura 24 (A-D) demonstram que a cetamina produziu efeitos anti-hiperalgésico e anti-alodínico nas patas traseiras ipsilateral e contralateral dos animais após avulsão do tronco inferior do plexo braquial ($P < 0,05$).

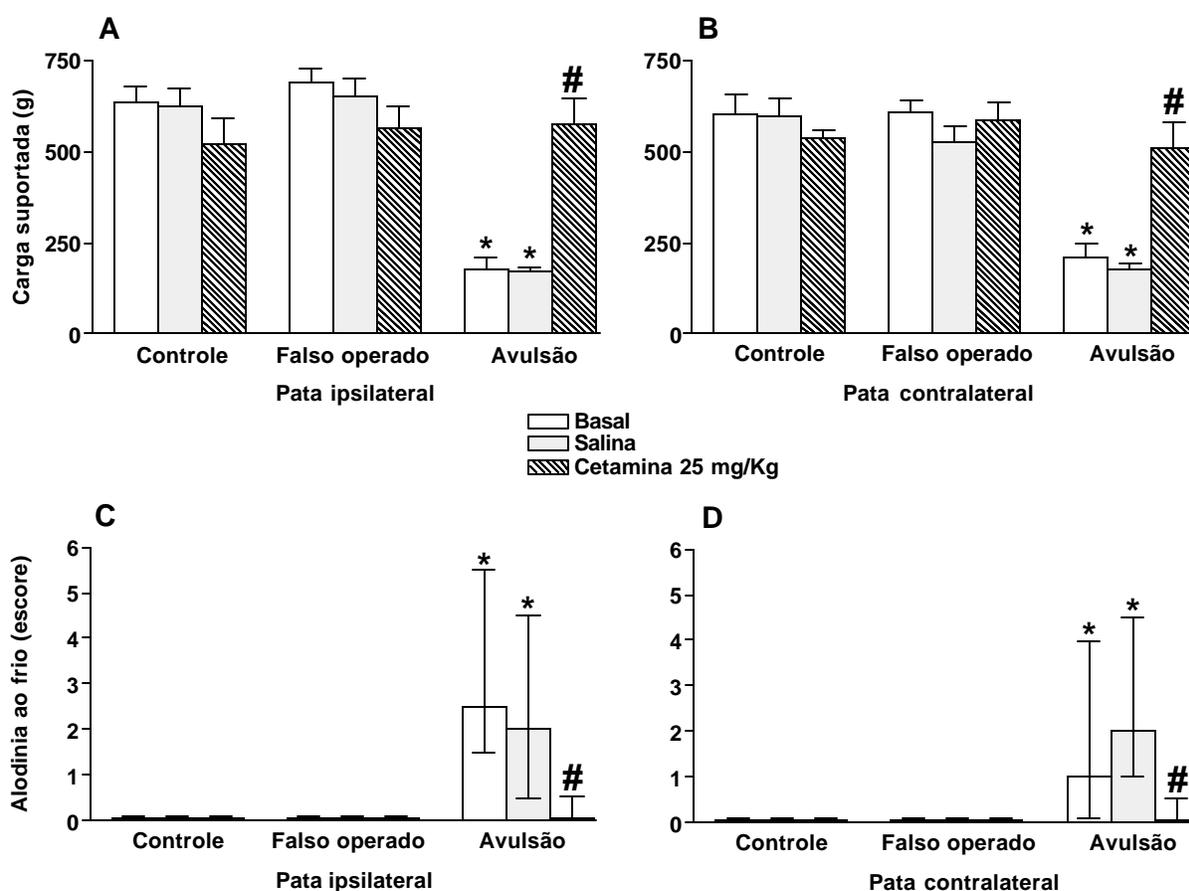


Figura 24: Efeitos anti-hiperalgésico (painéis A e B) e anti-alodínico (painéis C e D) causados pela administração i.p. de cetamina (30 min antes), avaliados 20 dias após a cirurgia nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito. Os dados são expressos como a média + erro padrão da média (painéis A e B) e como a mediana mais os intervalos interquartis (painéis C e D) de 8 animais em cada grupo. * $P < 0,05$ em relação aos grupos controle e falso operados e # em relação aos grupos avulsão basal e avulsão salina. Teste de Student Newman-Keuls e Mann-Whitney.

7.3.5 Efeito da gabapentina

O tratamento dos animais com gabapentina (70 mg/kg v.o.), uma droga anticonvulsivante usada clinicamente para o tratamento da dor neuropática, também produziu redução significativa do limiar nociceptivo para estímulos mecânico e térmico (frio) em ambas as patas traseiras quando comparados com os grupos controle e falso operado ($P < 0,05$) (Figura 25 A-D).

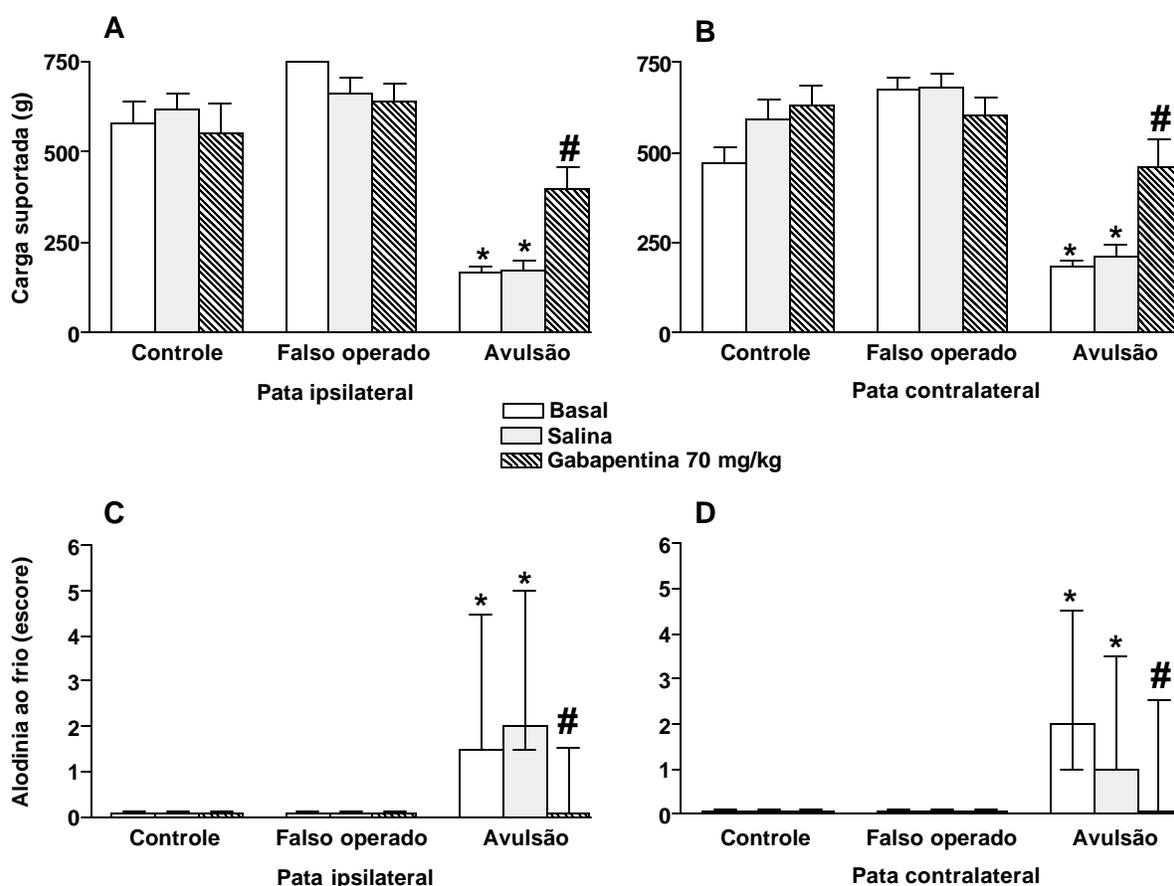


Figura 25: Efeitos anti-hiperalgésico (painéis A e B) e anti-alodínico (painéis C e D) causados pela administração v.o. de gabapentina (1 hora antes), avaliados 20 dias após a cirurgia nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito. Os dados são expressos como a média + erro padrão da média (painéis A e B) e como a mediana mais os intervalos interquartis (painéis C e D) de 8 animais em cada grupo. * $P < 0,05$ em relação aos grupos controle e falso operados e # em relação aos grupos avulsão basal e avulsão salina. Teste de Student Newman-Keuls e Mann-Whitney.

7.3.6 Efeito da lidocaína

A administração de lidocaína (40 mg/kg, i.p.) reduziu significativamente a alodinia ao frio em ambas as patas traseiras ($P < 0.05$), mas falhou completamente em afetar a hiperalgesia mecânica neste modelo experimental (Figura 26 A-D).

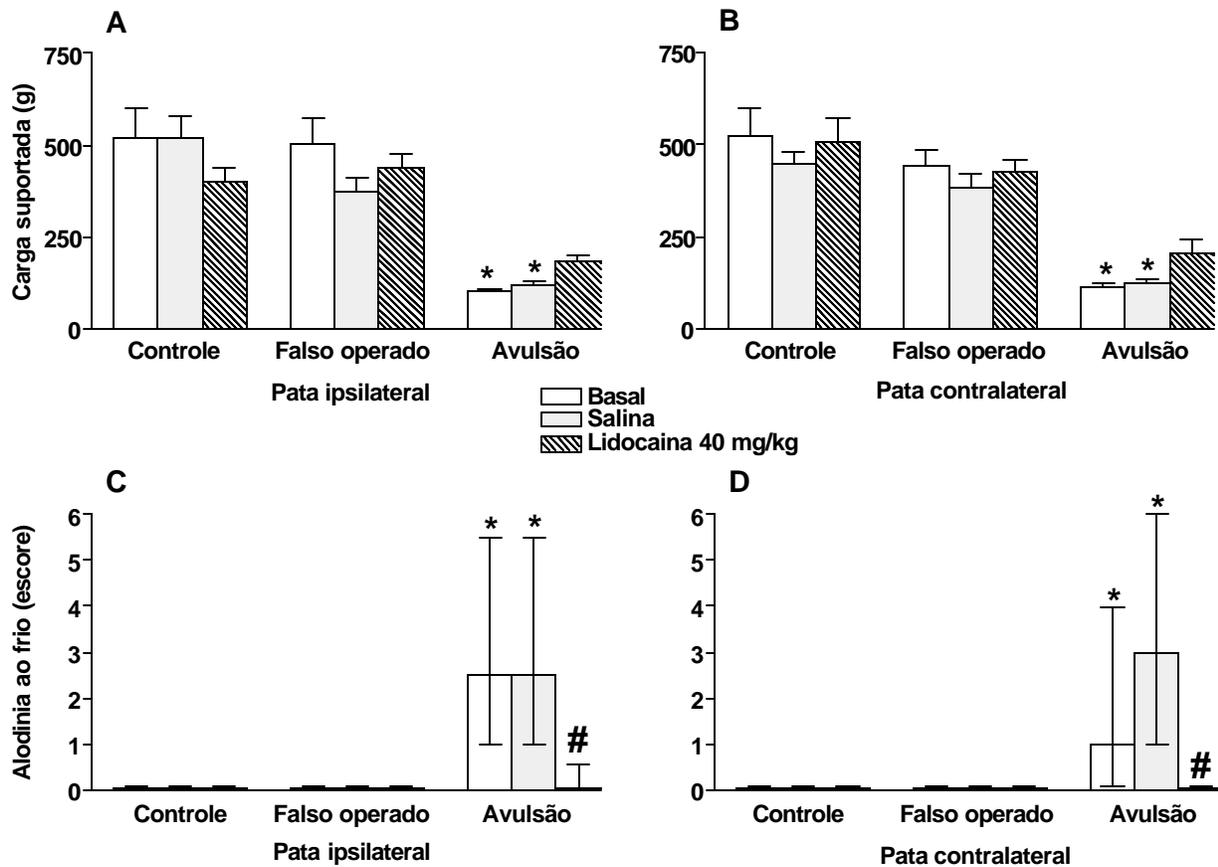


Figura 26: Efeitos anti-hiperalgésico (painéis A e B) e anti-alodínico (painéis C e D) causados pela administração i.p. de lidocaína (30 min antes), avaliados 20 dias após a cirurgia nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito. Os dados são expressos como a média + erro padrão da média (painéis A e B) e como a mediana mais os intervalos interquartis (painéis C e D) de 8 animais em cada grupo. * $P < 0,05$ em relação aos grupos controle e falso operados e # em relação aos grupos avulsão basal e avulsão salina. Teste de Student Newman-Keuls e Mann-Whitney.

7.3.7 Efeito da imipramina

A injeção do antidepressivo tricíclico imipramina (10 mg/kg i.p.) não foi capaz de modificar a hiperalgesia mecânica nem a alodinia ao frio induzidas em ambas as patas traseiras de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial ($P > 0,05$), (Figura 27 A-D).

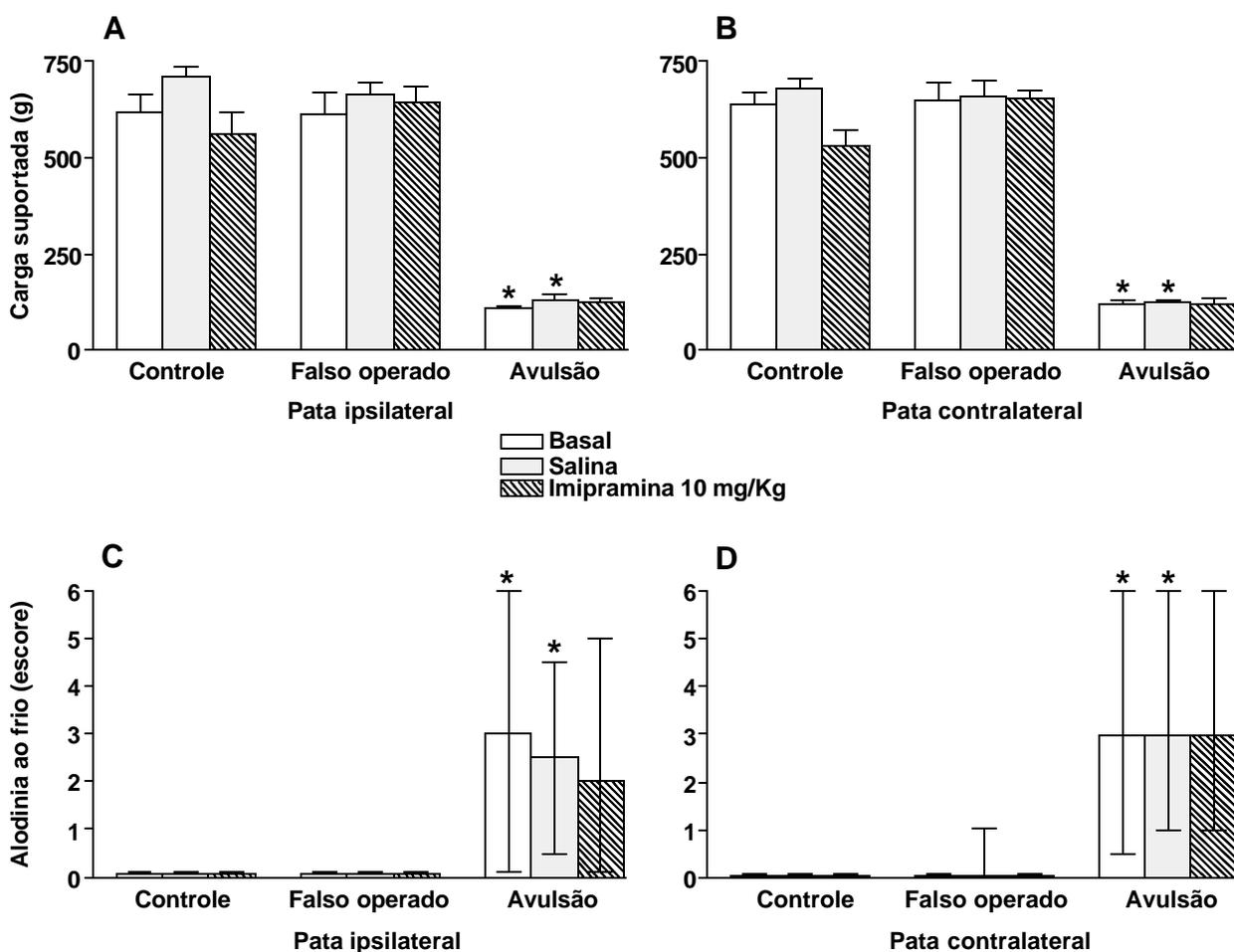


Figura 27: Efeitos causados pela administração i.p. de imipramina (30 min antes) sobre a hiperalgesia (painéis A e B) e alodinia (painéis C e D), avaliados 20 dias após a cirurgia nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito. Os dados são expressos como a média + erro padrão da média (painéis A e B) e como a mediana mais os intervalos interquartis (painéis C e D) de 8 animais em cada grupo. * $P < 0,05$ em relação aos grupos controle e falso operado. Testes de Student Newman-Keuls e Mann-Whitney.

7.3.8 Efeito do celecoxib

A administração de celecoxib (10 mg/kg, v.o.), um inibidor seletivo da ciclooxigenase-2, reverteu de modo significativo a hiperalgesia mecânica em ambas as patas traseiras ($P < 0,05$), porém, não foi observado efeito anti-alodínico significativo após avulsão do tronco inferior do plexo braquial do rato (Figura 28 A-D).

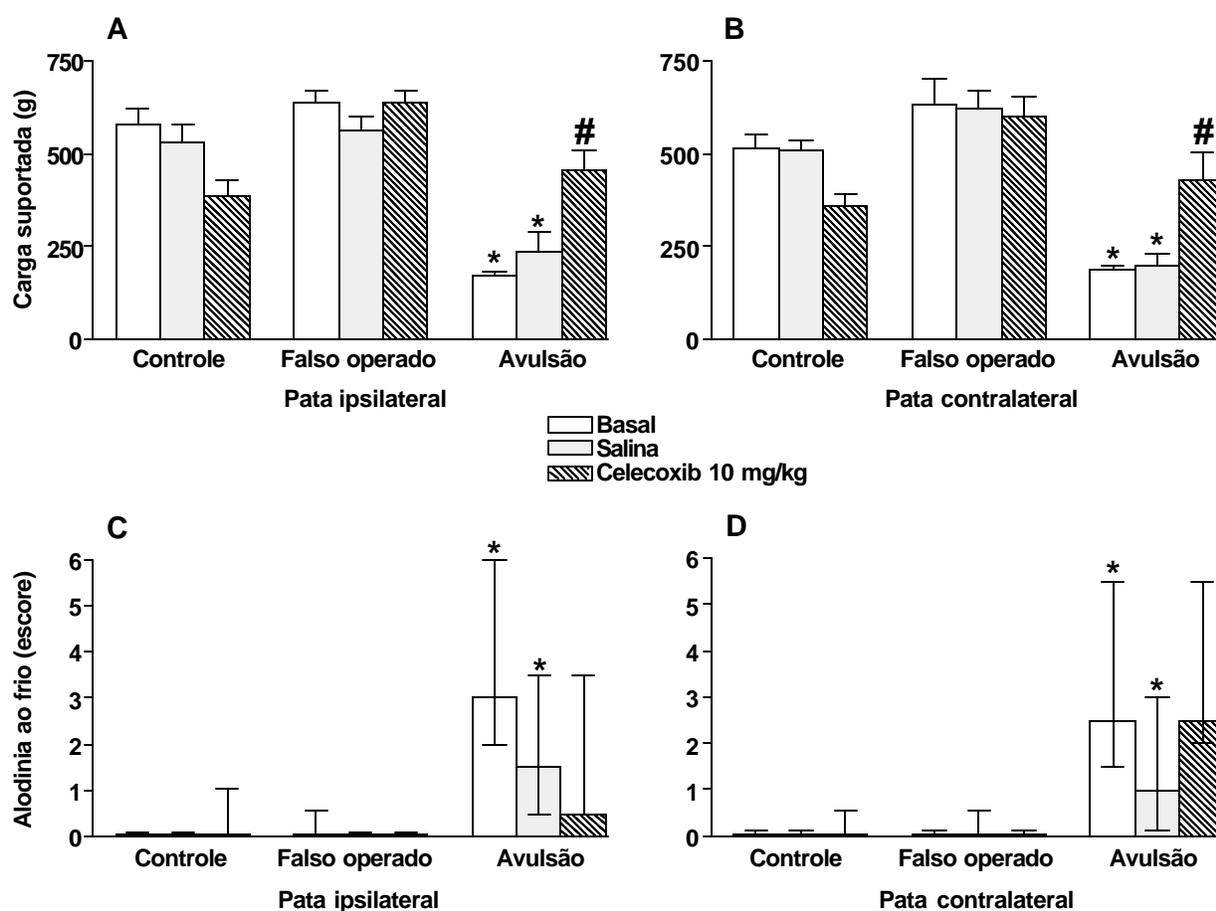


Figura 28: Efeitos da administração v.o. de celecoxib (1 hora antes) sobre a hiperalgesia (painéis A e B) e alodinia (painéis C e D), avaliados 20 dias após a cirurgia nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito. Os dados são expressos como a média + erro padrão da média (painéis A e B) e como a mediana mais os intervalos interquartis (painéis C e D) de 8 animais em cada grupo. * $P < 0,05$ em relação aos grupos controle e falso operados e # em relação aos grupos avulsão basal e avulsão salina. Testes de Student Newman-Keuls e Mann-Whitney.

7.3.9 Efeito do diclofenaco

O tratamento com diclofenaco (100 mg/kg, i.p.), antiinflamatório não esteroide, não seletivo para a COX-1 e COX-2, falhou completamente em interferir com a hiperalgesia mecânica bem como a alodinia ao frio induzida pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial de rato nas patas traseiras ipsilateral e contralateral ($P > 0,05$) (Figura 29 A-D).

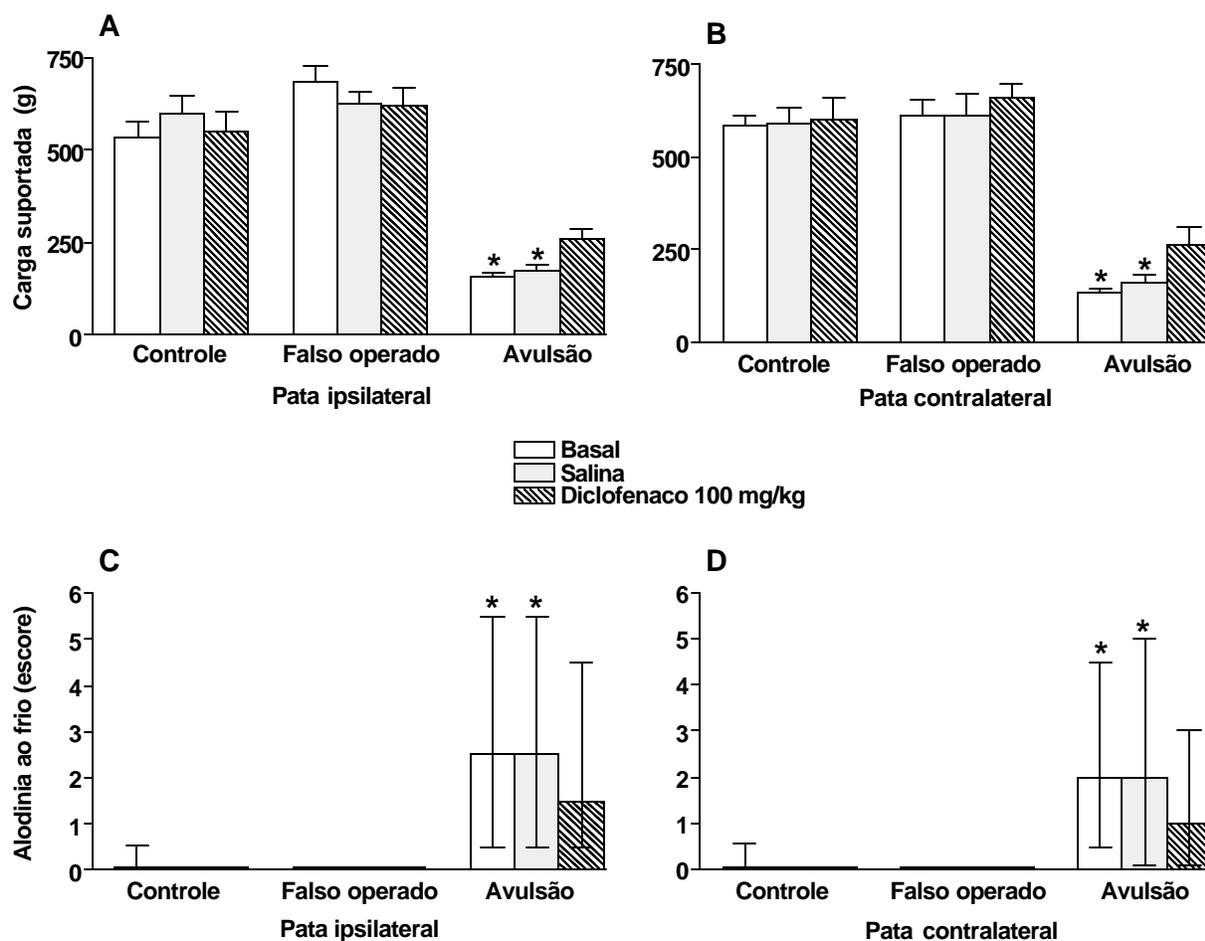


Figura 29: Efeitos causados pela administração i.p. de diclofenaco (30 min antes) sobre a hiperalgesia (painéis A e B) e alodinia (painéis C e D), avaliados 20 dias após a cirurgia nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito. Os dados são expressos como a média + erro padrão da média (painéis A e B) e como a mediana mais os intervalos interquartis (painéis C e D) de 8 animais em cada grupo. * $P < 0,05$ em relação aos grupos controle e falso operados. Testes de Student Newman-Keuls e Mann-Whitney.

7.3.10 Efeito da dexametasona

O antiinflamatório esteroide dexametasona na dose de 1,5 mg/kg i.p. também falhou em reduzir a hiperalgesia mecânica e a alodinia ao frio após avulsão do tronco inferior do plexo braquial ($P > 0,05$), (Figura 30 A-D).

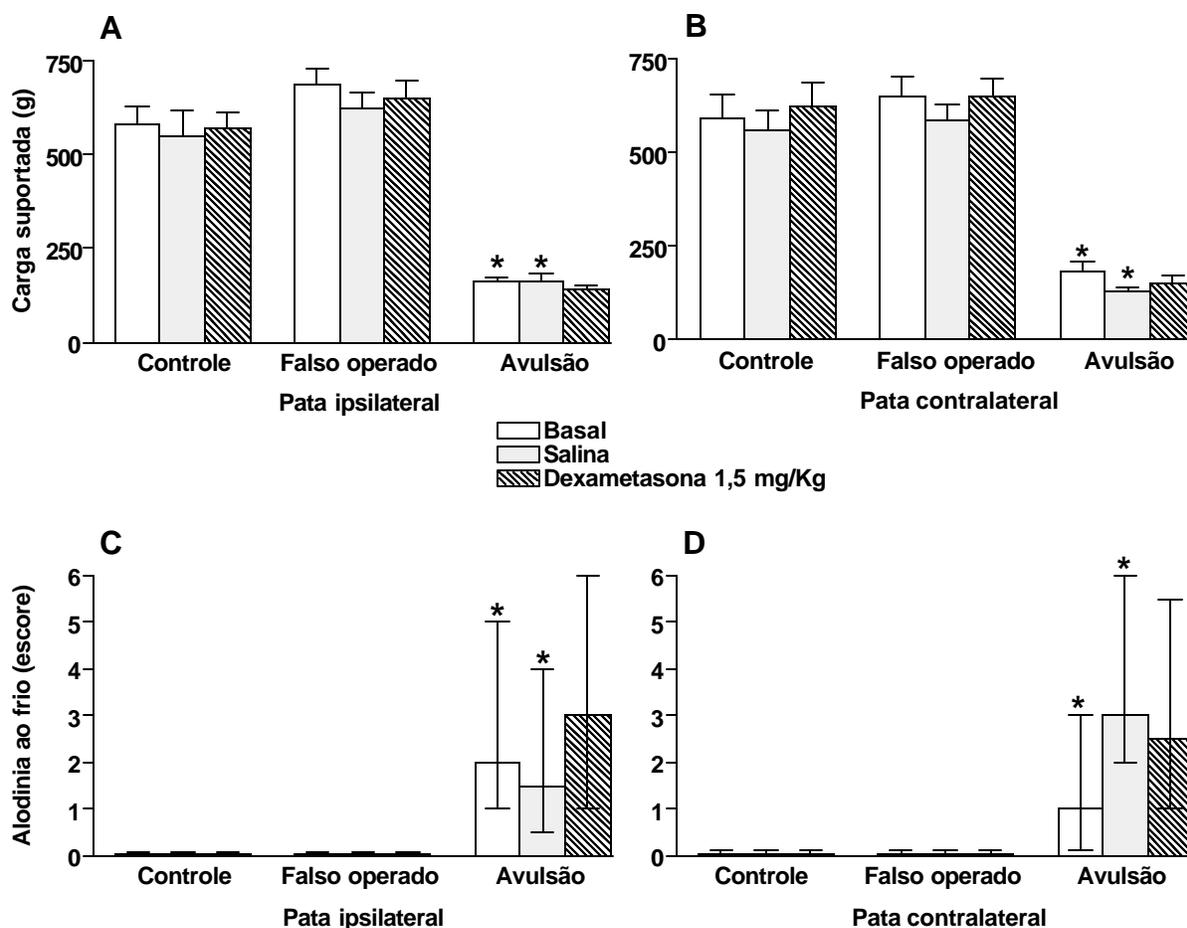


Figura 30: Efeitos causados pela administração i.p. de dexametasona (2 horas antes) sobre a hiperalgesia mecânica (painéis A e B) e alodinia ao frio (painéis C e D), avaliados 20 dias após a cirurgia nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito. Os dados são expressos como a média + erro padrão da média (painéis A e B) e como a mediana mais os intervalos interquartis (painéis C e D) de 8 animais em cada grupo. * $P < 0,05$ em relação aos grupos controle e falso operados. Testes de Student Newman-Keuls e Mann-Whitney.

7.3.11 Efeito da dipirona

Os efeitos do tratamento com dipirona, um analgésico não opióide amplamente utilizado na clínica estão representados na Figura 31. A dipirona na dose testada (180 mg/kg; i.p.) não teve qualquer efeito sobre a hiperalgesia mecânica e alodinia ao frio induzida em ambas as patas traseiras pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial.

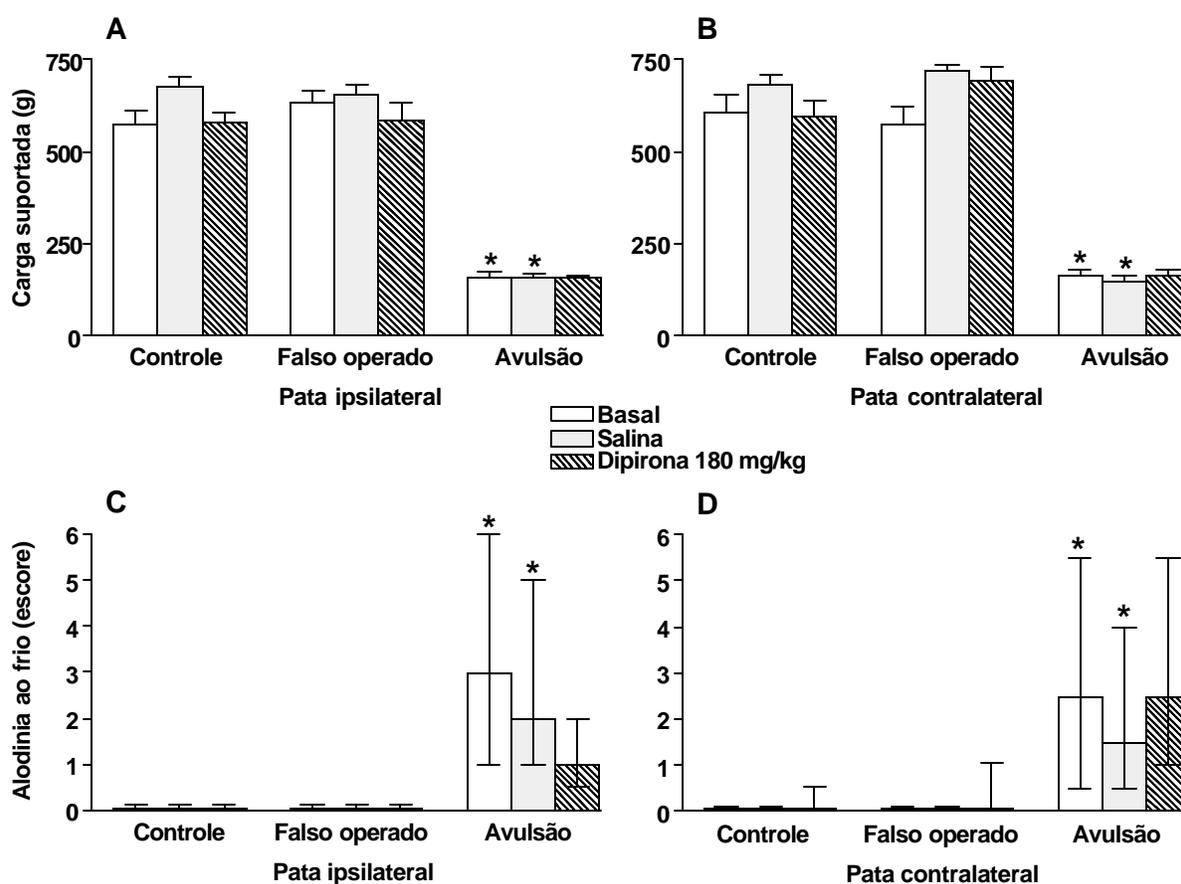


Figura 31: Efeitos causados pela administração i.p. de dipirona (30 min antes) sobre a hiperalgesia (painéis A e B) e alodinia (painéis C e D), avaliados 20 dias após a cirurgia nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito. Os dados são expressos como a média + erro padrão da média (painéis A e B) e como a mediana mais os intervalos interquartis (painéis C e D) de 8 animais em cada grupo. * $P < 0,05$ em relação aos grupos controle e falso operados. Testes de Student Newman-Keuls e Mann-Whitney.

7.3.12 Efeito da diacereina

O possível envolvimento das citocinas no modelo proposto, foi inicialmente avaliado a partir da administração de diacereina (100 mg/kg, i.p.), uma droga que inibe a produção e liberação de IL-1, usada na clínica para o tratamento da artrose. Na dose testada, a diacereina inibiu totalmente a hiperalgesia mecânica e a alodinia ao frio nas patas traseiras ipsilateral e contralateral ($P < 0,05$), (Figura 32 A-D).

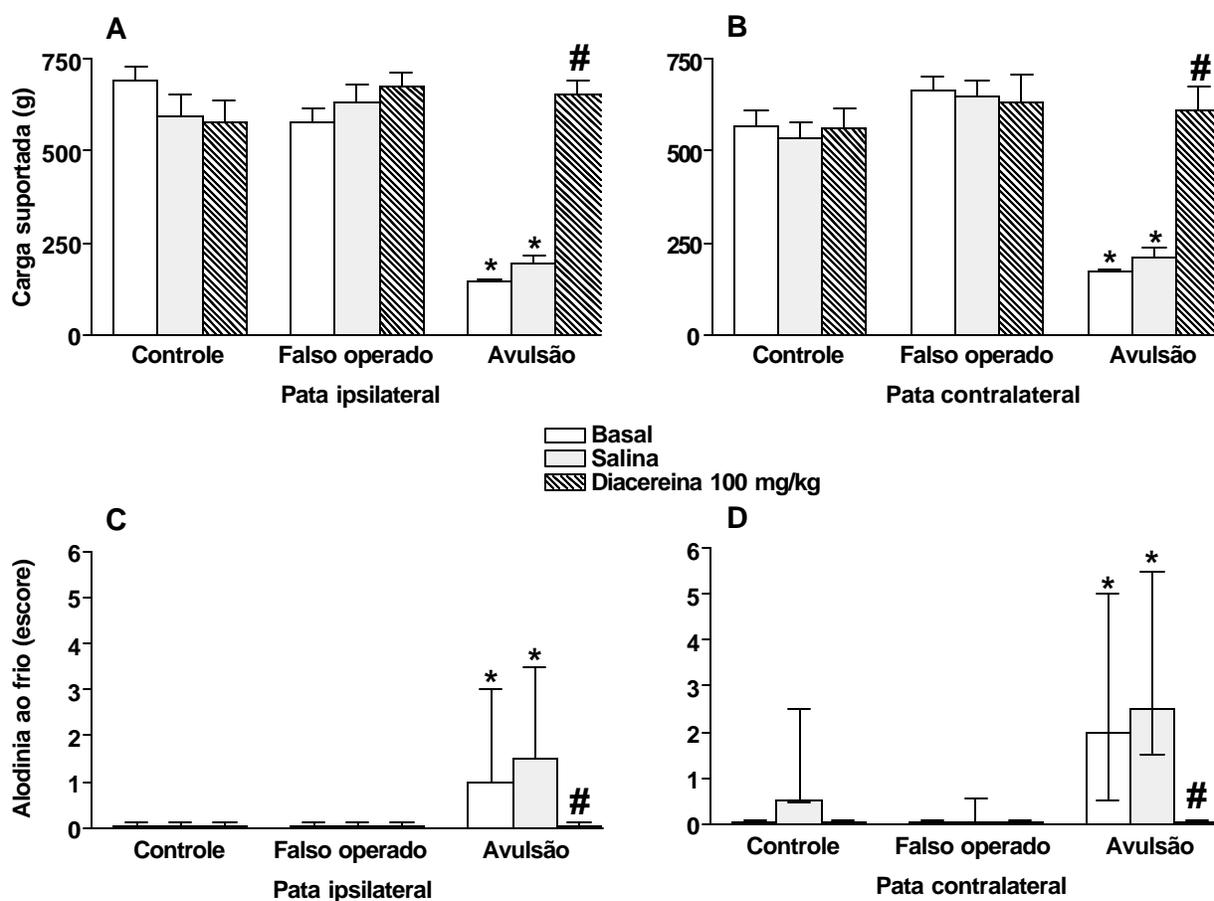


Figura 32: Efeitos causados pela administração i.p. de diacereina (30 min antes) sobre a hiperalgesia (painéis A e B) e alodinia (painéis C e D), avaliados 20 dias após a cirurgia nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito. Os dados são expressos como a média + erro padrão da média (painéis A e B) e como a mediana mais os intervalos interquartis (painéis C e D) de 8 animais em cada grupo. * $P < 0,05$ em relação aos grupos controle e falso operados e # em relação aos grupos avulsão basal e avulsão salina. Testes de Student Newman-Keuls e Mann-Whitney.

7.3.13 Efeito da adenosina

A administração de adenosina (100 mg/kg, i.p.) reverteu totalmente a hiperalgesia mecânica ($P < 0,05$) induzida pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial, mas não teve efeito significativo sobre a alodinia ao frio em ambas as patas traseiras (Figura 33 A-D).

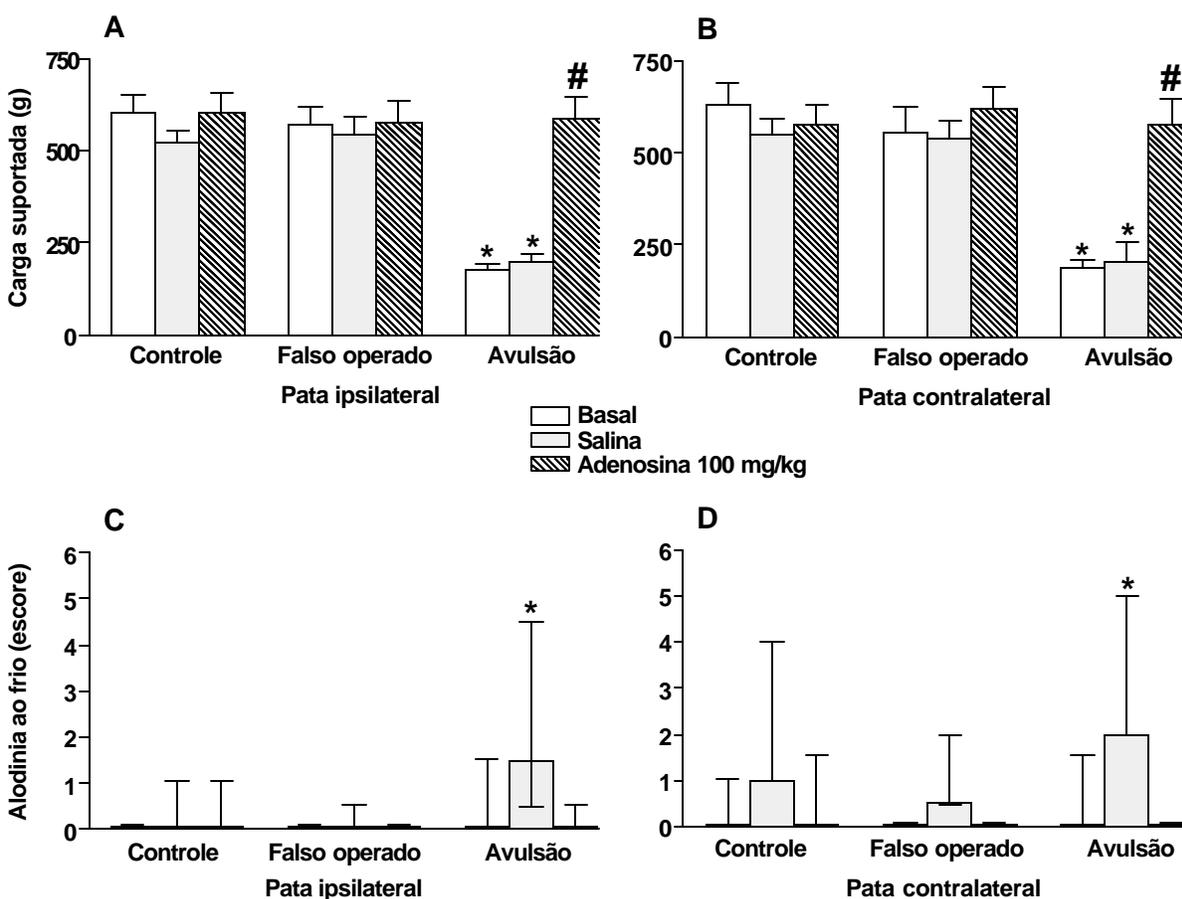


Figura 33: Efeitos causados pela administração i.p. de adenosina (30 min antes) sobre a hiperalgesia (painéis A e B) e alodinia (painéis C e D), avaliados 20 dias após a cirurgia nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito. Os dados são expressos como a média + erro padrão da média (painéis A e B) e como a mediana mais os intervalos interquartis (painéis C e D) de 8 animais em cada grupo. * $P < 0,05$ em relação aos grupos controle e falso operados e # em relação aos grupos avulsão basal e avulsão salina. Testes de Student Newman-Keuls e Mann-Whitney.

7.4 Estudo Farmacológico (Tratamento repetido)

Para administração repetida foram escolhidas a dipirona, o diclofenaco, a dexametasona e a imipramina que não tiveram qualquer efeito quando administradas em dose única. Além disso, embora tenha apresentado um bom efeito em dose única, o efeito da administração repetida de gabapentina, foi também avaliado, uma vez que na clínica os anticonvulsivantes a exemplo dos antidepressivos tem sido utilizados cronicamente.

Antes da administração de cada droga, a análise estatística efetuada por meio da ANOVA de duas vias com medidas repetidas mostrou diferenças significantes entre os grupos controle ou falso operados e avulsão para os valores basais ou após a administração de salina. Como na administração aguda, todos os ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial apresentavam-se hiperalgésicos e alodínicos. Os valores de “F” obtidos foram: gabapentina [$F_{5,105}= 29,16$; $P<0,001$]; imipramina [$F_{5,105}= 54,41$; $P<0,001$]; diclofenaco [$F_{5,105}= 39,39$; $P<0,05$]; dexametasona [$F_{5,105}= 32,95$; $P<0,05$] e Dipirona [$F_{5,105}= 75,26$; $P<0,001$].

7.4.1 Efeito da gabapentina

A administração repetida de gabapentina inibiu a hiperalgesia mecânica e a alodinia ao frio em ambas as patas traseiras. Doses repetidas parecem ser mais efetivas em inibir a hiperalgesia mecânica quando comparada com administração aguda ($P < 0,05$), (Figura 34 A-D).

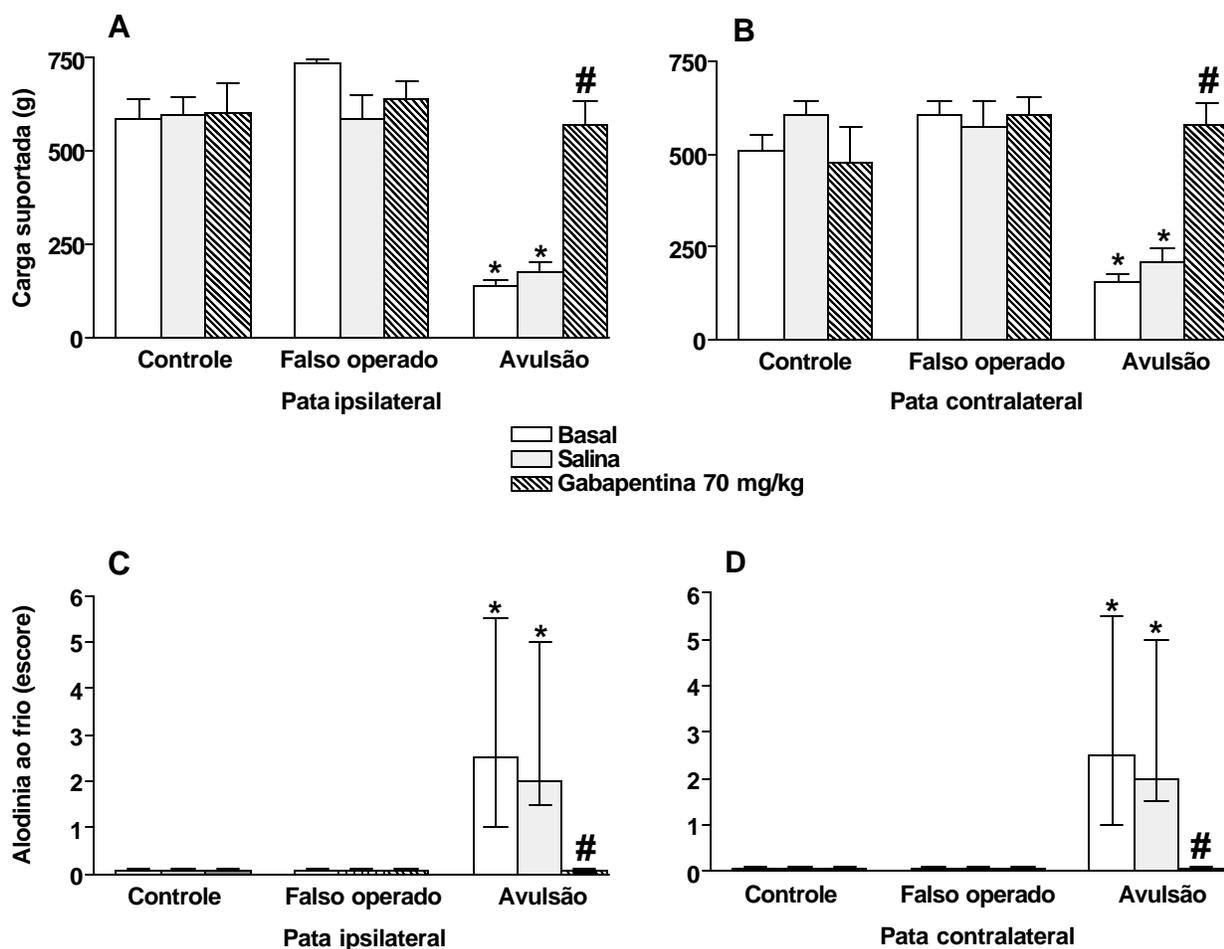


Figura 34: Efeitos causados pela administração repetida v.o. de gabapentina (3 dias; 1 dose/dia) sobre a hiperalgesia (painéis A e B) e alodinia (painéis C e D), avaliados a partir do 20º dia após a cirurgia, nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito. Os dados são expressos como a média + erro padrão da média (painéis A e B) e como a mediana mais os intervalos interquartis (painéis C e D) de 8 animais em cada grupo. * $P < 0,05$ em relação aos grupos controle e falso operados e # em relação aos grupos avulsão basal e avulsão salina. Testes de Student Newman-Keuls e Mann-Whitney.

7.4.2 Efeito da imipramina

A administração repetida de imipramina não foi capaz de inibir a hiperalgesia mecânica. Entretanto a alodinia ao frio foi totalmente revertida em ambas as patas traseiras ($P < 0,05$), (Figura 35 A-D).

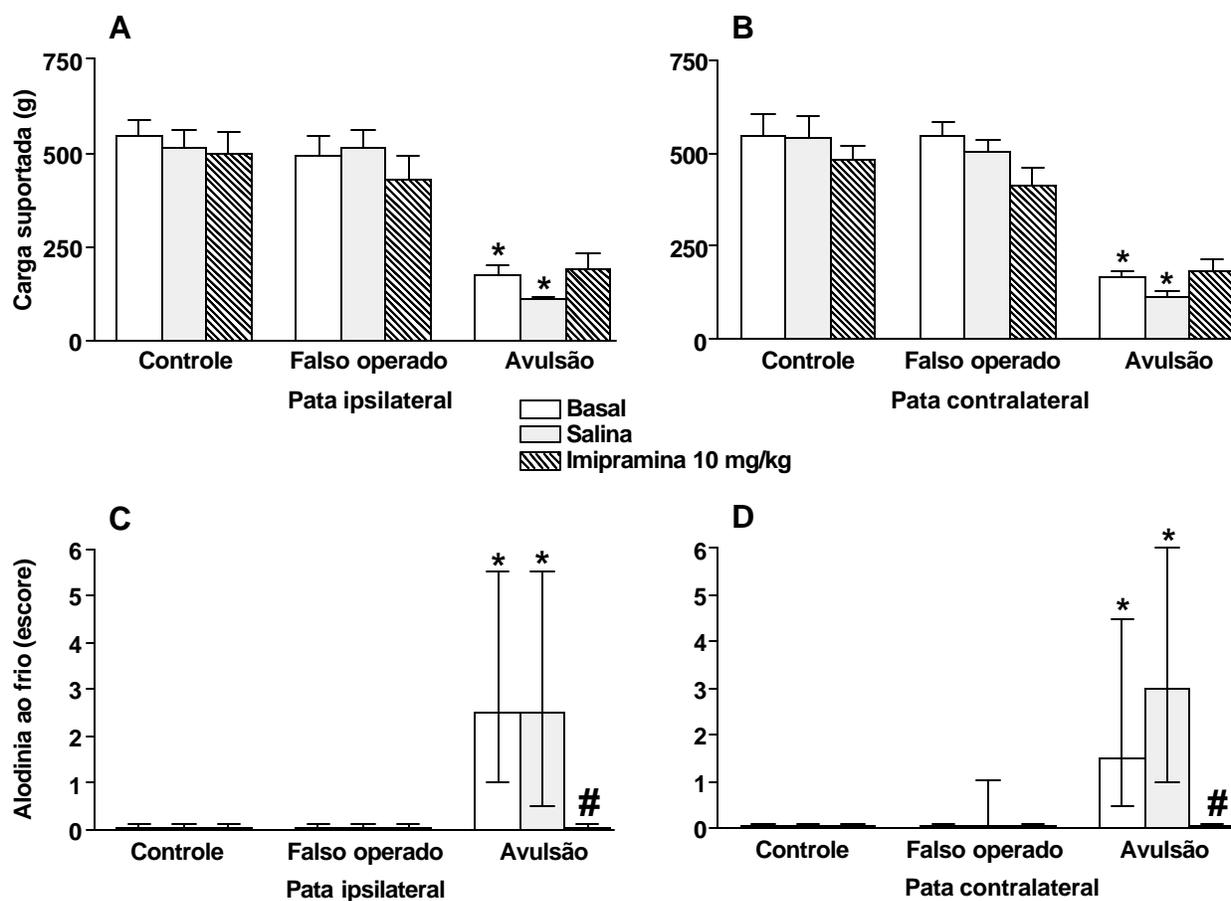


Figura 35: Efeitos causados pela administração repetida i.p. de imipramina (1 semana; 1 dose/dia) sobre a hiperalgesia (painéis A e B) e alodinia (painéis C e D), avaliados a partir do 20º dia após a cirurgia, nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito. Os dados são expressos como média + erro padrão da média (painéis A e B) e como a mediana mais os intervalos interquartis (painéis C e D) de 8 animais em cada grupo. * $P < 0,05$ em relação aos grupos controle e falso operados e # em relação aos grupos avulsão basal e avulsão salina. Testes de Student Newman-Keuls e Mann-Whitney.

7.4.3 Efeito do diclofenaco

A administração repetida de diclofenaco a exemplo do tratamento agudo não inibiu a hiperalgesia mecânica e a alodinia ao frio em ambas as patas traseiras dos ratos com avulsão do plexo braquial, (Figura 36 A-D).

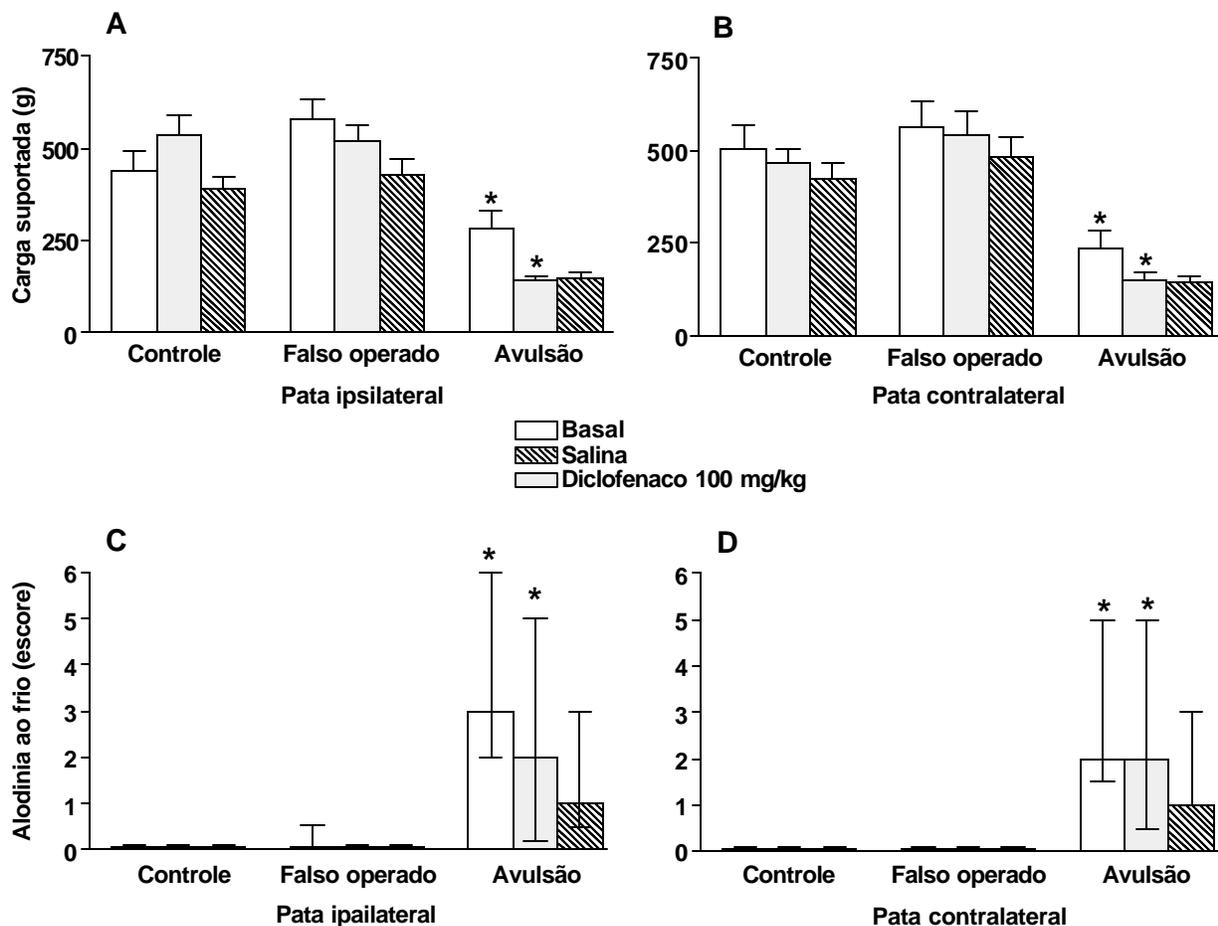


Figura 36: Efeitos causados pela administração repetida i.p. de diclofenaco (2 dias, 1 dose/dia) sobre a hiperalgesia (painéis A e B) e alodinia (painéis C e D), avaliados a partir do 20º dia após a cirurgia, nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito. Os dados são expressos como média + erro padrão da média (painéis A e B) e como a mediana mais os intervalos interquartis (painéis C e D) de 8 animais em cada grupo. * $P < 0,05$ em relação aos grupos controle e falso operados. Testes de Student Newman-Keuls e Mann-Whitney.

7.4.4 Efeito da dexametasona

A dexametasona administrada repetidamente não modificou os resultados obtidos após sua administração aguda. Nenhum efeito significativo foi observado sobre os comportamentos nociceptivos induzidos em ambas as patas traseiras pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial (Figura 37 A-D).

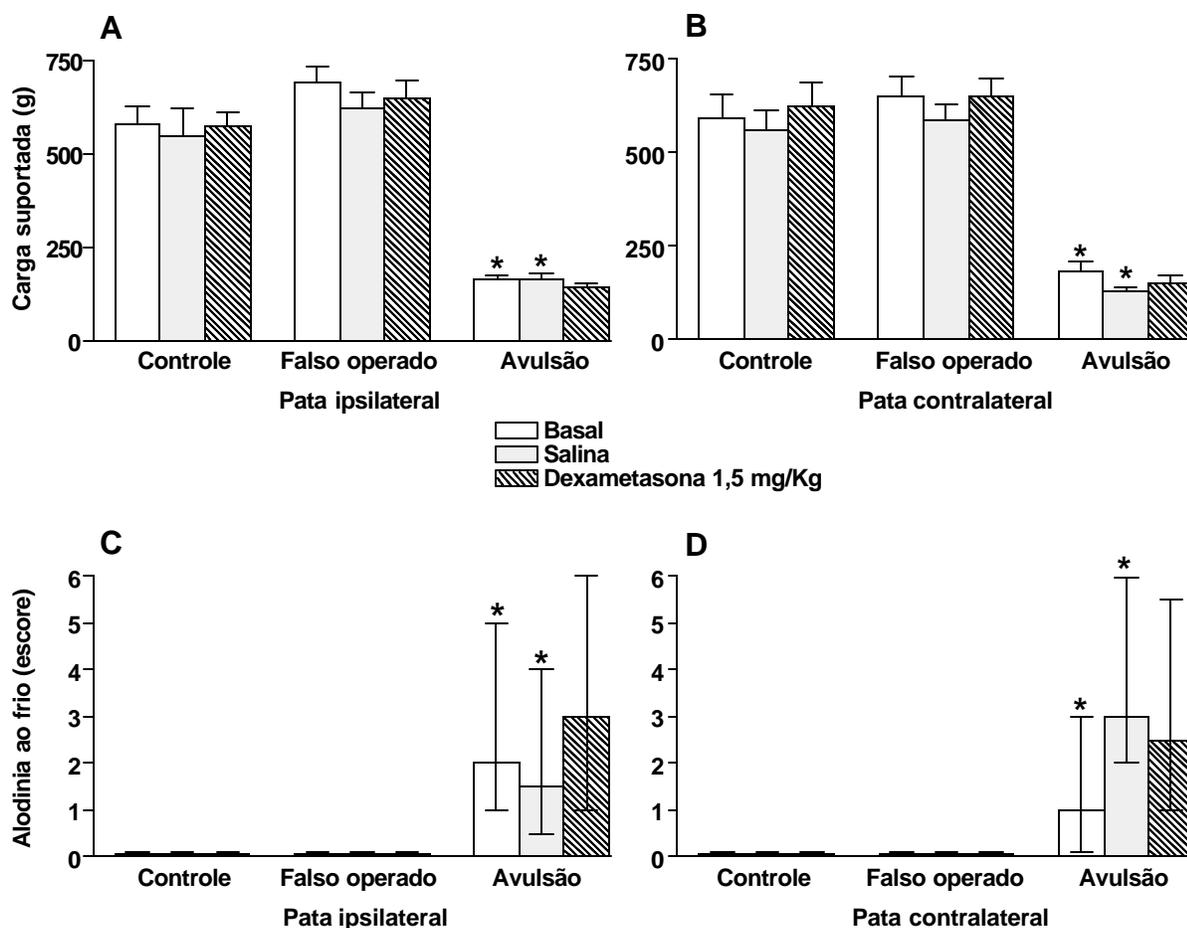


Figura 37: Efeitos causados pela administração repetida i.p. de dexametasona (2 dias, 1 dose/dia) sobre a hiperalgesia (painéis A e B) e alodinia (painéis C e D), avaliados a partir do 20º dia após a cirurgia, nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito. Os dados são expressos como média + erro padrão da média (painéis A e B) e como a mediana mais os intervalos interquartis (painéis C e D) de 8 animais em cada grupo. * $P < 0,05$ em relação aos grupos controle e falso operados. Testes de Student Newman-Keuls e Mann-Whitney.

7.4.5 Efeito da dipirona

A administração repetida de dipirona não modificou os resultados obtidos com a administração aguda. Nenhuma inibição significativa foi observada sobre a hiperalgesia mecânica ou sobre a alodinia ao frio induzida em ambas as patas traseiras pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial (Figura 38 A-D).

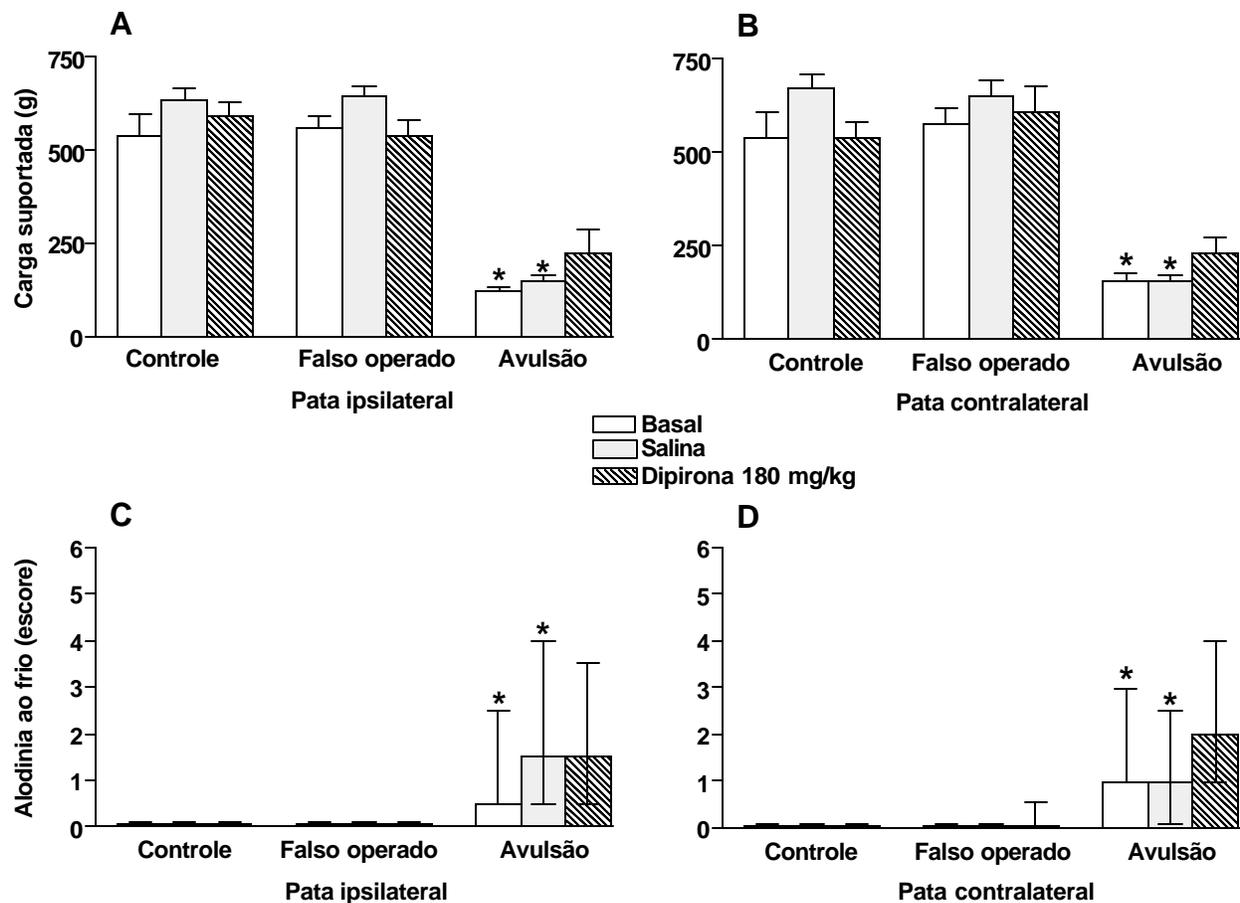


Figura 38: Efeitos causados pela administração repetida de dipirona i.p. (3 dias, 2 doses/dia) sobre a hiperalgesia mecânica (painéis A e B) e alodinia ao frio (painéis C e D), avaliados a partir do 20º dia após a cirurgia, nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito. Os dados são expressos como a média + erro padrão da média (painéis A e B) e como a mediana mais os intervalos interquartis (painéis C e D) de 8 animais em cada grupo. * $P < 0,05$ em relação aos grupos controle e falso operados. Testes de Student Newman-Keuls e Mann-Whitney.

7.5 Medida dos Níveis de Citocinas

A lesão medular pode acarretar alteração dos níveis de diversas citocinas. Os resultados obtidos na dosagem de citocinas estão representados nas tabelas 3, 4, 5 e 6. Após a análise por regressão linear os resultados foram analisados por ANOVA de uma via. Nenhuma diferença significativa foi encontrada nos níveis de

IL-1 β , TNF- α , IL-10 e IL-6 entre as amostras de medula espinhal dos animais pertencentes aos grupos controle, falso operados e submetidos a avulsão do tronco inferior do plexo braquial.

Tabela 3: Níveis de IL-1 β na medula espinhal de animais controle, falso operados e submetidos a avulsão do tronco inferior do plexo braquial de ratos, 5, 20 e 45 dias após o procedimento cirúrgico, medidos em pg/mg de tecido. Os dados são expressos como a média + erro padrão da média.

Dia após a cirurgia	5°	20°	45°
Controle	40,82 \pm 11,03	indetectável	52,44 \pm 6,29
Falso operado	59,60 \pm 11,19	0,40 \pm 0,40	39,6 \pm 6,91
Avulsão	30,57 \pm 5,56	indetectável	36,52 \pm 5,82

Tabela 4: Níveis de TNF- α na medula espinhal de animais controle, falso operados e submetidos a avulsão do tronco inferior do plexo braquial de ratos, 5, 20 e 45 dias após o procedimento cirúrgico, medidos em pg/mg de tecido. Os dados são expressos como a média + erro padrão da média.

Dia após a cirurgia	5°	20°	45°
Controle	54,94 \pm 7,10	19,6 \pm 8,23	62,17 \pm 11,96
Falso operado	69,13 \pm 10,62	27,87 \pm 11,02	59,96 \pm 11,20
Avulsão	49,02 \pm 9,22	22,03 \pm 9,22	56,55 \pm 7,39

Tabela 5: Níveis de IL-10 na medula espinhal de animais controle, falso operados e submetidos a avulsão do tronco inferior do plexo braquial de ratos, 5, 20 e 45 dias após o procedimento cirúrgico, medidos em pg/mg de tecido. Os dados são expressos como a média + erro padrão da média.

Dia após a cirurgia	5°	20°	45°
Controle	47,90 ± 9,10	9,0 ± 5,02	59,88 ± 11,51
Falso operado	55,90 ± 11,03	8,95 ± 8,0	65,10 ± 10,37
Avulsão	40,80 ± 8,86	4,74 ± 3,84	55,35 ± 7,17

Tabela 6: Níveis de IL-6 na medula espinhal de animais controle, falso operados e submetidos a avulsão do tronco inferior do plexo braquial de ratos, 5, 20 e 45 dias após o procedimento cirúrgico, medidos em pg/mg de tecido. Os dados são expressos como a média + erro padrão da média.

Dia após a cirurgia	5°	20°	45°
Controle	47,89 ± 9,05	9,01 ± 9,01	59,88 ± 11,05
Falso operado	55,89 ± 11,03	8,95 ± 8,95	65,10 ± 10,36
Avulsão	40,80 ± 8,86	4,74 ± 5,14	55,35 ± 7,17

7.6 Fatores de Crescimento Neural

Os anticorpos anti-NGF, anti-BDNF e anti-GDNF aplicados localmente reverteram de modo significativo tanto a hiperalgesia mecânica quanto a alodinia ao frio induzidas pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial de rato (Figura 39 A-D).

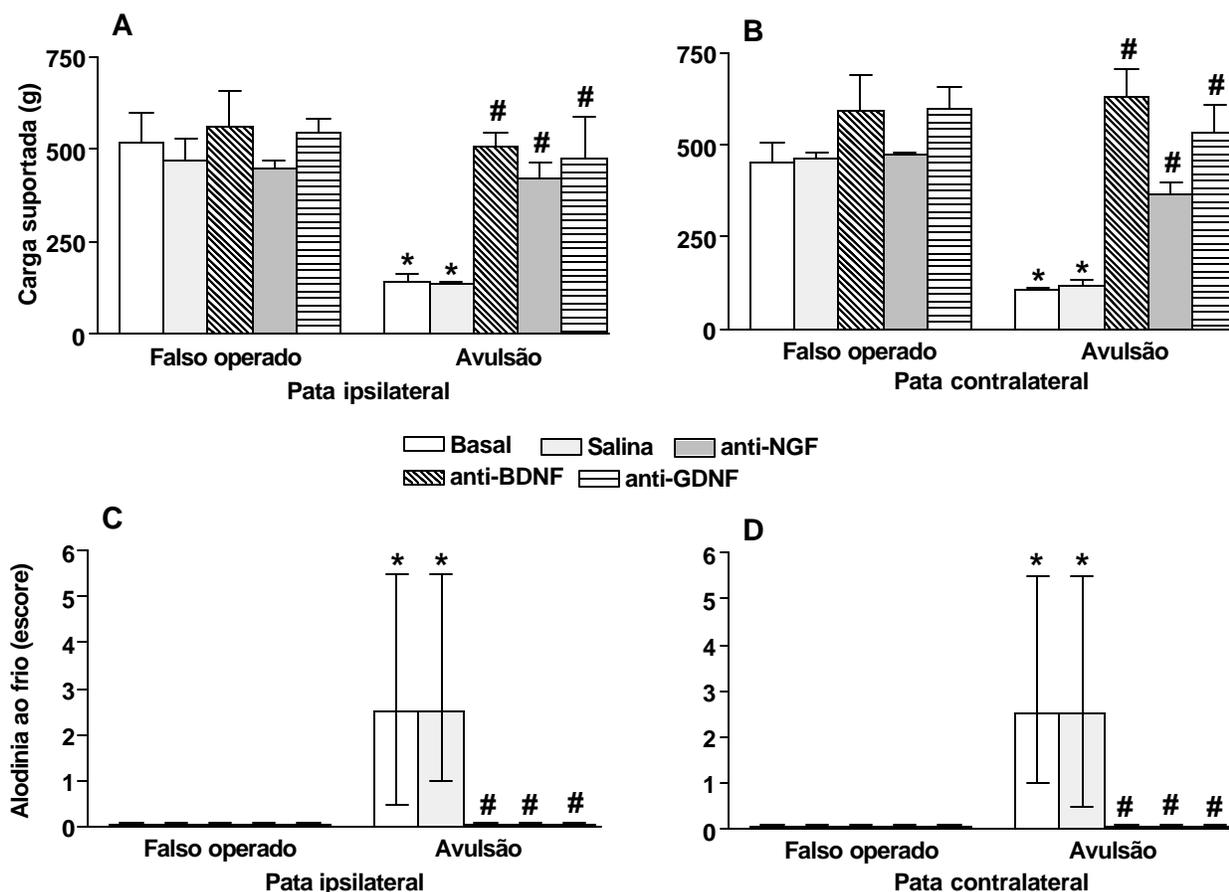


Figura 39: Efeitos causados pela aplicação local de anticorpos anti-NGF, anti-BDNF e anti-GDNF sobre a hiperalgesia mecânica (painéis A e B) e alodinia ao frio (painéis C e D), avaliados a partir do 20º dia após a cirurgia, nas patas posteriores de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial direito. Os dados são expressos como a média + erro padrão da média (painéis A e B) e como a mediana mais os intervalos interquartis (painéis C e D) de 4 animais em cada grupo. * $P < 0,05$ em relação aos grupos falso operados e # em relação aos grupos avulsão basal e avulsão salina. Testes de Student Newman-Keuls e Mann-Whitney.

8. DISCUSSÃO

Como já comentado na introdução desta tese, em que pese os avanços recentes ocorridos para a compreensão dos mecanismos envolvidos na gênese da dor neuropática, seu tratamento é na atualidade, um grande desafio que vai exigir esforços conjuntos de pesquisadores experimentais e clínicos. Várias evidências experimentais mostram que a dor neuropática envolve não somente a transdução de vários estímulos nociceptivos (calor, frio, agentes químicos e pressão dentre outros) mas também respostas emocionais e cognitivas em nível cerebral. A transição entre a dor fásica (curta duração) e a dor persistente (crônica) envolve mecanismos complexos no nível da lesão (neurônio sensorial primário) e também no sistema nervoso central (medula espinhal e encéfalo). Diante desta complexidade, muitas drogas atualmente usadas no tratamento da dor neuropática apresentam eficácia moderada ou mesmo paliativa, e em contraposição produzem vários efeitos indesejáveis para os pacientes. Em função de suas diferentes etiologias e principalmente devido a sua complexidade, que envolve desde lesão ou trauma tecidual, mudanças metabólicas ou nutricionais, doenças virais, isquemias, neurotoxicidade por ação de drogas, os modelos experimentais atualmente disponíveis para o estudo da dor neuropática certamente não representam a totalidade das suas manifestações clínicas. Além disso, as relações entre as diferentes etiologias da dor neuropática e a eficácia do tratamento com os medicamentos disponíveis são ainda pouco compreendidas. É provável que existam importantes variações entre as diversas origens da dor neuropática e as

respostas observadas na clínica entre os pacientes. É fato bem conhecido que pacientes diagnosticados com os mesmos sintomas clínicos de dor neuropática, respondem de maneira diversa aos medicamentos disponíveis para o tratamento. Assim, o estabelecimento de novos modelos experimentais que mimetizem, pelo menos em parte, as dores neuropáticas persistentes é ainda necessário.

O presente estudo foi desenvolvido com o propósito de contribuir para a modulação farmacológica de mais um modelo de dor neuropática causado pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial em ratos. Nossos resultados claramente indicam que a lesão do plexo braquial produz hiperalgesia mecânica e alodinia mecânica e térmica ao frio de longa duração (até 90 dias) manifestada em ambas as patas posteriores dos animais, sem no entanto, produzir hiperalgesia térmica ao calor ou autotomia. Este modelo de dor mimetiza alguns dos principais sintomas observados clinicamente para as dores neuropáticas e, portanto, poderia ser útil para o estudo dos mecanismos envolvidos nesta doença e também para o estudo de novas alternativas terapêuticas para o tratamento da dor neuropática, especialmente aquela decorrente das lesões do plexo braquial, freqüentemente observada em pacientes acidentados.

Existem evidências clínicas mostrando que de todos os tipos de dor associada com lesão de nervos periféricos, a dor decorrente das lesões por tração é a mais severa, freqüentemente de caráter persistente, além de ser a mais resistente aos tratamentos atualmente disponíveis (BIRCH e PARRY, 1998). Portanto, os resultados do presente estudo sugerem que este modelo experimental de dor pode ser útil no entendimento dos mecanismos associados com a neuropatia do plexo braquial incluindo a hiperalgesia mecânica e a alodinia.

Além disso, este modelo de dor neuropática poderia ser de interesse para o desenvolvimento de novas drogas analgésicas clinicamente relevantes para o tratamento das neuropatias, especialmente aquelas relacionadas ao plexo braquial.

Apesar dos recentes avanços nas pesquisas relacionadas ao tratamento da dor neuropática e dos vários modelos de dor neuropática desenvolvidos em roedores nos últimos anos, atualmente os mecanismos envolvidos na neuropatia periférica ainda são pouco conhecidos. Sabe-se que vários mecanismos neurobiológicos potenciais podem contribuir para a patogênese da dor neuropática, e que vários mecanismos atuando em diferentes sítios, isoladamente ou em associação podem contribuir para explicar as alterações complexas presentes na dor neuropática (DEVOR e SELTZER, 1999; ESCHENFELDER, 2000; SCHOLZ, 2002).

Tem sido proposto que as fibras aferentes sensitivas após sofrerem lesões tornam-se mais sensíveis para estímulos mecânicos, químicos e, em alguns casos, para estímulos térmicos (TRACEY e WALKER, 1995; THEODOSIOU et al., 1999; WOOLF e MANNION, 1999). Evidências experimentais recentes sugerem que as lesões nervosas determinam alterações na medula espinhal causando aumento na sensibilidade dos neurônios do corno dorsal da medula espinhal. Além disso, alterações de receptores e nos canais iônicos, tais como a super expressão de adrenoreceptores, de canais de cálcio e de sódio, a redução do número de canais de potássio ou a liberação de mediadores neuroativos têm sido também observadas na gênese da dor neuropática (WALLACE, 2001; ZIMMERMANN, 2001; SAH et al., 2003; ERICHSEN et al.,

2003; MENDELL e SAHENK, 2003; McCALLUM, et al., 2003; LoGRASSO e McKELVY, 2003). Ademais, tem sido mostrado que muitos mediadores inflamatórios liberados após a lesão das fibras sensitivas podem colaborar para o estabelecimento e a manutenção da dor neuropática (CLATWORTHY et al., 1995; WAGNER et al., 1998; SYRIATOWICZ et al., 1999).

Existem também evidências experimentais recentes indicando que alterações centrais pós-sinápticas ocorridas na medula espinhal parecem ser necessárias para a indução e a manutenção da alodinia (FIELD et al., 1999). Os mecanismos associados com a alodinia mecânica parecem envolver a sensibilização das fibras sensitivas não mielinizadas do tipo C. Entretanto, evidências recentes apontam para uma maior contribuição das fibras mielinizadas de maior diâmetro do tipo A β , que transmitem estímulos mecânicos de baixo limiar e alta frequência (LEUNG et al., 2001). Por outro lado, após a sensibilização central de neurônios da medula espinhal induzida pela lesão, fibras A β de baixo limiar e grande diâmetro, crescem para dentro da lâmina II do corno dorsal e uma área que normalmente recebe apenas informações nocivas transmitidas pelas fibras C e A δ , passa a receber informações de estímulos táteis não nocivos, tornando-se portanto, capaz de gerar dor (KOLTZENBURG et al., 1992; DECOSTERD e WOOLF, 2000; VRINTEN et al., 2001). O crescimento de fibras A β dentro da lâmina II do corno dorsal tem sido claramente observado após a axotomia do nervo ciático, ligadura parcial ou constrição crônica do nervo ciático (LEKAN et al., 1996; SHORTLAND et al., 1997; NAKAMURA e MEYERS, 1999). Tem sido também proposto que a estimulação de fibras A β pode ativar reflexos de

retirada para estímulos mecânicos previamente inócuos, possivelmente pela ativação de neurônios de segunda ordem medulares sensibilizados (MALMBERG e BASBAUM, 1998). Tem sido também proposto que as alterações do corno dorsal da medula espinhal incluem a perda de mecanismos inibitórios interneuronais ou redução na expressão de receptores e/ou transmissores (WOOLF e WALL, 1982; SUGIMOTO et al., 1990; NOGUCHI et al., 1995).

A hiperalgesia é provavelmente resultante da sensibilização central de neurônios nociceptivos na medula espinhal em decorrência de estímulos aferentes nociceptivos (TREEDE et al., 1992). Isto sugere que a inibição da atividade das fibras C poderia bloquear todas as formas de alodinia e hiperalgesia. Entretanto, os resultados do presente estudo indicam que este pode não ser o a situação observada na dor neuropática induzida pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial. Além disso, a degeneração Walleriana das fibras nervosas que compõe o tronco inferior do plexo braquial pode alterar as regiões circunvizinhas às fibras nervosas intactas próximas da lesão. As interações entre as fibras nervosas intactas e em degeneração poderiam também contribuir para o desenvolvimento da hiperalgesia mecânica de longa duração observada no presente estudo. Várias evidências experimentais sugerem que a degeneração Walleriana pode contribuir através de diferentes mecanismos para o desenvolvimento da dor neuropática (CAMPBELL, 2001). Tem sido demonstrado ainda que a degeneração Walleriana após axotomia, determina aumento local de citocinas, do fator de crescimento neural (LI, et al. 2000) e de mediadores inflamatórios que podem afetar nociceptores intactos e fibras aferentes. Os mesmos são transportados retrogradamente produzindo sensibilização de neurônios do corno dorsal da

medula (KHALIL e HELME, 1999; SWEITZER et al., 1999; LI, et al. 2000). Desta forma, é possível sugerir que na avulsão do tronco inferior do plexo braquial, a acentuada hiperalgesia mecânica e alodinia de longa duração observada em ambas as patas traseiras, sejam resultantes do processamento anormal da informação sensorial mediada pela sensibilização da medula espinhal através de diferentes mecanismos.

Estudos recentes utilizando técnicas de eletrofisiologia, farmacologia e de biologia molecular permitiram evidenciar que as ações nociceptivas causadas pela exposição à capsaïcina, uma substância natural encontrada nas plantas do gênero *Capsicum* origina-se pela ativação de receptor próprio acoplado a um canal iônico não seletivo denominado de receptor vanilóide (TRPV1). Além da capsaïcina esse receptor é ainda sensível a ativação pelo calor (temperatura > 43 °C), baixo pH (< 6,2) e por algumas substâncias endógenas incluindo, a anandamida e vários derivados da lipoxigenase (CATERINA e JULIUS, 2001). O TRPV1 é seletivamente expresso em fibras aferentes primárias de pequeno diâmetro, principalmente do tipo C, e uma vez ativado produz influxo iônico de cálcio e em menor grau de sódio responsável pela rápida produção de dor espontânea, hiperalgesia e alodínia em humanos e animais experimentais (SZALLASI e BLUMBERG, 1999). Assim, o receptor vanilóide funcionaria como um integrador molecular de estímulos químicos e físicos para a produção da dor (ver para revisão ver JULIUS e BASBAUM, 2001; CATERINA e JULIUS, 2001). Além de seu efeito nociceptivo, existem vários relatos na literatura demonstrando que devido ao fenômeno de dessensibilização, a exposição repetitiva à capsaïcina causa analgesia prolongada, e dessa forma vem sendo utilizada no tratamento de alguns

tipos de dor (SZALLASI E BLUMBERG, 1999). Além disto, o tratamento de ratos durante o período neonatal com capsaïcina produz neurotoxicidade e degeneração seletiva das fibras não mielinizadas do tipo C polimodais (que respondem aos estímulos mecânicos, químicos e ao calor) e em menor grau de fibras parcialmente mielinizadas do tipo A δ (sensíveis a estímulos mecânicos e ao calor) (ver para revisão HOLZER, 1991). A degeneração de fibras aferentes produzida pelo tratamento de ratos neonatos com capsaïcina reduz o teor de neuropeptídeos incluindo a substância P e o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), além da expressão do TRPV1 nos gânglios da raiz dorsal, medula espinhal e no gânglio trigêmio ou ainda no sistema urinário, traquéia e pele (SZALLASI e BLUMBERG 1999; CATERINA e JULIUS 2001, ANDRÉ et al., 2004). Desta forma, o tratamento de animais neonatos com capsaïcina é uma importante ferramenta no estudo das fibras e mediadores envolvidos na gênese e manutenção da dor.

Os resultados do presente estudo mostram que o tratamento neonatal com capsaïcina não foi capaz de alterar a hiperalgesia mecânica observada nos animais após lesão do tronco inferior do plexo braquial. Esses resultados são de certa maneira inesperados uma vez que estudos recentes sugerem que os receptores vanilóides estão aumentados em animais portadores de dor neuropática e que antagonistas seletivos dos receptores vanilóides são eficazes em prevenir a hiperalgesia observada na dor neuropática em animais (FUKUOKA et al., 2002; POMONIS et al. 2003; WALKER et al. 2003). Porém, em modelos de neuropatia causada pela lesão do nervo ciático o tratamento neonatal com

capsaicina foi capaz de prevenir o desenvolvimento de hiperalgesia térmica, sem no entanto, afetar o desenvolvimento de hiperalgesia mecânica, sugerindo neste caso que a hiperalgesia mecânica seja mediada por fibras mielinizadas, enquanto que a hiperalgesia térmica parece envolver preferencialmente as fibras nociceptivas sensíveis ao calor (SHIR e SELTZER, 1990; TRACEY et al., 1995).

Além do calor, o frio também pode produzir ativação de subtipos específicos de fibras aferentes primárias do tipo C e A δ , especialmente aquelas insensíveis à capsaicina (MICHAELIS et al., 1999; REEH, 1986; REID et al., 2002). A sensibilidade ao frio é dependente de receptores específicos encontrados em neurônios sensoriais de pequeno diâmetro. Atualmente são conhecidos dois destes receptores, chamados de TRPM8 e o ANKTM1 (McKEMY et al., 2002; PELER et al., 2002; STORY et al., 2003). O TRPM8 é ativado pelo resfriamento leve (~ 23 °C) enquanto que o ANKTM1 é ativado por temperaturas mais baixas. Curiosamente, os ratos dos grupos controle ou falso operados pré tratados com capsaicina durante o período neonatal apresentaram comportamento sugestivo de alodinia ao frio, possivelmente determinado por aumento na expressão de receptores para o frio. A expressão destes receptores parece ser regulada pelo NGF (STORY et al., 2003). De maneira interessante, o tratamento neonatal com capsaicina causou aumento nos níveis teciduais de NGF nas patas traseiras de ratos adultos (SAADE et al., 2002). Assim, estudos adicionais devem ser realizados para elucidar os possíveis mecanismos envolvidos nesta resposta.

Além disso, outros sistemas também parecem estar envolvidos na hipersensibilidade dolorosa observada nas neuropatias. Por exemplo, estudos

recentes têm demonstrado que agonistas seletivos de receptores canabinóides do tipo CB₂ são efetivos em prevenir a dor neuropática persistente em animais (IBRAHIM et al., 2003; ZHANG et al., 2003). Assim, estudos subseqüentes devem ser realizados para demonstrar a possível contribuição desses receptores na dor neuropática causada pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial em ratos.

Vários estudos têm demonstrado a diminuição bilateral no limiar de retirada da pata traseira após lesão unilateral de nervo periférico (CHACUR et al., 2001). Seltzer e colaboradores demonstraram a presença de alodinia mecânica contralateral, cuja resposta iniciou uma hora após a lesão ipsilateral, fenômeno que persistiu por cinquenta e quatro dias (SELTZER et al., 1990). Takaishi e colaboradores (1996) também relataram que no modelo de ligação do nervo ciático houve diminuição do limiar de retirada da pata contralateral que variou entre uma e 16 semanas. Foi também relatada que a constrição de nervo periférico diminuiu a latência de retirada da pata contralateral no teste de Randall e Selitto (YU et al., 1996). Possivelmente as primeiras indicações de que a informação sensorial ipsilateral pode influenciar o processamento contralateral, foram feitas por Culberson e colaboradores (1979) e por Light e Perl (1979) que relataram que terminais centrais de fibras aferentes primárias podem ser projetados para o corno dorsal contralateral (LIGHT e PERL, 1979; PITCHER et al., 1999). No modelo de constrição do nervo ciático observa-se uma expressão bilateral dos chamados neurônios negros, que resultam da degeneração transináptica subseqüente à lesão unilateral do nervo na lâmina superficial do corno dorsal da medula lombar. Além disso, neurônios gabaérgicos que normalmente são encontrados na lâmina superficial no corno dorsal lombar sob

condições normais diminuíram significativamente, tanto na pata ipsilateral quanto na contralateral após este tipo de lesão (PITCHER, 1999). Clinicamente a dor associada com causalgia em humanos algumas vezes pode se manifestar no lado oposto á lesão (PITCHER et al., 1999). Portanto, é possível sugerir que o processamento sensorial contralateral ao nervo lesado seja relacionado a alterações dos mecanismos sensoriais periféricos e centrais. Por outro lado, têm sido observadas inúmeras mudanças ao longo do neuro-eixo, desde a pata traseira até o tronco cerebral que podem contribuir para a manutenção da alodinia e da hiperalgesia após lesão de nervo periférico (MARTIN e EISENACH, 2001).

Após a avulsão unilateral do tronco inferior do plexo braquial, é provável que inúmeras conexões com as vias inibitórias descendentes são também afetadas e muitas delas possuem projeções contralaterais. A liberação da inibição tônica pode produzir responsividade bilateral aumentada, abaixo ou acima da lesão nervosa (HAINS et al., 2003). Tem sido demonstrado que no lado contralateral existem neurônios comissurais que se conectam de um lado ao outro da medula espinhal (GWAK et al., 2003) e fibras aferentes primárias que cruzam a linha média, podendo dessa forma, explicar o surgimento de hiperalgesia e alodinia contralateral à lesão.

Estas alterações neuroanatômicas e neurofisiológicas podem ser responsáveis pelos chamados sinais extraterritoriais da dor neuropática, que se desenvolvem em regiões anatomicamente isoladas do nervo lesado, implicando na existência de mecanismos que não são dependentes de um efeito direto do nervo lesado para provocar sinais de dor neuropática. Os sinais observados após a lesão do tronco inferior do plexo braquial de rato possivelmente decorrem da

atividade espontânea persistente de nervos aferentes lesados que também determinam dor neuropática extraterritorial (MALAN et al., 2000).

Quando comparado com outros modelos de neuropatia periférica, a avulsão do tronco inferior do plexo braquial de rato apresenta algumas vantagens evidentes: (i), a autotomia que é relatada em outros modelos (LOMBARD et al., 1979, para revisão, ver SELTZER, 1995), não foi observada após avulsão do tronco inferior do plexo braquial. Este tipo de comportamento foi evitado fazendo a avulsão apenas do tronco inferior do plexo braquial, pois em estudo preliminar demonstramos que quando todo o plexo braquial era avulsionado os animais desenvolviam autotomia de toda a pata lesada; (ii), a neuropatia pode ser detectada em sítios distantes da lesão, tanto na pata ipsilateral como na contralateral, ao contrário do que é observado nos modelos de lesão por constrição crônica, ligação do nervo ciático ou neurectomia espinhal lombar; (iii), o modelo de avulsão do tronco inferior do plexo braquial não resulta em hiperalgesia térmica ao calor, que é freqüentemente observada em outros modelos, indicando que provavelmente esse tipo de lesão não altera o limiar de nociceptores que captam estímulos térmicos ao calor. No presente estudo, para avaliar a hiperalgesia térmica foi usada uma intensidade de estímulo já padronizada na literatura para ambos os testes realizados. Experimentos iniciais demonstraram que animais pré-tratados com CFA e submetidos a estas intensidades de estímulo térmico, desenvolveram hiperalgesia térmica marcante medida 6 horas após a sua aplicação. Esses resultados confirmam que os estímulos utilizados no presente estudo não foram supra limiares e que a avulsão do tronco inferior do plexo braquial de rato não provocou hiperalgesia térmica nas patas traseiras dos

animais; (iv), a retirada da pata após aplicação de acetona é sinal de alodinia ao frio e não meramente resposta resultante do contato mecânico com o fluido, uma vez que a aplicação de água em temperatura neutra não determinou nenhuma resposta, sugerindo que a evaporação da acetona é mais importante do que o próprio contato do fluido com a pata do animal; (v), em relação à intensa e acentuada hiperalgesia e alodinia e à perda de função das patas anteriores observada nos animais, nenhum prejuízo da atividade motora foi observada na comparação dos grupos no teste do campo aberto. Além disso, a análise da atividade funcional das patas anteriores usando o teste de apreensão revelou que, quando comparado com ratos controles ou falso operados, a avulsão, a ligadura e a constrição do tronco inferior do plexo braquial causaram redução acentuada na capacidade de apreensão no quinto dia após a lesão do nervo. Entretanto, o prejuízo da atividade foi gradualmente reduzido 20, 30 e 90 dias após a cirurgia, apenas para os grupos com lesão por ligadura e constrição, enquanto que a alodinia mecânica e ao frio ainda permaneceram significativamente aumentadas no grupo avulsão durante todo o período de avaliação. Portanto, a avulsão do tronco inferior do plexo braquial causa paralisia permanente nos animais, caracterizada pela incapacidade de realizar extensão das extremidades da pata (dedos) lesada sem entretanto, impedir que o animal utilize a mesma para sua locomoção.

Este bloco de resultados sugere que a avulsão do tronco inferior do plexo braquial em ratos constitui um novo e interessante modelo que é bastante reproduzível para o estudo da dor neuropática persistente. A hiperalgesia mecânica acentuada e de longa duração, a alodinia mecânica ao frio observada

nas patas traseiras ipsilateral e contralateral após a avulsão do tronco inferior do plexo braquial, sem nenhuma evidência de hiperalgesia térmica (calor), se correlacionam em algum grau com sinais observados em pacientes que sofrem de síndromes de dor neuropática.

A partir da padronização do modelo de avulsão do tronco inferior do plexo braquial de rato, decidimos avaliar a sua sensibilidade farmacológica frente a várias classes de drogas com propriedades analgésicas clinicamente relevantes sobre a hiperalgesia mecânica e a alodinia ao frio de longa duração. Os resultados obtidos mostram que a morfina administrada agudamente foi capaz de prevenir de maneira significativa tanto a hiperalgesia mecânica quanto a alodinia ao frio nas patas traseiras dos animais com lesão do tronco inferior do plexo braquial. Existem algumas controvérsias relativas a eficácia dos analgésicos opióides no tratamento da dor neuropática na clínica (IDANPAAN-HEIKKILA e GUILBAUD, 1999; LaBUDA e FUCHS, 2000; MARTIN e EISENACH, 2001; DICKENSON et al., 2002; McCLEANE, 2003). Situações similares têm sido encontrados em estudos com animais em relação a eficácia da morfina no tratamento de comportamentos sugestivos de dor após lesão experimental de nervo periférico (BACKONJA et al., 1995; LEE et al., 1995; HAO et al., 2000). Tem sido bem documentado que a eficácia dos opióides no tratamento da dor neuropática varia em decorrência da etiologia da lesão do nervo (SAH et al., 2003), das diferenças inter-individuais na extensão da lesão do nervo, da dose utilizada bem como em função da via de administração empregada (MARTIN e EISENACH, 2001; PERTOVAARA e WEI, 2003; DICKENSON et al., 2002). Além disso, estudos pré-clínicos demonstraram que fatores genéticos relacionados aos animais também podem estar envolvidos

nas diferenças observadas em relação às respostas antinociceptivas da morfina (PARK et al., 2000). A administração de morfina ou de drogas opióides relacionadas inibe tanto a hiperalgesia térmica quanto a alodinia ao frio na lesão por constrição crônica do nervo ciático (modelo de BENNETT e XIE), a hiperalgesia mecânica e térmica na lesão dos nervos espinhais L5 e L6 (modelo de CHUNG), além de causar redução parcial dos sintomas da neuropatia diabética (CATHELINE et al., 2001; ERICHSEN e BLACKBURN-MUNRO, 2002; BEGON et al., 2002; PERTOVAARA e WEI, 2003). Administrada sistemicamente a morfina pode causar antinocicepção devido a múltiplas ações em vários níveis do sistema nervoso, incluindo ações nos nervos periféricos, no corno dorsal da medula espinhal, além de vários sítios no tronco cerebral e prosencéfalo (PERTOVAARA e WEI, 2003). Assim, na dor neuropática, a diminuição da eficácia da morfina na medula espinhal pode ser parcialmente compensada por sua ação em outros sítios como a substância cinzenta periaquedutal ou na periferia (PERTOVAARA e WEI, 2003).

Outro resultado importante do presente estudo foi a demonstração da participação da transmissão nitrérgica na hiperalgesia e na alodinia induzidas pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial. O óxido nítrico é uma molécula livre gasosa sintetizada pela enzima óxido nítrico sintase a partir do aminoácido L-arginina (CIZKOVA, et al., 2002). O aumento na expressão da óxido nítrico sintase é considerado como o principal responsável pela produção de óxido nítrico. A isquemia, o infarto e o trauma são situações que induzem aumento de sua expressão em áreas de lesão ou de necrose celular (GORDH et al., 1998). A administração aguda de L-NAME, um inibidor da óxido nítrico sintase, reverteu

totalmente a hiperalgesia mecânica e a alodinia ao frio induzidas pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial em ratos. Resultados semelhantes foram obtidos quando os animais foram tratados com o mesmo inibidor em menor dose (30 mg/kg), demonstrando que a dor neuropática induzida pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial em ratos foi bastante sensível ao tratamento com inibidor da síntese de óxido nítrico, sugerindo fortemente que a via mediada pelo óxido nítrico tem papel preponderante neste modelo de dor. O mecanismo pelo qual o óxido nítrico pode gerar mecanossensibilidade ainda não é completamente conhecido, mas parece estar relacionado com mudanças na cascata de segundos mensageiros que influênciam a excitabilidade de aferentes primários. Dados recentes da literatura demonstram que inibidores da óxido nítrico sintase são efetivos em reduzir a dor através de um mecanismo espinal que envolve a ativação da guanilato ciclase (CIZKOVA, et al., 2002; SOUZA, 2001). Assim, o óxido nítrico pode ativar e sensibilizar fibras aferentes primárias causando diretamente hiperalgesia e alodinia (WIESENFELD-HALLIN et al., 1993; HOLTHUSEN e ARNDT, 1995; CIZKOVA, et al., 2002). Além disso, o óxido nítrico pode atuar como mediador secundário da bradicinina, ou promover a formação de prostanoídes através da ativação das ciclooxigenases (SALVEMINI et al., 1993) e portanto contribuir para a excitação das fibras C (DEVOR et al., 1992). De fato, o óxido nítrico tem sido implicado no controle do desenvolvimento neuronal e na plasticidade sináptica no sistema nervoso central, como também na nocicepção (FURST, 1999; CIZKOVA, 2002). O óxido nítrico participa ainda na modulação das respostas nociceptivas de neurônios do corno dorsal da medula espinal em estados hiperalgésicos associados ao processo inflamatório após injeção de

formalina ou em modelos de dor neuropática (NIEDBALA et al., 1995). A administração local de L-NAME foi capaz de suprimir os comportamentos relacionados a dor neuropática, sustentando a hipótese de que a via mediada pelo óxido nítrico pode estar envolvida na geração de dor local (THOMAS et al., 1996).

Também relevantes foram os resultados demonstrando que no modelo de neuropatia causada pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial de ratos, a clonidina foi efetiva em inibir a hiperalgesia mecânica e a alodinia ao frio nas patas traseiras tanto ipsi como contralateral. Os resultados obtidos após tratamento com clonidina apontam para um papel desta droga no sistema noradrenérgico e, particularmente para os adrenergoceptores- α_2 na hiperalgesia mecânica e na alodinia ao frio após avulsão do tronco inferior do plexo braquial. Dados da literatura têm mostrado que a clonidina foi efetiva em reduzir a hiperalgesia térmica e a alodinia ao frio nos modelos de constrição crônica ou de lesão parcial do nervo ciático. Curiosamente, a clonidina apresentou pouco ou nenhum efeito na neuropatia diabética (JEVTOVIC-TODOROVIC et al., 1998). Outros estudos demonstram que agonistas α_2 -adrenérgicos reduzem a alodinia tátil nos modelos de ligação de nervos espinhais e axotomia do nervo ciático (KONTINEN et al., 1998). Administrada sistemicamente a clonidina foi capaz de prevenir o desenvolvimento de hiperalgesia mecânica (KONTINEN et al., 1998). Estes resultados controversos podem ser estar relacionados a fatores como via de administração utilizada, pois a clonidina administrada por via intratecal ou epidural tem sido uma alternativa importante no tratamento de pacientes com dor neuropática (XU et al., 2000), embora o seu uso possa ser limitado pela depressão

cardiovascular e sedação como observado em experimentos com animais (SOARES DE MOURA et al., 2000; SOARES DE MOURA et al., 2001). A clonidina utilizada pela via epidural é aprovada para tratamento da dor neuropática resultante do câncer sendo efetiva em aproximadamente 50% dos pacientes refratários a administração epidural de opióides (MARTIN e EISENACH, 2001). Além disso, a participação dos nervos simpáticos na dor neuropática depende de fatores que tem funções não adrenérgicas. Os nervos simpáticos pós-ganglionares contêm não somente substâncias adrenérgicas, mas também outros neurotransmissores como ATP, acetilcolina, neuropeptídeo Y, galanina, somatostatina e vasopressina (PARK et al., 2000). Portanto, é possível que um ou mais agentes não adrenérgicos interfiram no mecanismo de ação de agonistas α_2 -adrenérgicos. Evidências recentes sugerem que a acetilcolina está envolvida no efeito analgésico da clonidina. Estudos morfológicos indicam que receptores α_2 e acetilcolina estão co-localizados no corno dorsal da medula espinhal. Além disso, a clonidina administrada por via intratecal aumenta a liberação de acetilcolina na medula espinhal, porém, não se sabe como os receptores colinérgicos estão mediando os efeitos da clonidina na dor neuropática (XU et al., 2000). Outros estudos têm demonstrado que a clonidina pode exercer seus efeitos antinociceptivos através da liberação de óxido nítrico (CHEN et al., 2000; SOARES DE MOURA et al., 2000; XU et al., 2000; SOARES DE MOURA et al., 2001). Tem sido ainda demonstrado que a ativação espinhal de receptores α_2 -adrenérgicos determina liberação de óxido nítrico e que o pré tratamento com inibidores da óxido nítrico sintase pode inibir o efeito da clonidina (CHEN et al., 2000). Este pode ser um possível mecanismo envolvido na ação analgésica de

agonistas do receptor α_2 na dor neuropática (XU et al., 2000). Entretanto, os receptores específicos que estão mediando estas ações não são conhecidos. Na medula espinhal são encontrados receptores colinérgicos nicotínicos e muscarínicos que participam da liberação de óxido nítrico mediada pela clonidina, sugerindo que estes receptores têm papel importante na analgesia induzida pela clonidina em modelo de dor neuropática (XU et al., 2000). Portanto, o preciso mecanismo de ação dos agonistas α_2 na dor neuropática não está ainda esclarecido.

A cetamina é uma droga usada clinicamente em anestesia geral. Além disso, a cetamina possui efeito anestésico local e atua como antagonista não competitivo do receptor glutamatérgico do tipo NMDA. Estudos experimentais e clínicos recentes ressaltam a participação de receptores NMDA na hiperalgesia e na alodinia de pacientes com dor neuropática e demonstram que antagonistas deste receptor como por exemplo a cetamina podem ter efeitos analgésicos (USHIDA et al., 2002; FITZGIBBON et al., 2002; BLOCK e HABERMEYER, 2003). No presente estudo observou-se que a cetamina, causou inibição significativa da hiperalgesia mecânica e da alodinia ao frio na dor causada pela lesão do tronco inferior do plexo braquial de ratos. Tem sido descrito que a cetamina foi efetiva em reduzir a hiperalgesia mecânica e térmica e a alodinia ao frio em vários modelos de dor neuropática, incluindo a constrição crônica do nervo ciático, a ligação parcial do nervo ciático, a lesão dos nervos L5 e L6 e a neuropatia diabética (QIAN et al., 1996; SONODA E OMOTE, 1998; FOX et al., 1999; PELISSIER et al., 2003). Após a administração periférica de um irritante ou

do início de uma artrite inflamatória ou seguindo a lesão nervosa, existe aumento na liberação medular de aminoácidos excitatórios, tais como aspartato e o glutamato. Estes achados sugerem que o glutamato atuando principalmente no receptor do subtipo NMDA exerce papel importante na regulação de informações aferentes e nas manifestações dolorosas após lesão nervosa ou tecidual (CHAPLAN et al., 1997; BLOCK e HABERMEYER, 2003; JORUM et al., 2003). Tem sido sugerido ainda que drogas capazes de bloquear o receptor NMDA, tais como a cetamina, o dextrometorfano, a memantina, ou a amantadina podem aliviar a dor neuropática (BLOCK e HABERMEYER, 2003; KVARNSTROM et al., 2003). Conforme os resultados observados neste estudo, tem sido demonstrado que antagonistas do receptor NMDA são efetivos em reduzir tanto a alodinia mecânica quanto a hiperalgesia térmica em modelos animais de dor neuropática (FUNDYTUS, 2001). A participação dos receptores NMDA na hiperalgesia e na alodinia resultam de intensa estimulação de fibras aferentes primárias, que ativam inicialmente os receptores de glutamato do tipo não NMDA localizados em neurônios pós sinápticos. A ativação dos mesmos produz remoção do bloqueio do íon magnésio do receptor NMDA, permitindo assim a abertura do canal iônico e o influxo de íons cálcio para o interior da célula. A entrada de cálcio no citoplasma da célula ativa uma cascata de segundos mensageiros incluindo enzimas levando a expressão de genes. Segundos mensageiros retrógrados resultantes desta cascata são importantes para a amplificação pré-sináptica da liberação de neurotransmissores, dentre os quais destaca-se o óxido nítrico e as prostaglandinas. Estes eventos são modulados pela ligação do receptor metabotrópico do glutamato à proteína G e pela ligação simultânea de peptídeos

neuromodulatórios liberados com glutamato de fibras aferentes primárias (CODERRE et al., 1993).

Dados da literatura indicam que a atividade alterada de canais iônicos (principalmente sódio ou cálcio), associada com potencial de ação ectópico, exerce importante papel em estados de dor neuropática (EGLÉN et al., 1999; BAKER e WOOD, 2001; NOVAKOVIC et al., 2001; VENERONI et al., 2003). Vários estudos têm relatado que bloqueadores de canais de sódio, incluindo alguns anticonvulsivantes, anestésicos locais e anti-arrítmicos, são capazes de aliviar a dor neuropática tanto em humanos como em modelos animais de dor persistente (di VADI e HAMANN, 1998; CHRISTENSEN et al., 2001).

A gabapentina é uma droga anticonvulsivante análoga ao ácido gama amino butírico que apresenta baixa toxicidade, e tem mostrado reduzir comportamentos característicos da dor neuropática. Estudos clínicos indicam que a gabapentina se constitui numa droga segura e promissora para o tratamento da dor neuropática (JAGUSTYN e ROMANIAK, 2001; COLOMBO et al., 2003; FENG et al., 2003; ARDID et al., 2003; SPRUCE et al., 2003). Estudos experimentais com ratos após lesão de nervo periférico têm demonstrado a eficácia da gabapentina em diversos modelos de dor neuropática (PAN et al., 1999; GUSTAFSSON et al., 2003; FEHRENBACHER, et al., 2003; SPRUCE et al., 2003). Os mecanismos pelos quais a gabapentina previne a dor persistente ainda precisam ser melhor esclarecidos, mas são provavelmente independentes da interação com os receptores GABA e/ou da sua captação ou degradação (BERTRAND et al., 2001; LANNEAU et al., 2001; MARTIN et al., 2002; BEYDOUN e BACKONJA, 2003) ou ainda com a interferência com canais de sódio voltagem

dependentes (BEYDOUN e BACKONJA, 2003). Porém, evidências recentes demonstram que a gabapentina interage especificamente com as subunidades $\alpha_2\delta$ de canais de cálcio sensíveis a voltagem (TODOROVIC et al., 2003) e inibe correntes de cálcio em neurônios cerebrais de rato (STEFANI et al., 2001). A consequência desta ligação não está clara, mas a ligação de alta afinidade desta droga com a subunidade $\alpha_2\delta$ parece estar relacionada com a potência anticonvulsivante e antinociceptiva da gabapentina, sugerindo um papel na modulação da excitação neuronal e na liberação resultante de neuropeptídeos (FEHRENBACHER, et al., 2003). Assim, a gabapentina parece ser ativa somente em tecidos previamente sensibilizados (FEHRENBACHER, et al., 2003), não tendo nenhum efeito sobre a nocicepção aguda (GUSTAFSSON et al., 2003). A gabapentina pode bloquear a sensibilização de neurônios de camadas profundas do corno dorsal medular sendo que seus efeitos anti-hiperalgésicos são possivelmente mediados por ação central (FIELD et al., 2000). Além disso, a gabapentina tem se mostrado efetiva em prevenir a hiperalgisia térmica (calor) e a alodinia mecânica no modelo de lesão por constrição crônica no rato (SPRUCE et al., 2003). Os resultados do presente estudo fornecem evidências convincentes indicando que na neuropatia induzida pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial em ratos, a gabapentina administrada oralmente, em dose única ou de modo repetido, reduziu de maneira importante a hiperalgisia mecânica e a alodinia ao frio nas patas traseiras ipsilateral e contralateral desses animais. Tais resultados confirmam e estendem os dados existentes na literatura indicando a eficácia da gabapentina em vários modelos de dor de origem neuropática.

Outro dado observado, no presente estudo foi o fato de que a administração de lidocaína reduziu a alodinia ao frio, mas no entanto, não foi capaz de interferir com a hiperalgesia mecânica induzida pela avulsão do plexo braquial, indicando que somente certos tipos de dor neuropática parecem sensíveis a administração sistêmica de lidocaína (MAO e CHEN, 2000). Além disso, outros estudos demonstram que a lidocaína administrada por via endovenosa inibe a hiperalgesia ao frio mais do que a resposta ao estímulo mecânico em indivíduos com dor neuropática (WALLACE et al., 2000). O mecanismo de ação pelo qual a lidocaína produz analgesia em modelos animais de dor neuropática não está ainda completamente esclarecido (SMITH et al., 2002). Acredita-se que o efeito analgésico da lidocaína seja, pelo menos em parte, decorrente do bloqueio de canais de sódio no nervo lesado. Vários subtipos de canais de sódio podem ser expressos diferentemente em neurônios sensoriais dependendo do ambiente fisiológico. Assim, doses baixas de lidocaína bloqueiam preferencialmente certos subtipos de canais de sódio. Em nosso estudo, pode-se sugerir que a lidocaína foi capaz de bloquear as despolarizações induzidas pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial, sem no entanto, alterar os canais de sódio envolvidos na sinalização fisiológica normal. A plasticidade na expressão de canais de sódio que contribuem para a hiperexcitabilidade de neurônios sensoriais após lesão nervosa parece envolver canais de sódio sensíveis ou resistentes a tetrodotoxina (PORRECA et al., 1999; VENERONI et al., 2003). A lidocaína é altamente lipossolúvel sendo capaz de atravessar rapidamente a barreira hematoencefálica, e dessa forma sua ação analgésica pode envolver mecanismos centrais. A potência da lidocaína em impedir a atividade ectópica é

maior para o corno dorsal do que para um neuroma, e em baixas concentrações ela pode inibir a excitação mediada por glutamato no corno dorsal da medula espinhal (SMITH et al., 2002)

Os antidepressivos tricíclicos têm sido as drogas mais estudadas para o alívio da dor neuropática, embora os resultados obtidos sejam controversos. Os antidepressivos mais efetivos no tratamento da dor são aqueles menos seletivos tais como a imipramina e a amitriptilina, cujos efeitos são provavelmente relacionados ao aumento dos níveis de noradrenalina e de serotonina, decorrentes do bloqueio das suas recaptações. Estes neurotransmissores bloqueiam as vias descendentes e conseqüentemente modulam a dor medular ou ainda podem apresentar efeito anestésico local por bloquear canais de sódio (VAN TULDER e KOES, 2001; PRIEST e HOGGART, 2002). O papel dos receptores da serotonina na medula espinhal é desconhecido, mas supõe-se que os antidepressivos que inibem seletivamente a recaptção de serotonina são menos efetivos do que aqueles que inibem ambas as monoaminas (DICKENSON et al., 2002). O mecanismo de ação antinociceptivo dos antidepressivos não está ainda bem conhecido, mas acredita-se que possa estar relacionado com a inibição da recaptção de monoaminas, antagonismo do receptor NMDA, bloqueio de canais de sódio, e estimulação da liberação de adenosina (MARTIN e EISENACH, 2001). Tem sido demonstrado que os antidepressivos exercem importante papel no tratamento da dor com origem na raiz nervosa, sendo a dose requerida menor do que aquela usada no tratamento da depressão (MARTIN e EISENACH, 2001; PRIEST e HOGGART, 2002). Ao contrário, o tratamento agudo com amitriptilina ou com desipramina não foi capaz de reduzir a alodinia mecânica estabelecida no

modelo descrito por Bennett e Xie (COOMBS et al., 1995) ou no modelo de Kim e Chung (JETT et al., 1997). Além disso, os antidepressivos apresentam eficácia moderada no tratamento da neuropatia diabética, na neuralgia pós herpética ou na distrofia simpática reflexa. Confirmando os dados acima mencionados, nossos resultados mostram que o tratamento agudo com imipramina não resultou em nenhuma redução significativa nos sinais comportamentais de dor neuropática persistente associada com a avulsão do tronco inferior do plexo braquial em ratos. Entretanto, o tratamento repetido foi capaz de reverter de modo significativo a alodinia ao frio, sugerindo que mecanismos distintos devem estar mediando as respostas de hiperalgesia mecânica e alodinia ao frio.

Dados da literatura mostram que os antiinflamatórios esteroidais e não esteroidais induzem antinocicepção em alguns modelos de dor neuropática em roedores (SYRIATOWICZ et al., 1999; ZHAO, 2000; MA et al., 2002). Os inibidores da ciclooxigenase parecem exercer seus efeitos analgésicos atuando preferencialmente na medula espinhal. A administração destes agentes por via intratecal tem sido utilizada para o tratamento das dores crônicas (MARTIN e EISENACH, 2001). Dentre eles, os inibidores seletivos da COX-2 têm sido utilizados como alternativa para o tratamento de pacientes, pois efeitos adversos, principalmente a irritação gastrointestinal, limitam o uso de inibidores não seletivos das COXs (MARTIN e EISENACH, 2001). Em nosso modelo, a administração aguda de celecoxib inibiu a hiperalgesia mecânica, mas no entanto, falhou em inibir a alodinia ao frio. Além disso, o tratamento agudo ou repetido com diclofenaco ou com dexametasona não foi capaz de alterar significativamente a hiperalgesia mecânica ou a alodinia ao frio induzidas pela avulsão do tronco

inferior do plexo braquial em ratos. Tem sido demonstrado que os corticóides quando administrados cronicamente e em doses altas não apresentam nenhum efeito sobre o limiar mecânico e ao calor em portadores de neuropatias (KINGERY et al., 1999). Além disso, foi demonstrado em modelo de inflamação que a inibição da COX-1 não foi relevante para a diminuição da hiperalgesia ou para a redução do edema (FRANCISCHI et al., 2002). Outros resultados demonstram que a administração do inibidor preferencial da COX-2, o NS-398 reverteu significativamente a alodinia tátil no modelo de ligação parcial do nervo ciático, enquanto que o piroxicam, um inibidor não seletivo de ciclooxigenase, não apresentou qualquer efeito neste modelo (MA et al., 2002). De modo semelhante, dados clínicos demonstram que a administração repetida de piroxicam não foi efetiva em prevenir a dor neuropática em pacientes com radiculopatia lombosacral e, a administração aguda de ibuprofeno não teve efeito analgésico em pacientes com neuralgia pós-herpética (KINGERY, 1997). Outros estudos demonstraram que os antiinflamatórios não esteroidais são pouco efetivos no tratamento da dor com origem na raiz nervosa (PRIEST e HOGGART, 2002). Os resultados obtidos no presente estudo estão de acordo com estudos anteriores indicando a ausência de efeito antinociceptivo dos antiinflamatórios não esteroidais no tratamento da causalgia ou outras formas de dor neuropática (SYRIATOWICZ et al., 1999). Tem sido sugerido que a administração oral de antiinflamatórios não esteroidais não atinge concentrações suficientes na periferia para ser efetivo na dor neuropática (SYRIATOWICZ et al., 1999). Outros fatores que também podem interferir nas respostas são a via de administração e o intervalo de tempo em que os animais são avaliados. Foi observado, que o tratamento intratecal com indometacina

atenuou o desenvolvimento de alodinia após a ligação do nervo, entretanto, este efeito já estava muito reduzido 14 dias após o estabelecimento da lesão. A ausência de efeito para o diclofenaco e para a dexametasona observada no presente estudo pode sugerir que ambos os inibidores não apresentam efeitos centrais, pelo menos nas doses testadas. Foi demonstrado que a injeção subcutânea de indometacina na pata ipsilateral causou analgesia, entretanto, quando administrada na pata contralateral ou no abdômen não foi descrito nenhum efeito sobre a hiperalgesia da pata ipsilateral, sugerindo que o sítio de ação neste caso é a pata afetada, e que a indometacina neste experimento não atuou sistemicamente ou no sistema nervoso central (SYRIATOWICZ et al., 1999). Além disso, os níveis de COX-2 mas não de COX-1 na medula dorsal e tálamo aumentam significativamente um dia após a lesão do nervo e retorna aos níveis basais 72 horas após (ZHAO et al., 2000). Estudo imunocitoquímico mostrou que a COX-1 geralmente esta ausente na medula espinhal de rato, enquanto que a COX-2 é densamente presente no corno dorsal superficial (ZHAO et al., 2000; DE LEO et al., 2000).

Vários relatos da literatura demonstram que a dipirona apresenta ação analgésica em vários modelos de dor. Entretanto, este analgésico não opióide não tem sido usado com frequência no tratamento da dor neuropática. Babej-Dolle e colaboradores (1994) estudaram o efeito analgésico da dipirona em pacientes com dor do nervo ciático ou em pacientes portadores de dores lombares, comparando sua eficácia e tolerabilidade com aquelas do diclofenaco. A dipirona apresentou eficácia classificada como excelente com baixos efeitos adversos quando comparada ao diclofenaco e ao placebo. Em outro estudo,

Marquez e Ferreira (1987) demonstraram após infusões repetidas, que a dipirona era eficaz em aliviar a dor crônica. Embora a dipirona apresente ação analgésica importante e comprovada a administração aguda ou repetida de dipirona não foi capaz de inibir a hiperalgesia mecânica e a alodinia ao frio induzidas pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial em ratos. Por ter propriedades ligeiramente diferentes das drogas antiinflamatórias não-esteroidais, incluindo atividade antiinflamatória insignificante, diversas pesquisas têm sido desenvolvidas para avaliar a existência de possíveis mecanismos de ação alternativos à inibição da síntese de prostaglandinas para explicar a atividade antinociceptiva da dipirona (BEIRITH et al., 1998; SARAY et al., 2001).

O mecanismo de ação da dipirona permanece ainda controverso. Enquanto alguns pesquisadores propõem que sua atividade analgésica está relacionada à inibição da síntese de prostaglandinas no sistema nervoso periférico, outros sustentam que a dipirona age diretamente no sistema nervoso central, ou que sua atividade provém da modulação da síntese de óxido nítrico ou da interferência com a liberação de endorfinas (LORENZETTI, e FERREIRA, 1996; BEIRITH et al., 1998; SARAY et al., 2001; VANEGAS e TORTORICI, 2002; FERREIRA, 2002). Em 1986, Carlsson e colaboradores realizaram os primeiros estudos para mostrar que ações centrais também poderiam ser responsáveis pelo efeito antinociceptivo e antiinflamatório de analgésicos não opióides, como é o caso da dipirona. De acordo com o estudo anterior, estes dados reforçam a hipótese de que a dipirona ativa vias

descendentes da substância cinzenta periaquedutal e inibe a transmissão de impulsos nociceptivos ascendentes na medula espinhal.

A administração aguda de diacereina reverteu tanto a hiperalgesia mecânica quanto a alodinia ao frio em ambas as patas traseiras de ratos com avulsão do tronco inferior do plexo braquial. Esta droga tem sido utilizada para o tratamento da osteoartrite (CURATOLO e BOGDUK, 2001; PROVVEDINI e COHEN, 2002; AVOUAC, 2002), embora não sejam encontrados relatos na literatura para o seu uso no tratamento da dor neuropática. Dados clínicos demonstram que na dor articular o efeito analgésico da diacereina, após 4 a 6 semanas de uso, é semelhante ao obtido com o uso de antiinflamatórios não esteroidais. Este efeito analgésico pode persistir por algum tempo após o término do tratamento. A diacereina não inibe a síntese de prostaglandinas e apresenta pouca toxicidade gastroduodenal comprovada em estudos pré clínicos e clínicos. No tratamento da dor neuropática, que muitas vezes necessita de tratamento prolongado, a diacereina poderia se constituir em uma excelente alternativa terapêutica devido a segurança e tolerabilidade no seu uso, o que dificilmente é encontrado em outras drogas (HOCHBERG e DOUGADOS, 2001; BRANDT, 2002; PROVVEDINI e COHEN, 2002). A diacereina parece exercer efeitos inibitórios sobre a IL-1 β (MOLDOVAN et al., 2000; TAMURA et al., 2002; PROVVEDINI e COHEN, 2002; AVOUAC, 2002) mas os seus mecanismos de ação ainda não estão totalmente elucidados. Sabe-se que a IL-1 pode aumentar a produção de óxido nítrico, e que a diacereina pode em concentrações

terapêuticas, diminuir a sua produção (PELLETIER et al., 1998; SALEH et al., 1999).

Atualmente existe grande interesse no desenvolvimento de agentes terapêuticos que atuem alterando a atividade do sistema purinérgico e, portanto, possam ser utilizados no tratamento da dor neuropática. Vários estudos clínicos e em animais demonstram que a adenosina e drogas análogas a adenosina são efetivas no tratamento da dor neuropática (HASHIZUME et al., 2000; DICKENSON et al., 2002). A administração sistêmica ou medular destes agonistas inibem ou reduzem comportamentos de dor neuropática nos modelos de Bennett, de Chung ou de isquemia medular (WALLACE, 2001). Os receptores de adenosina têm um papel inibitório importante no desenvolvimento e manutenção da sensibilização central de neurônios da medula espinhal (WALLACE, 2001). Estes receptores são encontrados na substância gelatinosa do corno dorsal da medula e a sua estimulação resulta na diminuição da liberação do neurotransmissor ocasionada pela diminuição da entrada de cálcio pré-sinápticamente, bem como aumento na condutância ao potássio através da membrana hiperpolarizada (WALLACE, 2001). Esses dados sugerem uma possível interação entre a adenosina e o glutamato na medula espinhal e entre a ativação do receptor NMDA e a liberação de adenosina (DICKENSON et al., 2002). Os efeitos da adenosina são observados em modelos de dor aguda e crônica através da ativação do receptor purinérgico principalmente do tipo A_1 que tem sido implicado no controle indireto da via nociceptiva medular mediada pelo receptor NMDA (LI, et al., 2002; DICKENSON et al., 2002). Este pode ser um possível mecanismo para explicar a ação antinociceptiva da adenosina na medula espinhal. Portanto, a ativação do receptor NMDA após lesão

nervosa pode determinar grande liberação de adenosina resultando na eventual depleção de purina (DICKENSON et al., 2002). Com a interrupção do tono purinérgico endógeno causado pela lesão nervosa a transmissão nociceptiva espinhal pode ser prejudicada e contribuir para o aparecimento de hiperalgesia e alodinia (DICKENSON et al., 2002). No modelo de neuropatia induzida pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial, a adenosina reverteu a hiperalgesia mecânica bilateral induzida nas patas traseiras dos animais experimentais sem no entanto, causar qualquer modificação da alodinia ao frio. Nossos resultados, são parcialmente contrários aos descritos em outros estudos, onde o análogo da adenosina (R-PIA) administrado duas vezes ao dia por via i.t. reverteu a alodinia mecânica e ao frio em um modelo de dor central (von HEIJNE, et al., 1998). A ausência de efeito pode ser resultado do esquema de administração (dose única), do período de avaliação (20 dias após a cirurgia), da via de administração ou da própria sensibilidade do modelo proposto.

As citocinas pró-inflamatórias são produzidas por uma variedade de células presentes na pele e em outros tecidos incluindo, queratinócitos, fibroblastos, sinoviócitos, mastócitos e glia, podendo ser liberadas na periferia ou no sistema nervoso central em resposta ao trauma. Existem evidências de que a liberação medular de citocinas pró-inflamatórias por ativação da glia pode estar envolvida no aparecimento de dor bilateral evidenciado em vários modelos animais de neuropatias (CHACUR et al., 2001). Dentre as citocinas pró-inflamatórias podemos citar IL-1 β , TNF α e IL-6, enquanto IL-10 é considerada uma citocina antiinflamatória ((WATKINS et al., 1995; WOLKA, et al., 2003).

Embora evidências recentes demonstrem um papel importante das citocinas pró-inflamatórias e antiinflamatórias tanto na dor inflamatória como na geração e na manutenção da hiperalgesia e da alodinia que acompanha a dor neuropática (JUNGER e SORKIN, 2000; CUI et al., 2000; CUNHA et al., 2000; LAUGHLIN et al., 2000; WATKINS e MAIER, 2000; SHIMOYAMA, et al., 2002; TU et al., 2003), no modelo estudado, os níveis das citocinas IL-1 β , IL-6, TNF α e IL-10 não foram alterados de maneira significativa pelo menos em nível espinhal durante o estabelecimento da neuropatia. Possivelmente, os resultados negativos podem ser justificados pelas limitações do método utilizado, entretanto, não podemos excluir totalmente a possibilidade da participação das citocinas. Assim, estudos adicionais ainda necessitam ser realizados com o uso de anticorpos ou antagonistas para a confirmação das mesmas no modelo experimental proposto.

Além disso, na dor neuropática decorrente da lesão do tronco inferior do plexo braquial deve existir grande participação das interações neuroimunes. A degeneração Walleriana após lesão aguda de nervo, possivelmente resulta em grande liberação de citocinas na medula espinhal, especialmente TNF α das células de Schwann lesadas, levando ao recrutamento e circulação de macrófagos e uma grande liberação de citocinas (SHAMASH et al., 2002; SHIMOYAMA et al., 2002) que podem ter efeitos profundos sobre as fibras nervosas não lesadas (HUDSON et al., 2001). Tem sido descrito aumento na liberação de TNF α e de IL-1 β durante o período inicial da degeneração após lesão do nervo periférico e ambas as citocinas estão envolvidas no desenvolvimento de hipersensibilidade para estímulo mecânico ou térmico. A degeneração axonal e das células de

Schwann também induz a expressão de mediadores anti-inflamatórios como a IL-10 por macrófagos recrutados, limitando portanto, a resposta inflamatória e preparando para a regeneração (SHAMASH et al., 2002; LAVAND' HOMME e EISENACH, 2003).

Recentemente, os fatores de crescimento, proteínas endógenas naturais que promovem o crescimento e a sobrevivência de populações particulares de neurônios, surgem como importante alvo terapêutico para o tratamento da dor neuropática. Inúmeros estudos relatam a participação destes fatores na dor neuropática resultante de diferentes etiologias (PEZET et al., 2002; UEDA et al., 2002; SAH et al., 2003; SAWYNOK, 2003; GWAK, et al., 2003; CAHILL et al., 2003). Os resultados do presente estudo mostram que a aplicação local de anticorpos contra NGF, BDNF e GDNF inibe de maneira importante a hiperalgesia mecânica e a alodinia ao frio acentuadas e de longa duração induzidas em ambas as patas traseiras pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial de rato.

O NGF é uma molécula trófica essencial e necessária para a sobrevivência de neurônios sensoriais primários de pequeno diâmetro e neurônios simpáticos (GWAK et al., 2003; CAHILL et al., 2003; SAH et al., 2003). Estudos recentes indicam que o NGF pode interagir com o processamento nociceptivo, tanto no sistema nervoso periférico, quanto no sistema nervoso central. A administração de NGF causa hiperalgesia para estímulo térmico e a hiperalgesia tátil de origem inflamatória é dependente de NGF. A administração intracerebroventricular de NGF induz respostas dolorosas em ratos e o desenvolvimento de neuropatia dolorosa periférica está relacionado com níveis

elevados de NGF no gânglio da raiz dorsal de ratos (THEODOSIOU et al., 1999; HAO et al., 2000; MALCANGIO et al., 2000; UEDA et al., 2002; GWAK et al., 2003). Existem ainda relatos demonstrando que a aplicação local de anti-NGF foi capaz de suprimir a hiperalgisia, a alodinia e o aumento dos níveis de NGF no gânglio da raiz dorsal após a lesão de nervo periférico em ratos (McARTHUR et al., 2000; UEDA et al., 2002; GWAK et al., 2003; CAHILL et al., 2003; LI et al., 2003). Os resultados do presente estudo estendem estas evidências e demonstram que o tratamento local com o anticorpo anti-NGF foi capaz de inibir a hiperalgisia mecânica e a alodinia ao frio causados pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial, efeitos esses que podem resultar de alterações funcionais e morfológicas no sistema nervoso, possivelmente no corno dorsal da medula espinhal. Esta plasticidade pode ser determinada pelo NGF produzido, ou pelo aumento da sua expressão em resposta a lesão. Tem sido relatado que muitos neurônios do gânglio da raiz dorsal contendo neuropeptídeos são sensíveis ao NGF e que a super-expressão de NGF acarreta o brotamento e o auto-crescimento de terminais centrais destes neurônios dentro do corno dorsal medular (GWAK et al., 2003; CAHILL et al., 2003), fatores esses que são determinantes para o desenvolvimento de dor neuropática. Portanto, as respostas hiperalgésica e alodínica observadas podem resultar do brotamento intraespinhal de fibras aferentes primárias contendo neuropeptídeos, que são provavelmente mediadas pela ação do NGF. No presente estudo, o anti-NGF foi aplicado localmente e, portanto teve ação sistêmica. Experimentos recentes, entretanto, demonstram que peptídeos e polipeptídeos, incluindo os fatores de crescimento como o NGF, o NT-3 e o BDNF, atravessam a barreira hematoencefálica,

sugerindo que a administração sistêmica de anti-NGF também pode atuar centralmente (GWAK et al., 2003). O anti-NGF também pode atuar centralmente prevenindo o desenvolvimento da sensibilização central dos neurônios espinhais que envolve perda ou diminuição do sistema inibitório e a sensibilização do sistema excitatório na medula espinhal (GWAK et al., 2003).

O fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) também apresenta efeitos potentes sobre os neurônios da medula espinhal e tem sido implicado na sensibilização central associada com os processos inflamatórios através do aumento das respostas mediadas pelo receptor NMDA. Tem sido demonstrado que esta neurotrófica atravessa a barreira hematoencefálica (MIKI et al., 2000). O BDNF exógeno pode potencializar a transmissão sináptica através de mecanismos de fosforilação de proteínas pós-sinápticas como ocorre no hipocampo (MIKI et al., 2000; PEZET et al., 2002). Este fator neurotrófico é expresso por uma subpopulação de neurônios sensoriais de pequeno e médio diâmetro com axônios não mielinizados que também são capazes de expressar o CGRP. Estes neurônios expressam SP, que é co-liberada com BDNF na medula espinhal, modulando a transmissão nociceptiva mediada pelo glutamato. Após a lesão nervosa, a SP e o BDNF passam a ser expressos pelas fibras A β que normalmente não expressam neuropeptídeos (LEVER et al., 2003; SAH et al., 2003). Os níveis aumentados de BDNF na inflamação são reduzidos pelo tratamento com anticorpo anti-NGF (KIDD e URBAN, 2001). Além disso, existem relatos de que a administração exógena de BDNF induz hiperalgesia térmica e alodinia mecânica (SAH et al., 2003). Por outro lado, a inibição do BDNF

endógeno é capaz de reduzir a dor experimental (SAH et al., 2003). Em ratos com lesão por ligação de nervos espinhais a injeção intratecal de anticorpo anti-BDNF foi capaz de reduzir a hiperalgesia térmica e a alodinia mecânica (SAH et al., 2003). Em ratos com ligação parcial do nervo ciático, a administração sistêmica do anticorpo anti-BDNF reduziu a hiperalgesia térmica e mecânica. Quando aplicado localmente, este anticorpo reduziu tanto a hiperalgesia mecânica quanto a alodinia ao frio em ambas as patas traseiras de ratos com neuropatia induzida pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial de ratos.

Outro membro da família dos fatores de crescimento que tem sido estudado no contexto da dor neuropática é o fator neurotrófico derivado da glia (GDNF). No sistema nervoso periférico, o GDNF normaliza a fisiologia do neurônio sensorial nociceptivo após lesão nervosa, sendo importante para a sobrevivência das células do gânglio da raiz dorsal (SAH et al., 2003; WANG et al., 2003). A infusão intratecal de GDNF foi capaz de prevenir e de reverter a dor neuropática induzida por lesão nervosa em modelos como da transecção do nervo ciático, ligação de nervos espinhais e ligação parcial do nervo ciático (SAH et al., 2003; WANG et al., 2003; HAO et al., 2003). Nestes estudos, a administração de GDNF foi iniciada dois dias após o aparecimento da hipersensibilidade tátil e térmica e foram utilizadas doses elevadas de GDNF (SAH et al., 2003; WANG et al., 2003). Por outro lado, Jubran e Widenfalk (2003) demonstraram que a administração de GDNF em animais aumentou acentuadamente a autotomia, considerada como um comportamento indicativo de dor neuropática. Nossos resultados são contrários a maioria dos dados da literatura, pois a utilização do anticorpo anti-GDNF inibiu os comportamentos de hiperalgesia mecânica e da alodinia ao frio provocados por

lesão do tronco inferior do plexo braquial. Estes resultados sugerem portanto que como demonstrado para os outros fatores neurotróficos, também o GDNF pode ter um papel dual na dor neuropática, ora produzindo efeito protetor, ora com efeito deletério. Portanto, a utilização de anticorpos e/ou a de antagonistas específicos para esses fatores poderia constituir uma opção importante para o desenvolvimento de novas drogas analgésicas que possam ser efetivas na prevenção ou no tratamento da dor neuropática já instalada.

Em conclusão, os resultados do presente estudo analisados em conjunto demonstram que a lesão por avulsão e em menor grau a ligadura e a constrição do tronco inferior do plexo braquial em ratos, produz hiperalgesia mecânica e alodinia mecânica e térmica (frio) de longa duração (até 90 dias) em ambas as patas posteriores dos animais. É importante ressaltar, que ao contrário de outros modelos de dor neuropática já desenvolvidos, a lesão por avulsão do tronco inferior do plexo braquial em ratos não acarreta autotomia nem hiperalgesia térmica (calor) e se manifesta distante do sítio da lesão. Os estudos farmacológicos demonstraram que este modelo de dor neuropática foi bastante sensível ao tratamento agudo com agonista opióide como a morfina, pelo agonista adrenérgico α_2 clonidina, pelo anticonvulsivante gabapentina, pelo antagonista glutamatérgico cetamina, pelo inibidor da síntese de óxido nítrico L-NAME e pela diacereína. Efeito parcial foi obtido com o uso do anestésico local lidocaína, do antiinflamatório não esteroideal seletivo para COX-2 celecoxib, antagonista purinérgico adenosina e com o antidepressivo tricíclico imipramina. No entanto, inibidores da COX1 como o diclofenaco, corticóide como a dexametasona

e o analgésico não opióide dipirona não mostraram eficácia em prevenir a hiperalgesia ou a alodinia causada pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial em ratos. Finalmente, anticorpos contra fatores de crescimento neural como o anti-NGF, o anti-BDNF e o anti-GDNF, foram altamente efetivos em prevenir tanto a hiperalgesia quanto a alodinia no presente modelo, indicando que antagonistas e/ou anticorpos seletivos para esses fatores de crescimento neural poderiam ser de grande utilidade no tratamento da dor neuropática, especialmente aquela relacionada com a lesão do plexo braquial. Os mecanismos pelos quais a lesão por avulsão determina o aparecimento de hiperalgesia mecânica e alodinia mecânica e térmica (frio) em locais distantes da realização da lesão não estão ainda bem esclarecidos e novos estudos devem ser realizados para a compreensão deste fenômeno. No entanto, o modelo de dor neuropática persistente decorrente da avulsão do tronco inferior do plexo braquial em ratos, pode ser útil para o estudo dos mecanismos envolvidos nesta patologia e também para o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas para o tratamento da dor neuropática, que ainda necessita de tratamentos mais eficazes.

9. CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo indicam que:

- 1) A avulsão do tronco inferior do plexo braquial em ratos constitui um novo modelo para o estudo da dor neuropática persistente.
- 2) A hiperalgesia mecânica acentuada e a alodinia mecânica e ao frio observadas nas patas traseiras ipsi e contralateral após a avulsão do tronco inferior do plexo braquial de rato e a ausência de hiperalgesia térmica, estão correlacionados com alguns dos sintomas observados em pacientes com dor neuropática causada por lesão do plexo braquial.
- 3) A hiperalgesia e a alodinia acentuadas observadas nas patas traseiras ipsi e contralateral são causadas possivelmente pela alteração de mecanismos sensoriais tanto periféricos como centrais, que não são dependentes de um efeito direto do nervo lesado.
- 4) Apesar da disfunção permanente observada na pata dianteira direita dos animais com lesão do tipo avulsão, nenhum prejuízo sobre a atividade locomotora foi encontrado.
- 5) Os resultados observados com o tratamento neonatal com capsaïcina sugerem que as fibras C sensíveis a capsaïcina não são importantes para a hiperalgesia mecânica e alodinia ao frio observadas neste modelo de dor neuropática. Possivelmente, as fibras envolvidas são do tipo $A\beta$, e $A\delta$ insensíveis a capsaïcina. Entretanto, a alodinia mecânica parece ser influenciada pelas fibras C sensíveis a capsaïcina.

- 6) O modelo de avulsão do tronco inferior do plexo braquial de rato mostrou-se sensível a várias drogas disponíveis clinicamente, como morfina, L-NAME, clonidina, cetamina, gabapentina e diacereína. Observamos efeito parcial com lidocaína, celecoxib e adenosina. Nenhum efeito foi obtido com imipramina, diclofenaco, dipirona ou dexametasona.
- 7) A administração repetida de gabapentina parece ser mais efetiva do que a administração aguda. Por outro lado, a imipramina foi capaz de reverter a alodinia ao frio ao contrário do seu tratamento agudo.
- 8) De modo curioso o tratamento repetido com diclofenaco, dipirona ou dexametasona a exemplo da administração aguda não alterou os estados hiperalgésico e alodínico induzidos pela avulsão do tronco inferior do plexo braquial.
- 9) A acentuada inibição da hiperalgesia e alodinia pelo tratamento com clonidina e o L-NAME sugerem participação importante da via mediada pelo óxido nítrico no presente modelo.
- 10) As respostas observadas após os tratamentos com lidocaína, celecoxib, adenosina ou imipramina revertendo a hiperalgesia mecânica ou a alodinia ao frio, sugerem que mecanismos distintos parecem mediar as respostas de hiperalgesia e alodinia no presente modelo.
- 11) O efeito anti-hiperalgésico obtido com celecoxib associado a ausência de tal efeito para diclofenaco ou dipirona sugerem a participação da ciclooxigenase 2 e não da ciclooxigenase 1 neste modelo.
- 12) Embora inúmeros estudos demonstrem a participação de citocinas em alguns modelos de dor neuropática, não foram detectadas alterações significativas

nos níveis de citocinas na medula espinhal de ratos submetidos à avulsão do tronco inferior do plexo braquial. Porém, isto não exclui a participação das mesmas no presente modelo.

- 13) O efeito inibitório obtido com os anticorpos para os fatores de crescimento neural (anti-NGF, anti-BDNF e anti-GDNF) sobre a hiperalgesia mecânica e alodinia ao frio sugere um importante papel dos mesmos nesta neuropatia. Além disso, estes anticorpos podem se constituir em opções terapêuticas importantes para o tratamento da dor neuropática resultante de lesão do plexo braquial como já visto em outros modelos de neuropatias dolorosas.
- 14) Analisando o conjunto de dados apresentados é possível sugerir que o presente modelo representa um método para o entendimento dos mecanismos envolvidos na etiologia da dor neuropática, sendo também relevante para a avaliação de novas drogas para o tratamento da dor neuropática.

“O presente estudo representou para nós um grande desafio. Partindo de dados clínicos de que a avulsão do plexo braquial é uma lesão freqüente e que causa dor neuropática intensa, de longa duração e de difícil tratamento farmacológico, procuramos desenvolver um modelo animal com características semelhantes à mesma condição de seres humanos. Isto foi obtido a partir da avulsão do tronco inferior do plexo braquial de ratos. Além disso, como em outras neuropatias, demonstrou-se no presente estudo que a dor resultante da lesão do plexo braquial é complexa e envolve diferentes mecanismos neuroquímicos. Sem dúvida este modelo será alvo de outras investigações, que certamente poderão contribuir não só para identificar mecanismos participantes do fenômeno observado mas também para auxiliar no desenvolvimento de drogas analgésicas eficazes no tratamento de neuropatias. Esperamos ter contribuído significativamente com a ciência e que os cientistas que se dedicam ao estudo da dor possam utilizar mais um modelo, avulsão do tronco inferior do plexo braquial de ratos, como método de investigação que possibilite melhorar a qualidade de vida dos seres humanos que sofrem de dor neuropática.”

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADRIAENSEN, H.; GYBEL, J.; HANDWERKER, H.O.; VAN HESS, J. Response properties of thin myelinated (A-delta) fiber in human skin nerves. **J. Neurophysiol.**, v. 49, p. 111-112, 1983.
- ALEY, K.O.; LEVINE, J.D. Different peripheral mechanisms mediate enhanced nociception in metabolic/toxic and traumatic painful peripheral neuropathies in the rat. **Neuroscience**, v. 111, p. 389-397, 2002.
- ALEY, K.O.; REICHLING, D.B.; LEVINE, J.D. Vincristine hyperalgesia in the rat: a model of painful vincristine neuropathy in humans. **Neuroscience**, v. 73, p. 259-265, 1996.
- ANAND, P.; BIRCH, R. Restoration of sensory function and lack of long-term chronic pain syndromes after brachial plexus injury in human. **Brain**, v. 125, p. 113-122, 2002.
- ANDRE, E.; FERREIRA, J.; MALHEIROS, A.; YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. Evidence for the involvement of vanilloid receptor in the antinociception produced by the dialdehydes unsaturated sesquiterpenes polygodial and drimanol in rats. **Neuropharmacology**, 2004, article in press.
- ANTUNES, B.J.; LAPORTE, A.M.; BENOLIEL, J.J.; BOURGOIN, S.; MAUBORGNE, A.; HAMON, M.; CESSÉLIN, F.; POHL, M. Effects of peripheral axotomy on cholecystinin neurotransmission in the rat spinal cord. **J. Neurochem.**, v. 72, p. 858-867, 1999.
- ARDID, D.; LAMBERTY, Y.; ALLOUI, A.; COUDORE-CIVIALE, M.A.; KLITGAARD, H.; ESCHALIER, A. Antihyperalgesic effect of levetiracetam in neuropathic pain models in rats. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 473, p. 27-33, 2003.
- ASHBURN, M.A.; STAATS, P.S. Management of chronic pain. **Lancet**, v. 353, p. 1865-1869, 1999.
- ATTAL, N. Chronic neuropathic pain: mechanisms and treatment. **Clin. J. Pain**, v. 16, S118-S130, 2000.
- AVOUAC, B. Current medical possibilities in the treatment of arthrosis. **Presse Med.**, v. 31, p. 5-6, 2002.
- BABEJ-DOLLE, R.; FREYTAG, S.; ECKMEYER, J.; ZERLE, G.; SCHINZEL, S.; SCHMEIDER, G.; STANKOV, G. Parenteral dipyron versus diclofenac and

- placebo in patients with acute lumbago or sciatic pain randomized observed-blind multicenter study. **Int. J. Clin. Pharmacol.**, v. 32, p. 204-209, 1994.
- BACKONJA, M.M.; MILETIC, G.; MILETIC, V. The effect of continuous morphine analgesia on chronic thermal hyperalgesia due to sciatic constriction injury in rats. **Neurosci. Lett.**, v. 196, p. 61-64, 1995.
- BAKER, M.D.; WOOD, J.N. Involvement of Na⁺ channels in pain pathways. **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 22, p. 27-31, 2001.
- BASBAUM, A.I.; GAUTRON, M.; JAZAT, F.; MAYES, M.; GUILBAUD, G. The spectrum of fiber loss in a model of neuropathic pain in the rat: an electron microscopic study. **Pain**, v.47, p. 359-367, 1991.
- BAUMGÄRTNER, U.L.F.; MAGERL, W.; KLEIN, T.; HOPF, H.C.; TREEDE, R.D. Neurogenic hyperalgesia versus painful hypoalgesia: two distinct mechanisms of neuropathic pain. **Pain**, v. 96, p. 141-151, 2002.
- BEGON, S.; PICKERING, G.; ESCHALIER, A.; DUBRAY, C. Magnesium increases morphine analgesic effect in different experimental models of pain. **Anesthesiology**, v. 96, p. 627-632, 2002.
- BEIRITH, A.; SANTOS, A.R.S.; RODRIGUES, A.L.S.; CRECZYNSKI-PASA, T.B.; CALIXTO, J.B. Spinal and supraspinal antinociceptive action of dipyrone in formalin, capsaicin and glutamate tests. Study of the mechanism of action. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 345, p. 233-245, 1998.
- BENNETT, G.J. Does a neuroimmune interaction contribute to the genesis of painful peripheral neuropathies? **P.N.A.S.**, p. 967737-967738, 1999.
- BENNETT, G.J.; XIE, Y.K. A peripheral mononeuropathy in rat produces disorders of pain sensation like those seen in man. **Pain**, v. 33, p. 87-107, 1988.
- BERMAN, J.S.; BIRCH, R.; ANAND, P. Pain following human brachial plexus injury with spinal cord root avulsion and the effect of surgery. **Pain**, v. 75, p. 199-207, 1998.
- BERTELLI, J.A.; MIRA, J.C. Behavioral evaluating methods in the objective clinical assessment of motor function after experimental brachial plexus reconstruction in the rat. **J. Neurosci. Meth.**, v. 46, p. 203-208, 1993.
- BERTELLI, J.A.; MIRA, J.C. The grasping test: A simple behavioral method for objective quantitative assessment of peripheral nerve regeneration in the rat. **J. Neurosci. Meth.**, v. 58, p. 151-155, 1995a.
- BERTELLI, J.A.; TALEB, M.; SAADI, A.; PECOT-DECHAVASSINE, M.; MIRA, J.C. The rat brachial plexus and its terminal branches: An experimental model for

- the study of peripheral nerve regeneration. **Microsurgery**, v.16, p. 77-85, 1995b.
- BERTRAND, S.; NG, G.Y.; PURISAI, M.G.; WOLFE, S.E.; SEVERIDT, M.W.; NOUEL, D.; ROBITAILLE, R.; LOW, M.J.; O'NEILL, G.P.; METTERS, K.; LACAILLE, J.C.; CHRONWALL, B.M.; MORRIS, S.J. The anticonvulsant, antihyperalgesic agent gabapentin is na agonist at brain gamma-dependent calcium channels. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 298, p. 15-24, 2001.
- BESSON, J.M. The neurobiology of pain. **Lancet**, v.353, p. 1610-1615, 1999.
- BESSON, J.M.; CHAOUDI, A. Peripheral and spinal mechanisms of nociception. **Physiol. Rev.**, v.67, p. 167-186, 1987.
- BESSOU, P.; PERL, E.R. Responses of cutaneous saensory units with unmyelinated fiber to noxious stimuli. **J. Neurophysiol.**, v. 32, p. 1025-1043, 1969.
- BEYDOUN A. Neuropathic pain: From mechanisms to treatment strategies. **J. of Pain and Symptom Management**, v. 25, 2003.
- BEYDOUN, A.; BACKONJA, M-M. Mechanistic stratification of antineuralgic agents. **J. of Pain and Symptom Management**, v. 25, n. 58, 2003.
- BIRCH, R.; WYNN PARRY, B Surgical Disorders of the Peripheral Nerves. New York , Churchill Lingstone, 1998.
- BLACKBURN-MUNRO, G.; IBSEN, N.; ERICHSEN, H.K. A comparison of the anti-nociceptive effects of voltage-activated Na⁺ channel blockers in the formalin test. **Eur. J. of Pharmacol.**, v. 445, p. 231-238, 2002.
- BLOCK, F.; HABERMEYER, B. Glutamate antagonists for treatment of neuropathic pain. **DerSshmerz**, v. 17, p. 261-267, 2003.
- BLUM, R.; KAFITZ, K.W.; KONNERTH, A. Neurotropin-evoked depolarization requires the sodium channel Na_v 1.9. **Nature**, v. 419, p. 687-693, 2002.
- BOIVIE, J. Central pain. In: Wall, P.D.; Melzack, R. (Eds), Textbook of Pain, v. 4, Harcourt Publishers, London, p. 879-914, 1999.
- BOLAY, H.; MOSKOWITZ, M.A. Mechanisms of pain modulation in chronic syndromes. **Neurology**, v. 59, p. 2-7, 2002.
- BONICA, J.J. The management of pain. Philadelphia. Lea & Febiger, 1990.

- BORSOOK, D.; BECERRA, L. Pain imaging: future applications to integrative clinical and basic neurobiology. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 55, p. 967-986, 2003.
- BOUCHER, T.J.; McMAHON, S.B. Neurotrophic factors and neuropathic pain. **Curr. Opin. Pharmacol.** v. 1, p. 66-72, 2001.
- BRANDT, K.D. Animal models of osteoarthritis. **Biorheology**, v. 39, p. 221-235, 2002.
- CAHILL, C.M.; DRAY, A.; CODERRE, T.J. Intrathecal nerve growth factor restores opioid effectiveness in animal models of neuropathic pain. **Neuropharmacology**, v. 45, p. 543-552, 2003.
- CAMPBELL, J.N. Nerve lesions and the generation of pain. **Muscle & Nerve**, v. 24, p. 1261-1273, 2001.
- CARLSON, K.H.; HELMREICH, J.; JURNA, I. Activation of inhibition from the periaqueductal grey matter mediates central analgesic effect of metamizol (dipyrone). **Pain**, v. 27, p. 373-390, 1986.
- CARVALHO, G.A.; NIKKHAH, G.; SAMII, M. Pain management after post-traumatic brachial plexus lesions. Conservative and surgical therapy possibilities. **Orthopade**, v. 26, p. 621-625, 1997.
- CATERINA, M.J.; JULIUS, D.; The vanilloid receptor: A molecular gateway to the pain pathway. **Ann. Rev. Neurosci.**, v. 24, p. 487-517, 2001.
- CATHELINE, G.; LE GUEN, S.; BESSON, J.M. Intravenous morphine does not modify dorsal horn touch-evoked allodynia in the mononeuropathic rat: a Fos study. **Pain**, v. 92, p. 389-398, 2001.
- CATTERALL, W.A. Structure and regulation of voltage-gated Ca²⁺ channels. **Annu. Rev. Cell Dev. Biol.**, v. 16, p. 521-555, 2000.
- CHACUR, M.; MILLIGAN, E.D.; GAZDA, L.S.; ARMSTRONG, C.; WANG, H.; TRACEY, K.J.; MAIER, S.F.; WATKINS, L.R. A new model of sciatic inflammatory neuritis (SIN): induction of unilateral and bilateral mechanical allodynia following acute unilateral peri-sciatic immune activation in rats. **Pain**, v. 94, p. 231-244, 2001.
- CHAPLAN, S.; MALMBERG, A.B.; YAKSH, T.L. Efficacy of spinal NMDA receptor antagonism in formalin hyperalgesia and nerve injury evoked allodynia in the rat. **J. Pharmacol. and Exp. Ther.**, v. 280, p. 829-838, 1997.
- CHEN, S.R.; EISENACH, J.C.; PAN, H.L. Intrathecal S-nitroso-N-acetylpenicilamida and L-cysteine attenuate nerve injury-induced allodynia

- through noradrenergic activation in rats. **Neuroscience**, v. 101, p. 759-765, 2000.
- CHOI, Y.; YOON, Y.W.; NA, H.S.; KIM, S.H.; CHUNG, J.M. Behavioral signs of ongoing pain and cold allodynia in a rat model of neuropathic pain. **Pain**, v. 59, p. 369-376, 1994.
- CHRISTENSEN, D.; GAUTRON, M.; GUILBAUD, G.; KAYER, V. Effect of gabapentin and lamotrigine on mechanical allodynia-like behaviour in a rat model of trigeminal neuropathic pain. **Pain**, v. 93, p. 147-153, 2001.
- CIZKOVA, D.; LUKACOVA, N.; MARSALA, M.; MARSALA, J. Neuropathic pain is associated with alterations of nitric oxide synthase immunoreactivity and catalytic activity in dorsal root ganglia and spinal dorsal horn. **Brain Res. Bull.**, v. 58, p. 161-171, 2002.
- CLATWORTHY, A.L.; ILLICH, P.A.; CASTRO, G.A.; WALTERS, E.T. Role of periaxonal inflammation in the development of thermal hyperalgesia and guarding behavior in a rat model of neuropathic pain. **Neurosci. Lett.**, v.184, p. 5-8, 1995.
- CODERRE, T.J.; KATZ, J.; VACCARINO, A.L.; MELZACK, R. Contribution of central neuroplasticity to pathological pain: review of clinical and experimental evidence. **Pain**, v. 52, p. 259-285, 1993.
- COHEN, R.H.; PERL, E.R. Contributions of arachinoid acid derivatives and substance P to the sensitization of cutaneous nociceptors. **J. Neurophysiol.**, v. 64, p. 457-464, 1990.
- COLOMBO, B.; ANNOVAZZI, P.O.; COMI, G. Neuropathic cranial pain. **Neurol. Sci.**, v. 24, p. 132-137, 2003.
- COOMBS, D.W.; TWITCHELL, B.B.; DELEO, J.A.; COLBUN, R.W. Amitriptyline in a mononeuropathy model: Pre-lesion allodynic prophylaxis vs. acute post allodynia dose response. **Reg. Anesth.**, v. 20, p.127, 1995.
- COURTEIX, C.; ESCHALIER, A.; LAVARENNE, J. Streptozotocin-induced diabetic rats: behavioural evidence for a model of chronic pain. **Pain**, v. 53, p. 81-88, 1993.
- COWARD, K.; PLUMPTON, C.; FACER, P.; BIRCH, R.; CARLSTEDT, T.; TATE, S.; BOUNTRA, C.; ANAND, P. Immunolocalization of SNS/PN3 and Na^v1.8 sodium channels in human pain states. **Pain**, v.85, p. 41-50, 2000.
- CUI, J.-G.; HOLMIN, S.; MATHIESEN, T.; MEYERSON, B.A.; LINDEROTH, B. Possible role of inflammatory mediators in tactile hypersensitivity in rat models of mononeuropathy. **Pain**, v. 88, p. 239-248, 2000.

- CUNHA, J.M.; CUNHA, F.Q.; POOLE, S.; FERREIRA, S.H. Cytokine-mediated inflammatory hyperalgesia limited by interleukin-1 receptor antagonist. **Br. J. Pharmacol.**, v. 130, p. 1418-1424, 2000.
- CURATOLO, M.; BOGDUK, N. Pharmacologic pain treatment of musculoskeletal disorders: current perspectives and future prospects. **Clin. J. Pain**, v. 17, p. 25-32, 2001.
- D'ALMEIDA, J.A.; de CASTRO-COSTA, C.M.; FROTA, C.H.; SEVERO, J.F.; ROCHA, T.D.; NOGUEIRA, T.F. Behavioral changes of Wistar rats with experimentally-induced painful diabetic neuropathy. **Arq. Neuropsiquiatr.**, v. 57, p. 746-752, 1999.
- De LEO, J.A.; HASHIZUME, H.; RUTKOWSKI, M.D.; WEINSTEIN, J.N. Cyclooxygenase-2 inhibitor SC-236 attenuates mechanical allodynia following nerve root injury in rats. **J. of Orthopaedic Research**, v. 18, p. 977-982, 2000.
- DECOSTERD, I.; JI, R.R.; ABDI, S.; TATE, S.; WOOLF, C.J. The pattern of expression of the voltage-gated sodium channels Na_v 1.8 and Na_v 1.9 does not change in uninjured primary sensory neurons in experimental neuropathic pain models. **Pain**, v. 96, p. 269-277, 2002.
- DECOSTERD, I.; WOOLF, C.J. Spared nerve injury: an animal model of persistent peripheral neuropathic pain. **Pain**, v. 87, p. 149-158, 2000.
- DELLEMIJN, P.L. Diagnosis and symptomatic therapy of neuropathic pain. **Neuropathic pain**. Shaker Publishing, Maastricht, pp. 1 – 41, 1997.
- DEVOR, M.; SELTZER, Z. Pathophysiology of damaged nerves in relation to chronic pain. In: Wall P.D.; Melzack, R. editors. **Textbook of pain**. Edinburg: Churchill Livingstone, p. 129-164, 1999.
- DEVOR, M.; WHITE, D.M.; GOETZL, E.J.; LEVINE, J.D. Eicosanoids but not tachykinins, excite C-fiber endings in rat sciatic nerve-end neuromas. **Neuroreport**, v. 3, p. 21-24, 1992.
- di VADI, P.P.; HAMANN, W. The use of lamotrigine in neuropathic pain. **Anaesthesia**, v. 53, p. 808-809, 1998.
- DICKENSON, A.H. Central acute pain mechanisms. **Annals of Medicine**, v. 27, p. 223-227, 1995.
- DICKENSON, A.H.; MATTHEWS, E.A.; SUZUKI, R. Neurobiology of neuropathic pain: mode of action of anticonvulsants. **Eur. J. Pain**, v. 6, p. 51-60, 2002.
- DICKINSON, T.; FLEETWOOD-WALKER, S.M. VIP and PACAP: very important in pain? **Trends Pharmacol.**, v. 20, p. 324-329, 1999.

- DOGRUL, A.; GARDELL, L.R.; OSSIPOV, M.H.; TULUNAY, F.C.; LAI, J.; PORRECA, F. Reversal of experimental neuropathic pain by T-type calcium channel blockers. **Pain**, v. 105, p. 159-168, 2003.
- DRAY, A.; PERKINS, M. Kinins and pain. In: Farmer, S.G. **The handbook of immunopharmacol**: The kinin system. Academic Press: London, p. 157-172, 1997.
- DRAY, A.; URBAN, L.; DICKENSON, A. Pharmacology of chronic pain. **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 15, p. 190-197, 1994.
- DUGGAN, A.W.; MORTON, C.R. Tonic descending inhibition and spinal nociceptive transmission. **Prog. Brain Res.**, v. 77, p.193-207, 1988.
- EGLIN, R.M.; HUNTER, J.C.; DRAY, A. Ions in the fire: recent ion-channel research and approaches to pain therapy. **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 20, p. 337-342, 1999.
- ENGLAND, J.D.; HAPPEL, L.T.; KLINE, D.G.; GAMBONI, F.; THOURON, C.L.; LIU, Z.P.; LEVINSON, S.R. Sodium channel accumulation in humans with painful neuromas. **Neurology**, v. 47, p. 272-276, 1996.
- ERICHSEN, H.K.; BLACKBURN-MUNRO, G. Pharmacological characterisation of the spared nerve injury model of neuropathic pain. **Pain**, v. 98, p.151-161, 2002.
- ERICHSEN, H.K.; HAO, J.-X.; XU, X.-J.; BLACKBURN-MUNRO, G. A comparison of the antinociceptive effects of voltage-activated Na⁺ channel blockers in two rat models of neuropathic pain. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 458, p. 275-282, 2003.
- ESCHENFELDER, S.; HÄBLER, H.-J.; JÄNIG, W. Dorsal root section elicits signs of neuropathic pain rather than reversing them in rats with L5 spinal nerve injury. **Pain**, v. 87, p. 213-219, 2000.
- FANG, X.; DJOUHRI, L.; BLACK, J.A.; DIB-HAJJ, S.D.; WAXMAN, S.G.; LAWSON, S.N. The presence and role of the tetrodotoxin-resistant sodium channel Na_v 1.9 (NaN) in nociceptive primary afferent neurons. **J. Neurosci.**, v. 22, p. 7425-7433, 2002.
- FEHRENBACHER, J.C.; TAYLOR, C.P.; VASKO, M.R. Pregabalin and gabapentin reduce release of substance P and CGRP from rat spinal tissues only after inflammation or activation of protein kinase C. **Pain**, v. 105, p. 133-141, 2003.
- FENG, Y.; CUI, M.; WILLIS, W.D. Gabapentin markedly reduces acetic acid-induced visceral nociception. **Anesthesiology**, v. 98, p. 729-733, 2003.

- FERREIRA, S.H. Peripheral analgesic sites of action of anti-inflammatory drugs. **Int. J. Clin. Pract. Suppl.**, v. 128, p. 2-10, 2002.
- FIELD, M.J.; BRAMWELL, S.; HUGHES, J.; SINGH, L. Detection of static and dynamic components of mechanical allodynia in rat models of neuropathic pain: are they signalled by distinct primary sensory neurons?. **Pain**, v. 83, p. 303-311, 1999.
- FIELD, M.J.; HUGHES, J.; SINGH, L. Further evidence for the role of the alpha(2)delta subunit of voltage dependent calcium channels in models of neuropathic pain. **Br. J. Pharmacol.**, v. 131, p. 282-186, 2000.
- FITZGIBBON, E.J.; HALL, P.; SCHRODER, C.; SEELY, J.; VIOLA, R. Low dose ketamine as an analgesic adjuvant in difficult pain syndromes: a strategy for conversion from parenteral to oral ketamine. **Pain Symptom Manage**, v. 23, p. 165-170, 2002.
- FOX, A.; EASTWOOD, C.; CENTRY, C.; MANNING, D.; URBAN, L. Critical evaluation of the streptozotocin in model of painful diabetic neuropathy in the rat. **Pain**, v. 81, p. 307-316, 1999.
- FRANCISCHI, J.N.; CHAVES, C.T.; MOURA, A.C.L.; LIMA, A.S.; ROCHA, O.A.; FERREIRA-ALVES, D.L. Selective inhibitors of cyclo-oxygenase-2 (COX-2) induce hypoalgesia in a rat paw model of inflammation. **Br. J. Pharmacol.**, v. 137, p. 837-844, 2002.
- FRANCISCHI, J.N.; YOKORO, C.M.; POOLE, S.; TAFURI, W.L.; CUNHA, F.Q.; TEIXEIRA, M.M. Anti-inflammatory and analgesic effects of the phosphodiesterase 4 inhibitor rolipram in a rat model of arthritis. **Eur. J. Pharmacol.**, p. 399:243, 2000.
- FUKUOKA, T.; TOKUNAGA, A.; TACHIBANA, T.; DAÍ, Y.; YAMANAKA, H.; NOGUCHI, K. VR1, but not P2X(3), increases in the spared L4 DRG in rats with L5 spinal nerve ligation. **Pain**, v. 99, p. 111-120, 2002.
- FUNDYTUS, M.E. Glutamate receptors and nociception: implications for the drug treatment of pain. **C.N.S. Drugs**, v. 15, p. 29-58, 2001.
- FURST, S. Transmitters involved in antinociception in the spinal cord. **Brain Res. Bull.**, v. 48, p. 129-141, 1999.
- GALER, B.S. Neuropathic pain of peripheral origin: advances in pharmacologic treatment. **Neurology**, v. 45, p.17-25, 1995.
- GARCIA-MARCH, G.; SANCHEX-LEDESMA, M.J.; DIAZ, P.; YAGUE, I.; ANAYA, J.; GONÇALVES, J.; BROSETA, J. Dorsal root entry zone lesions versus spinal

- cord stimulation in the management pain from brachial plexus avulsion. **Acta Neurochir.**, v. 39, p.155-158, 1987.
- GEORGOPOULOS, A.P. Funcional properties of primary afferent units probably related to pain mechanisms of primate glabrous skin. **J. Neurophysiol.**, v. 39, p. 71-84, 1976.
- GEORGOPOULOS, A.P. Stimulus-response relations in high-threshold mechanothermal fibers innervating primate glabrous skin. **Brain Res.**, v. 128, p. 547-553, 1977.
- GONZALES, R.; SHERBOURNE, C.D.; GOLDYNE, M.E.; LEVINE, J.D. Noradrenaline-induced prostaglandin production by sympathetic post-ganglionic neurons is mediated by alpha 2-adrenergic recpetors. **J. Neurochem.**, v. 57, p. 1145-1150, 1991.
- GORDH, T.; SHARMA, H.S.; ALM, P.; WESTMAN, J. Spinal nerve lesion induces upregulation of neuronal nitric oxide synthase in the spinal cord. **Amino Acids**, v. 14, p. 105-112, 1998.
- GRUBB, B.D. Peripheral and central mechanisms of pain. **Br. J. Anaesthesiol.**, v. 81, p. 8-11, 1998.
- GUSTAFSSON, H.; FLOOD, K.; ODD-GEIR, B.; BRODIN, E.; OLGART, L.; STILLER, C-O. Gabapentin reverses mechanical allodynia induced by sciatic nerve ischemia and formalin-induced nociception in mice. **Exp. Neurology**, v. 182, p. 427-434, 2003.
- GWAK, Y.S.; NAM, T.S.; Se PAIK, K.; HULSEBOSCH, C.E.; LEEM, J.W. Attenuation of mechanical hyperalgesia following spinal cord injury by administration of antibodies to nerve growth factor in the rat. **Neurosci. Lett.**, v. 336, p. 117-120, 2003.
- HAINS, B.C.; KLEIN, J.P.; SAAB, C.Y.; CRANER, M.J.; BLACK, J.A.; WAXMAN, S.G. Upregulationof sodium channel Na_v 1.3 and functional involvement in neuronal hyperexcitability associated with central neuropathic pain after spinal cord injury. **J. Neurosci.**, v. 23, p. 8881-8892, 2003.
- HALEY, J.E.; SULLIVAN, A.F.; DICKENSON, A.H. Evidence for spinal N-methyl-D-aspartate receptor involvement in prolonged chemical nociception in the rat. **Brain Res.**, v. 518, p. 218-226, 1990.
- HANDWERKER, H.O.; REEH, P.W. Nociceptors in animals. Peripheral neurons in nociception: physio-pharmacological aspects. J.M. BESSON; G. GUILBAUD; H. OLLAT. John Libbey Eurotext, Paris, p. 1-12, 1994.

- HANSSON, P. Neuropathic pain: clinical characteristics and diagnostic workup. **Eur. J. Pain**, v. 6, p. 47-50, 2002.
- HAO, J.-X.; EBENDAL, T.; XU, X.-J.; WIESENFELD-HALLIN, Z.; JONHAGEN, M.E. Intracerebroventricular infusion of nerve growth factor induces pain-like responses in rats. **Neurosci. Lett.**, v. 286, p. 208-212, 2000.
- HAO, S.; MATA, M.; WOLFE, D.; HUANG, S.; GLORIOSO, J.C.; FINK, D.J. HSV-mediated gene transfer of the glial cell-derived neurotrophic factor provides an antiallodynic effect of neuropathic pain. **Mol. Ther.**, v. 8, p. 367-375, 2003.
- HARDEN, N.; COHEN, M. Unmet needs in the management of neuropathic pain. **J. Pain Symptom Management**, v. 25, p. 12-17, 2003.
- HARGREAVES, K.; DUBNER, R.; BROWN, F.; FLORES, C.; JORIS, J. A new sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. **Pain**, v. 32, p. 77-88, 1988.
- HASHIZUME, H.; RUTKOWSKI, M.D.; WEINSTEIN, J.N.; DeLEO, J.A. Central administration of methotrexate reduces mechanical allodynia in an animal model of radiculopathy/sciatica. **Pain**, v. 87, p. 159-169, 2000.
- HERTZ, A.; MILLAN, M.J. Endogenous opioid peptides in the descending control of nociceptive response of spinal dorsal horn neurons. **Prog. Brain Res.**, v. 77, p. 263-273, 1988.
- HERZOG, R.I.; CUMMINS, T.R.; WAXMAN, S.G. Persistent TTX-resistant Na⁺ current affects resting potential and response to depolarization in simulated spinal sensory neurons. **J. Neurophysiol.**, v. 86, p. 1351-1364, 2001.
- HOCHBERG, M.C.; DOUGADOS, M. Pharmacological therapy of osteoarthritis. **Best. Pract. Res. Clin. Rheumatol.**, v. 15, p. 583-593, 2001.
- HOLDEN, J.E.; PIZZI, J.A. The challenge of chronic pain. **Adv. Drug Delivery Rev.**, v. 55, p. 935-948, 2003.
- HOLTHUSEN, H.; ARNDT, J.O. Nitric oxide evokes pain at nociceptors of the paravascular tissue and veins in humans. **J. Physiol.**, v. 487, p. 253-258, 1995.
- HOLZER, P. Capsaicin: Cellular targets, mechanisms of action, and selectivity for thin sensory neurons. **Pharmacol. Rev.**, v. 43, p. 143-201, 1991.
- HOWE, J.F.; LOESER, J.D.; CALVIN, W.H. Mechanosensitivity of dorsal root ganglia and chronically injured axons: a physiological basis for the radicular pain of nerve root compression. **Pain**, v. 3, p. 25-41, 1977.

- HU, S.J.; ZHU, J. Sympathetic facilitation of sustained discharges of polymodal nociceptors. **Pain**, v. 38, p. 85-90, 1989.
- HUDSON, L.J.; BEVAN, S.; WOTHERSPOON, G.; GENTRY, C.; FOX, A.; WINTER, J. VR1 protein expression increases in undamaged DRG neurons after partial nerve injury. **Eur. J. Neurosc.**, v. 13, p. 2105-2114, 2001.
- IADAROLA, M.J.; CAUDLE, R.M. Good pain, bad pain. **Science**, v. 287, p.240, 1997.
- IBRAHIM, M.M.;DENG, H.; ZVONOK, A.; COCKAYNE, D.A.; KWAN, J.; MATA, H.P.; VANDERAH, T.W.; LAI, J.; PORRECA, F.; MAKRIYANNIS, A.; MALAN JR, P.M. Activation of CB₂ cannabinoid receptors by AM1241 inhibits experimental neuropathic pain: Pain inhibition by receptors not present in the CNS. **PNAS**, v. 18, p. 10529-10533, 2003.
- IDANPAAN-HEIKKILA, J.J.; GUILBAUD, G. Pharmacological studies on a rat model of trigeminal neuropathic pain: baclofen, but not carbamazepine, morphine or tricyclic antidepressants, attenuates the allodynia-like behaviour. **Pain**, v. 79, p. 281-290, 1999.
- IGNATOWSKI, T.A.; COVEY, W.C.; KNIGHT, P.R.; SEVERIN, C.M.; NICKOLA, T.J.; SPENGLER, R.N. Brain-derived TNF α mediates neuropathic pain. **Brain Res.**, v. 84, p. 70-77, 1999.
- JACKSON, D.L.; GRAAF, C.B.; RICHARDSON, J.D.; HARGREAVES, K.M. Glutamate participates in the peripheral modulation of thermal hyperalgesia in rats. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 284, p. 321-325, 1995.
- JAGUSTYN, P.; ROMANIAK, A. GABA-pentin – new therapeutic possibilities. **Neurol. Neurochir. Pol.**, v. 36, p. 971-980, 2002.
- JANIG, W. Pathophysiology of nerve following mechanical injury. In: DUBNER, R.; GEBHARDT, G.F.; BOND, M.R. (Eds), Proc. Vth World Congr. Pain. Elsevier, Amsterdam, p. 89 – 108, 1988.
- JESSELL, T.M.; KELLY, D.D. Pain and analgesia. In: **Principles of Neural Science** (KEEL, E.R.; SCHWARTZ, J.H.; JESSEL, T.M. Eds) Appleton & Lange, p. 385-399, 1991.
- JETT, M-F.; MCGUIRK, J.; WALIGORA, D.; HUNTER, J.C.; The effects of mexiletine, desipramine and fluoxetine in rat models involving central sensitization. **Pain**, v. 69, p. 161-169, 1997.
- JEVTOVIC-TODOROVIC, V.; WOZNIAK, D.F.; POWELL, S.; NARDI, A.; OLNEY, J.W. Clonidine potentiates the neuropathic pain-relieving action of MK-801

- while preventing its neurotoxic and hyperactivity side effects. **Brain Res.**, v. 781, p. 202-211, 1998.
- JORUM, E.; WARNCKE, T.; STUBHAUG, A. Cold-allodynia and hyperalgesia in neuropathic pain: the effect of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonist ketamine-a-double-blind, cross-over comparison with alfentanil and placebo. **Pain**, v. 101, p. 329-335, 2003.
- JUBRAN, M.; WIDENFALK, J. Repair of peripheral nerve transactions with fibrin sealant containing neurotrophic factors. **Exp. Neurol.**, v. 181, p. 204-212, 2003.
- JULIUS, D.; BASBAUM, A.I. Molecular mechanisms of nociception. **Nature**, v. 413, p. 203-210, 2001.
- JUNGER, H.; SORKIN, L.S. Nociceptive and inflammatory effects of subcutaneous TNFalpha. **Pain**, v. 85, p. 145-151, 2000.
- KAJANDER, K.C.; BENNETT, G.J. Onset of a painful peripheral neuropathy in rat: a partial and differential deafferentation and spontaneous discharge in A β and A δ primary afferent neurons. **J. Neurophysiol.**, v. 68, p. 734-744, 1992.
- KANJHAN, R Opioids and pain. **Clin. And Exp. Pharmacol. Physiol.**, v. 22, p. 397-403, 1995.
- KHALIL, Z.; HELME, R.D. Free radicals contribute to the reduction in peripheral vascular responses and the maintenance of thermal hyperalgesia in rats with chronic constriction injury. **Pain**, v. 79, p. 31-37, 1999.
- KIDD, B.L.; URBAN, L.A. Mechanisms of inflammatory pain. **Br. J. Anaesthesiol.**, v. 87, p. 3-11, 2001.
- KIM, C.H.; OH, Y.; CHUNG, J.M.; CHUNG, K. The changes in expression of three subtypes of TTX sensitive sodium channels in sensory neurons after spinal nerve ligation. **Mol. Brain Res.**, v. 95, p. 153-161, 2001.
- KIM, S.H.; CHUNG, J.M. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. **Pain**, v. 50, p. 355-363, 1992.
- KINGERY, W.S. A critical review of controlled clinical trials for peripheral neuropathic pain and complex regional pain syndromes. **Pain**, v. 73, p. 123-139, 1997.
- KINGERY, W.S.; CASTELLOTE, J.M.; MAZE, M. Methylprednisolone prevents the development of autotomy and neuropathic edema in rats, but has no effect on nociceptive thresholds. **Pain**, v. 80, p. 555-566, 1999.

- KOLTZENBURG, M.; LUNDBERG, L.E.; TOREJÖRK, H.E. Dynamic and static components of mechanical hyperalgesia in human hairy skin. **Pain**, v. 51, p. 207, 1992.
- KONTINEN, V.K.; PAANANEN, S.; KALSO, E. The effects of the α^2 adrenergic agonist, dexmedetomidine, in the spinal nerve ligation model of neuropathic pain, **Anesth. Analg.**, v. 86, p. 355-360, 1998.
- KURASHI, Y.; KAWABATA, S.; MATSUMOTO, T.; NAKAMURA, A.; FUJITA, H.; SATOH, M. Involvement of substance P in hyperalgesia induced by intrathecal galanin. **Neurosci. Res.**, v. 11, p. 276-285, 1991.
- KVARNSTROM, A.; KARLSTEN, R.; QUIDING, H.; EMANUELSSON, B.M.; GORDTH, T. The effectiveness of intravenous ketamine and lidocaine on peripheral neuropathic pain. **Acta Anaesthesiol. Scand.**, v. 47, p. 868-877, 2003.
- LaBUDA, C.L.; FUCHS, P.; N. Morphine and gabapentin decrease mechanical hyperalgesia and escape/avoidance behavior in a rat model of neuropathic pain. **Neurosci. Lett.**, v. 290, p. 137-140, 2000.
- LAI, J.; HUNTER, J.C.; PORRECA, F. The role of voltage-gated sodium channels in neuropathic pain. **Curr. Op. Neurobiol.**, v. 13, p. 291-297, 2003.
- LANNEAU, C.; GREEN, A.; HIRST, W.D.; WISE, A.; BROWN, J.T.; DONNIER, E.; CHARLES, K.J.; WOOD, M.; DAVIES, C.H.; PANGALOS, M.N. GABAB receptor agonist. **Neuropharmacology**, v. 41, p. 965-975, 2001.
- LASHBROOK, J.M.; OSSIPOV, M.H.; HUNTER, J.C.; RAFFA, R.B.; TALLARIDA, R.J.; PORRECA, F., Synergistic antiallodynic effects of spinal morphine with ketorolac and selective COX-1 and COX-2 inhibitors in nerve injured rats. **Pain**, v. 82, p. 65-72, 1999.
- LAUGHLIN, T.M.; BETHEA, J.R.; YEZIERSK, R.P.; WILCOX, G.L. Cytokine involvement in dynorphin-induced allodynia. **Pain**, v. 84, p. 159-165, 2000.
- LAVAND'HOMME, P.M.; EISENACH, J.C. Perioperative administration of the α_2 -adrenoceptor agonist clonidine at the site of nerve injury reduces the development of mechanical hypersensitivity and modulates local cytokine expression. **Pain**, v. 105, p. 247-254, 2003.
- LE BARS, D.; GOZARIU, M.; CADDEN, S.W. Animal models of nociception. **Pharmacol. Rev.**, v. 53, p. 597-652, 2001.

- LEE, Y.W.; CHAPLAN, S.R.; YAKSH, T.L. Systemic and supraspinal, but not spinal, opiates suppress allodynia in a rat neuropathic pain model. **Neurosci. Lett.**, v. 199, p.111-114, 1995.
- LEKAN, H.A.; CARLTON, S.M.; COGGESHALL, R.E. Sprouting of A β fibers into laminae II of the rat dorsal horn in peripheral neuropathy. **Neurosci. Lett.**, v. 208, p. 147-150, 1996.
- LEUNG, A.; WALLACE, M.S.; RIDGEWAY, B.; YAKSH, T. Concentration-effect relationship of intravenous alfentanil and ketamine on peripheral neurosensory thresholds, allodynia and hyperalgesia of neuropathic pain. **Pain**, v. 91, p. 177-187, 2001.
- LEVER, I.; CUNNINGHAM, J.; GRIST, J.; YIP, P.K.; MALCANGIO, M. Release of BDNF and GABA in the dorsal horn of neuropathic rats. **Eur. J. Neurosci.**, v. 18, p. 1169-1174, 2003.
- LI, L.; XIAN, C.J.; ZHONG, J-H.; ZHOU, X-F. Lumbar 5 ventral root transection-induced upregulation of nerve growth factor in sensory neurons and their target tissues: a mechanism in neuropathic pain. **Molecular and Cellular Neuroscience**, v. 23, p. 232-250, 2003.
- LI, X.H.; CONKLIN, D.; MA, X.Y.; ZHU, X.Y.; EISENACH, J.C. Spinal noradrenergic activation mediates allodynia reduction from an allosteric adenosine modulator in a rat model of neuropathic pain. **Pain**, v. 97, p. 117-125, 2002.
- LI, Y.; DORSI, M.J.; MEYER, R.A.; BELZBERG, A.J. Mechanical hyperalgesia after an L5 spinal cord nerve lesion in the rat is not dependent on input from injured nerve fibers. **Pain**, v. 85, p. 493-502, 2000.
- LICO, M.C. Mecanismos e analgesia. Implicações terapêuticas. **Revisão de Medicina**, v. 10(1-2), p.11-23, 1979.
- LIGHT, A.R.; PERL, E.R. Re-examination of the dorsal root projection to the spinal dorsal horn including observations on the differential termination of coarse and fine fibers. **J. Comp. Neurol.**, v. 186, p. 117-132, 1979.
- LOESER, J.D.; MELZACK, R. Pain: an overview. **Lancet**, v. 353, p. 1607-1609, 1999.
- LoGRASSO, P.; McKELVY, J. Advances in pain therapeutics. **Curr. Op. Chemical Biology**, v.7, p. 452-456, 2003.
- LOMBARD, M.C.; NASHOLD JR., B.S.; ALBE-FESSARD, D.; SLAMAN, N.; SAKR, C. Deafferentation hypersensitivity in the rat after dorsal rhizotomy: a possible animal model of chronic pain. **Pain**, v. 6, p. 163-174, 1979.

- LORENZETTI, B.B.; FERREIRA, S.H. Activation of the arginine-nitric oxide pathway in primary sensory neurons contributes to dipyron-induced spinal and peripheral analgesia. **Inflamm. Res.**, v. 45, p. 308-311, 1996.
- MA, W.Y.; DU, W.; EISENACH, J.C. Role for both spinal cord COX-1 and COX-2 in maintenance of mechanical hypersensitivity following peripheral nerve injury. **Brain Res.**, v. 937, Iss 1-2, p. 94-99, 2002.
- MACFARLANE, B.V.; WRIGHT, A.; O'CALLAGHAN, J.; BENSON, H.A.E. Chronic neuropathic pain and its control by drugs. **Pharmacol. Ther.**, v. 75, p. 1-19, 1997.
- MALAN, T.P.; OSSIPOV, M.H.; GARDELL, L.R.; IBRAHIM, M.; Di BIAN; LAI, J.; PORRECA, F. Extraterritorial neuropathic pain correlates with multisegmental elevation of spinal dynorphin in nerve-injured rats. **Pain**, v. 86, p. 185-194, 2000.
- MALCANGIO, M.; RAMER, M.S.; BOUCHER, T.J.; McMAHON, S.B. Intrathecally injected neurotrophins and the release of substance P from the rat isolated spinal cord. **Eur. J. of Neurosc.**, v. 12, p. 139-144, 2000.
- MALMBERG, A.; BASBAUM, A.I. Partial sciatic nerve injury in the mouse as a model of neuropathic pain: behavioral and neuroanatomical correlates. **Pain**, v. 76, p. 215-222, 1998.
- MAO, J.; CHEN, L.L. Systemic lidocaine for neuropathic pain relief. **Pain**, v. 87, p. 7-17, 2000.
- MAO, J.; PRICE, D.D.; ZHU, J.; LU, J.; MAYER, D.J. The inhibition of nitric oxide-activated poly(ADP-ribose) synthetase attenuates transsynaptic alteration of spinal cord dorsal horn neurons and neuropathic pain in rat. **Pain**, v.72, p. 355-366, 1997.
- MARCHAND, J.E.; CEPEDA, M.S.; CARR, D.B.; WURM, W.H.; KREAM, R.M. Alterations in neuropeptide Y, tyrosine hydroxylase, and Y-receptor subtype distribution following spinal nerve injury to rats. **Pain**, v. 79, p. 187-200, 1999.
- MARQUEZ, J.O.; FERREIRA, S.H. Regional dipyron nociceptor blockade: a pilot study. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 20, p. 441-444, 1987.
- MARTIN, D.J.; McCLELLAND D.; HERDT, M.B.; SUTTON, K.G.; HALL, M.D.; LEE, K.; PINNOCK, R.D.; SCOTT, R.H. Gabapentin-mediated inhibition of voltage-activated Ca²⁺ channel currents in cultured sensory neurons is dependent on culture conditions and channel subunit expression. **Neuropharmacology**, v. 42, p. 353-366, 2002.

- MARTIN, T.J.; EISENACH, J.C. Pharmacology of opioid and nonopioid analgesics in chronic pain states. **J. Pharmacol. Exp. Therap.**, v. 299, p. 811-817, 2001.
- MATTHEWS, E.A.; DICKENSON, A.H. Effects of ethosuximide, a T-type Ca²⁺ channel blocker, on dorsal horn neuronal responses in rats. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 415, p. 141-149, 2001.
- McARTHUR, J.C.; YIANNOUTSOS, C.; SIMPSON, D.M.; ADOMATO, B.T.; SINGER, E.J.; HOLLANDER, H.; MARRA, C.; RUBIN, M.; COHEN, B.A.; TUCKER, T.; NAVIA, B.A.; SCHIFITTO, G.; KATZENSTEIN, D.; RASK, C.; ZABORSKI, L.; SMITH, M.E.; SHRIVER, S.; MILLAR, L.; CLIFFORD, D.B.; KARALNIK, I.J. A phase II trial of nerve growth factor for sensory neuropathy associated with HIV infection. **Neurology**, v. 54, p. 1080-1088, 2000.
- McCALLUM, J.B.; KWOK, W.-M.; MYNLIEFF, M.; BOSNJAK, Z.J. Loss of T-type calcium current in sensory neurons of rats with neuropathic pain. **Anesthesiology**, v. 98, p. 209-216, 2003.
- McCLEANE, G. Pharmacological management of neuropathic pain. **CNS Drugs**, v. 17, p. 1031-1043, 2003.
- McKEMY, D.D.; NEUHAUSER, W.M.; JULIUS, D. Identification of a cold receptor reveals a general role for TRP channels in thermosensation. **Nature**, p.1-7, 2002.
- McLACHLAN, E.M.; JANIG, W.; DEVOR, M.; MICHAELIS, M. Peripheral nerve injury triggers noradrenergic sprouting within dorsal root ganglia. **Nature**, v. 363, p. 543-546, 1993.
- McMAHON, S.B.; PRIESTLEY, J.V. Peripheral neuropathies and neurotrophic factors: animal models and clinical perspectives. **Curr. Opin. Neurobiol.**, v. 5, p. 616-624, 1995.
- McMAHON, S.B.; WALL, P.D. Receptive fields of rat lamina I projection cells move to incorporate a nearby region of injury. **Pain**, v. 19, p. 235-247, 1984.
- MELZACK, R.; DENNIS, S.G. Neurophysiological foundation of pain. In the Psychology of pain (ed. Sternbach R.A.). **Raven Press.**, p. 1-26, 1978.
- MELZACK, R.; WALL, P.D. The challenge of pain. New York: **Basic Book**, 1983.
- MENDELL, J.R.; SAHENK, Z. Painful sensory neuropathy. **The New England Journal of Medicine**, v. 348, p. 1243-1255, 2003.

- MERSKEY, H. Prepared by the IASP subcommittee on taxonomy. Classification of chronic pain: descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms. **Pain**, v.3, p.1-226, 1986.
- MERSKEY, H.; BOGDUK, N. eds. Classification of chronic pain (2nd edition). Seattle: **IASP** Press, 1994.
- MICHAELIS, M.; BLENK, K.-H.; VOGEL, C.; JÄNIG, W. Distribution of sensory properties among axotomized cutaneous C-fibers in adult rats. **Neuroscience**, v. 94, p. 7-10, 1999.
- MIKI, K.; FUKUOKA, T.; TOKUNAGA, A.; KONDO, E.; DAI, Y.; NOGUCHI, K. Differential effect of brain-derived neurotrophic factor on high-threshold mechanosensitivity in a rat neuropathic pain model. **Neurosci. Lett.**, v. 278, p. 85-88, 2000.
- MILLAN, M.J. The induction of pain: An integrative review. **Prog. Neurobiol.**, v. 57, p. 1-164, 1999.
- MILLIGAN, E.D.; MEHMERT, K.K.; HINDLE, J.L.; HARVEY, L.O.J.; MARTIN, D.; TRACEY, K.J.; MAIER, S.F.; WATKINS, L.R. Thermal hyperalgesia and mechanical allodynia produced by intrathecal administration of the human immunodeficiency virus-1 (HIV-1) envelope glycoprotein, gp120. **Brain Res.**, v.861, p. 105-116, 2000.
- MILLIGAN, E.D.; O'CONNOR, K.A.; NGUYEN, K.T.; ARMSTRONG, C.B.; TWINING, C.; GAYKEMA, R.; HOLGUIN, A.; MARTIN, D.; MAIER, S.F.; WATKINS, L.R. Intrathecal HIV-1 envelope glycoprotein gp120 induces enhanced pain states mediated by spinal cord proinflammatory cytokines. **J. Neurosci.**, v. 21, p. 2808-2819, 2001.
- MOLDOVAN, F.; PELLETIER, J.-P.; JOLICOEUR, F.-M.; CLOUTIER, J.-M.; MARTEL-PELLETIER. Diacerhein and rhein reduce the ICE-induced IL-1 β and IL-18 activation in human osteoarthritic cartilage. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 8, p. 186-196, 2000.
- MOOSY, J.J.; NASHOLD, B.S.JR. Dorsal root entry zone lesion for conus medullaris root avulsions. **Appl. Neurophysiol.**, v. 51, p. 198-205, 1988.
- NAHIN, R.L.; REN, K.; De LEON, M.; RUDA, M. Primary sensory neurons exhibit altered gene expression in a rat model of neuropathic pain. **Pain**. v. 58, p. 95-108, 1994.
- NAKAMURA, S.; MEYERS, R.R. Myelinated afferents sprout in to laminae II of L3-5 dorsal horn following chronic constriction nerve injury in rats. **Brain Res.**, v. 818, p. 285-290, 1999.

- NAKAMURA-CRAIG, M.; FOLLENFANTS, R.L. Effect of lamotrigine in the acute and chronic hyperalgesia induced by PGE₂ and in the chronic hyperalgesia in rats with streptozotocin-induced diabetes. **Pain**, v. 63, p. 33-37, 1995.
- NICHOLSON, B. Taxonomy of pain. **Clin. J. Pain**, v.16, p 114-117, 2000.
- NIEDBALA, B.; SÁNCHEZ, A.; FERIA, M. Nitric oxide mediates neuropathic pain behavior in peripheral denervated rats. **Neurosci. Lett.** v. 188, p. 57-60, 1995.
- NOGUCHI, K.; De LEON, M.; NAHIN, R.L.; SENBA, E.; RUDA, M.A. Quantification of axotomy-induced alteration of neuropeptide mRNAs in dorsal root ganglion neurons with special reference to neuropeptide Y mRNA and the effects of neonatal capsaicin treatment. **J. Neurosci. Res.** v. 35, p. 54-66, 1993.
- NOGUCHI, K.; KAWAI, Y.; FUKUOKA, T.; SENBA, E.; MIKI, K. Substance P induced by peripheral nerve injury in primary afferent sensory neurons and its effect on dorsal column nucleus neurons. **J. Neurosci.**, v. 15, p. 7633-7643, 1995.
- NOVAKOVIC, S.D.; EGLIN, R.M.; HUNTER, J.C. Regulation of Na⁺ channel distribution in the nervous system. **Trends Neurosci.**, v. 24, p. 473-478, 2001.
- PAN, H.L.; EISENACH, J.C.; CHEN, S.R.; Gabapentin suppresses ectopic nerve discharges and reverses allodynia in neuropathic rats. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 288, p. 1026-1030, 1999.
- PARK, S.K.; CHUNG, K.; CHUNG, J.M. Effects of purinergic and adrenergic antagonists in a rat model of painful peripheral neuropathy. **Pain**, v. 87, p. 171-179, 2000.
- PELER, A.M.; MOQRICH, A.; HERGARDEN, A.C.; REEVE, A.J.; ANDERSSON, D.A.; STORY, G.M.; EARLEY, T.J.; DRAGONI, I.; McINTYRE, P.; BEVAN, S.; PATAPOUTIAN, A. A TRP channel that senses cold stimuli and menthol. **Cell**, v.108, p. 705-715, 2002.
- PELLISSIER, T.; LAURIDO, C.; KRAMER, V.; HERNANDEZ, A.; PAEILE, C. Antinociceptive interactions of ketamine with morphine or methadone in mononeuropathic rats. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 477, p. 23-28, 2003.
- PELLETIER, J.-P.; MINEAU, F.; FERNANDES, J.C.; DUVAL, N.; MARTEL-PELLETIER, J. Diacerhein and rhein reduce the interleukin 1 β stimulated inducible nitric oxide synthesis level and activity while stimulating cyclooxygenase-2 synthesis in human osteoarthritic chondrocytes. **J. Rheumatol.**, v. 25, p. 2417-2424, 1998.

- PERKINS, N.M.; TRACEY, D.J. Hyperalgesia due to nerve injury: role of neutrophils. **Neuroscience**, v. 101, p. 745-757, 2000.
- PERTOVAARA, A.; WEI, H. A dissociative change in the efficacy of supraspinal versus spinal morphine in the neuropathic rat. **Pain**, v. 101, p. 237-250, 2003.
- PEZET, S.; MARZIA, M.; STEPHEN, B. BDNF: a neuromodulator in nociceptive pathways?. **Brain Res. Rev.**, v. 40, p. 240-249, 2002.
- PITCHER, G.M.; RITCHIE, J.; HENRY, J.L. Nerve constriction in the rat: model of neuropathic, surgical and central pain. **Pain**, v. 83, p. 37-46, 1999.
- PITCHER, G.M.; RITCHIE, J.; HENRY, J.L. Paw withdrawal threshold in the von Frey hair test is influenced by the surface on which the rat stands. **J. Neurosci. Methods**, v. 87, p. 185-193, 1999.
- POMONIS, J.D.; HARRISON, J.E.; MARK, L.; BRISTOL, D.R.; VALENZANO, K.J.; WALKER, K. N-(4-tertiarybutylphenyl)-4-(3-cholorphyrudin-2-yl)tetrahydropyrazine-1(2H)-carbox-amide (BCTC), a novel, orally effective vanilloid receptor 1 antagonist with analgesic properties: II. in vivo characterization in rat models of inflammatory and neuropathic pain. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 306, p. 387-393, 2003.
- PORECCA, f.; LAI, J.; WEGERT, S.; OSSIPOV, M.H.; EGLIN, R.M.; KASSOTAKIS, L.; NOVAKOVIC, S.; RABERT, D.K.; SANGAMESWARAN, L.; HUNTER, J.C. A comparison of the potential role of the tetrodotoxin-insensitive sodium channels, PN3/SNS and NaN/SNS2, in rat models of chronic pain. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 96, p. 7640-7644, 1999.
- PRIEST, T.D.; HOGGART, B. Chronic pain: mechanisms and treatment. **Curr. Opin. Pharmacol.**, v. 2, p. 310-315, 2002.
- PROVVEDINI, D.; COHEN, P. Efficacy of diacerein on the symptoms and radiographic progression of osteoarthritis. **Presse Med.**, v. 31, p. 13-15, 2002.
- QIAN, J.; BROWN, S.D.; CARLTON, S.M. Systemic ketamine attenuates nociceptive behaviours in a rat model of peripheral neuropathy. **Brain Res.**, v. 715, p. 51-62, 1996.
- RAJA, S.N.; MEYER, R.A.; CAMPBELL, J.N. Peripheral mechanisms of somatic pain. **Anesthesiol.**, v. 68, p. 571-590, 1988.
- RANDALL, L.O.; SELITTO J.J.; A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. **Arch. Int. Pharmacodyn.**, v. 111, p. 409-419, 1957.
- REEH, P.W. Sensory receptors in mammalian skin in an in vitro preparation. **Neurosci. Lett.**, v. 66, p. 141-146, 1986.

- REID, G.; BABES, A. PLUTEANU, F. A cold- and menthol-activated current in rat dorsal root ganglion neurones: properties and role in cold transduction. **Journal of Physiology**, v. 545, p. 595-614, 2002.
- RUSSO, C.M.; BROSE, W.G. Chronic pain. **Ann. Ver. Med.**, v. 49, p.123-133, 1998.
- SAADE, N.E.; MASSAAD, C.A.; OCHOA-CHAAR, C.I.; JABBUR, S.J.; SAFIEH-GARABEDIAN, B. Upregulation of proinflammatory cytokines and nerve growth factor by intraplantar injection of capsaicin in rats. **J. Physiol.**, v. 545, p. 241-253, 2002.
- SAH, D.W.Y.; OSSIPOV, M.H.; PORRECA, F. Neurotrophic factors as novel therapeutics for neuropathic pain. **Nature Reviews**, v. 2, p. 460-472, 2003.
- SAKATA, R.K.; GOZZANI, J.L. Fisiologia da dor. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 51, p. 3-5, 1994.
- SALEH, T.S.; CALIXTO, J.B.; MEDEIROS, Y.S. Effects of anti-inflammatory drugs upon nitrate and myeloperoxidase levels in the mouse pleurisy induced by carrageenan. **Peptides**, v. 20, p. 949-956, 1999.
- SALVEMINI, D.; MISKO, T.P.; MASFERRER, J.L.; SEIBERT, K.; CURRIE, M.G.; NEEDLEMAN, P. Nitric oxide activates cyclooxygenase enzymes. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 90, p. 7240-7244, 1993.
- SARAY, A.; BUYUKKOCAK, U.; CINEL, I.; TELLIOGLU, A.T.; ORAL, U. Diclofenac and metamizol in postoperative analgesia in plastic surgery. **Acta Chir. Plast.**, v. 43, p. 71-76, 2001.
- SAWYNOK, J. Topical and peripherally acting analgesics. **Pharmacol. Rev.**, v. 55, p. 1-20, 2003.
- SCHOLZ, J.; WOOLF, C.J. Can we conquer pain? **Nature Neuroscience Supplement**, v. 5, p.1062-1067, 2002.
- SCHWARTZMAN, R.J.; GROTHUSEN, J.; KIEFER, T.R.; ROHR, P. Neuropathic central pain – epidemiology, etiology, and treatment options. **Arch. Neurology**, v. 58, p.1547-1550, 2001.
- SEKIZAWA, S.I.; FRENCH, A.S.; TORKKELI, P.H. Low-voltage-activated calcium current does not regulate the firing behavior in paired mechanosensory neurons with different adaptation properties. **J. Neurophysiol.**, v. 83, p. 746-753, 2000.
- SELTZER, Z. The relevance of animal neuropathy models for chronic pain in humans. **Neurosc.**, v. 7, p. 211-219, 1995.

- SELTZER, Z.; DUBNER, R.; SHIR, Y. A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. **Pain**, v. 43, p. 205-218, 1990.
- SHAMASH, S.; REICHTER, F.; ROTSHENKER, S. The cytokine network of Wallerian degeneration: tumor necrosis factor- α , interleukin-1 α , and interleukin 1- β . **J. Neurosci.**, v. 22, p. 3052-3060, 2002.
- SHIMIZU, T.; SHIBATA, M.; WAKISAKA, S.; TAKAYA, I.; MASHIMO, T.; YOSHIYA, I. Intrathecal lithium reduces neuropathic pain responses in a rat model of peripheral neuropathy. **Pain**, v. 85, p. 59-64, 2000.
- SHIMOYAMA, M.; TANAKA, K.; HASUE, F.; SHIMOYAMA, N. A mouse model of neuropathic cancer pain. **Pain**, v. 99, p.167-174, 2002.
- SHIR, Y.; SELTZER, Z. A-fibers mediate mechanical hyperesthesia and allodynia and C-fibers mediate thermal hyperalgesia in a new model of causalgiform pain disorders in rats. **Neurosci. Lett.**, v. 115, p. 62-67, 1990.
- SHORTLAND, P.; KINMAN, E.; MOLANDER, C. Sprouting of A-fibre primary afferents into laminae II in two rat models of neuropathic pain. **Eur. J. Pain**, v. 1, p. 215-227, 1997.
- SINDRUP, H.S.; JENSEN, S.T. efficacy of pharmacological treatments of neuropathic pain: an update and effect related to mechanism of drug action. **Pain**, v. 83, p. 389-400, 1999.
- SLEEPER, A.A.; CUMMINS, T.R.; DIB-HAJJ, S.D.; HORMUZDIAR, W.; TYRRELL, L.; WAXMAN, S.G.; BLACK, J.A. Changes in expression of two tetrodotoxin-resistant sodium channels and their currents in dorsal root ganglion after sciatic nerve injury but not rhizotomy. **J. Neurosci.**, v. 20, p. 7279-7289, 2000.
- SMITH, L.J.; SHIH, A.; MILETIC, G.; MILETIC, V. Continual systemic infusion of lidocaine provides analgesia in an animal model of neuropathic pain. **Pain**, v. 97, p. 267-273, 2002.
- SOARES DE MOURA, R.; RIOS, A.A.; DE OLIVEIRA, L.F.; RESENDE, A.C.; DE LEMOS NETO, M.; SANTOS, E.J.; CORREIA, M.L.; TANO, T. The effects of nitric oxide synthase inhibitors on the sedative effect of clonidine. **Anesth. Analg.**, v. 93, p. 1217-1221, 2001.
- SOARES DE MOURA, R.S.; LEAO, M.C.; CASTRO RESENDE, A.C.; MOREIRA, C.F.; SENA, K.M.; SILVEIRA, S.S.; LIMA, A.F.; NUNES, F.R.; MESQUITA FERREIRA, A.G. Actions of L-NAME and methylene blue on the hypotensive effects of clonidine and rilmenidine in the anesthetized rat. **Cardiovasc. Pharmacol.**, v. 35, p. 791-795, 2000.

- SONODA, H.; OMOTE, K. Suppressive effects of ketamine on neuropathic pain. **Masui**, v. 47, p.136-144, 1998.
- SOUZA, A.M.; PRADO, W.A. The dual effect of a nitric oxide donor in nociception. **Brain Res.**, v. 897, p. 9-19, 2001.
- SPRUCE, M.C.; POTTER, J.; COPPINI, D.V. The pathogenesis and management of painful diabetic neuropathy: a review. **Diabetic Medicine**, v. 20, p. 88-98, 2003.
- STEFANI, A.; SPADONI, F.; GIACOMINI, P.; LAVARONI, F.; BERNARDI, G. The effects of gabapentin on different ligand- and voltage-gated currents in isolated cortical neurons. **Epilepsy Res.**, v. 43, p. 239-248, 2001.
- STORY, G.M.; PEIER, A.M.; REEVE, A.J.; EID, S.R.; MOSBACHER, J.; HRICIK, T.R.; EARLY, T.J.; HERGARDEN, A.C.; ANDERSSON, D.A.; HWANG, S.W.; McINTYRE, P.; JEGLA, T.; BEVAN, S.; PATAPOUTIAN, A. ANKTM1, a TRP-like channel expressed in nociceptive neurons, is activated by cold temperatures. **Cell**, v. 112, p. 819-829, 2003.
- SUGIMOTO, T.; BENNETT, G.J.; KAJANDER, K.C. Transsynaptic degeneration in the superficial dorsal horn after sciatic nerve injury: effects of a chronic constriction injury, transection, and strychnine. **Pain**, v. 42, p. 205-213, 1990.
- SWEITZER, S.M.; COLBURN, R.W.; RUTKOWSKI, M.; DeLEO, J.A. Acute peripheral inflammation induces moderate glial activation and spinal IL-1beta expression that correlates with pain behavior in the rat. **Brain Res.**, v. 829, p. 209-211, 1999.
- SYRIATOWICZ, J.P.; HU, D.; WALKER, J.S.; TRACEY, D.J. Hyperalgesia due to nerve injury: Role of prostaglandins. **Neuroscience**, v. 94, p. 587-594, 1999.
- SZALLASI, A.; BLUMBERG, P.M. Vanilloid (capsaicin) receptors and mechanisms. **Pharmacol. Rev.**, v. 51, p. 159-212, 1999.
- TAIWO, Y.O.; CODERRE, T.J.; LEVINE, J.D. The contribution of training to sensitivity in the nociceptive paw-withdrawal test. **Brain Res.**, v. 487, p.148-151, 1989.
- TAKAISHI, k.; EISELE Jr, J.H.; CARTENS, E. Behavioral and electrophysiological assessment of hyperalgesia and changes in dorsal horn responses following partial sciatic nerve ligation in rats. **Pain**, v. 66, p. 297-306, 1996.
- TALL, M.; BENNETT, G.J. Extra-territorial pain in rats with a peripheral mononeuropathy: mechano-hyperalgesia and mechano-allodynia in the territory of an uninjured nerve. **Pain**, v. 57, p. 375-382, 1994.

- TAMURA, T.; SHIRAI, T.; KOSAKA, N.; OHMORI, K.; TAKAFUMI, N. Pharmacological studies of diacerein in animal models of inflammation, arthritis and bone resorption. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 448, p. 81-87, 2002.
- TANNER, K.D.; LEVINE, J.D.; TOPP, K.S. Microtubule disorientation and axonal swelling in unmyelinated and sensory axons during vincristine-induced painful neuropathy in rat. **J. Comp. Neurol.**, v. 395, p. 481-492, 1998.
- THEODOSIOU, M.; RUSH, R.A.; ZHOU, X.F.; HU, D.; WALKER, J.S.; TRACEY, D.J. Hyperalgesia due to nerve damage: role of nerve growth factor. **Pain**, v. 81, p. 245-255, 1999.
- THOMAS, D.A.; REN, K.; BESSE, D.; RUDA, M.A.; DUBNER, R. Application of nitric oxide synthase inhibitor, N omega-nitro-L-arginine methyl ester, on injured nerve attenuates neuropathy-induced thermal hyperalgesia in rats. **Neurosci. Lett.**, v. 210, p. 124-126, 1996.
- TODOROVIC, S.M.; RASTOGI, A.J.; TODOROVIC-JEVTOVIC, V. Potent analgesic effects of anticonvulsants on peripheral thermal nociception in rats. **Br. J. Pharmacol.**, v. 140, p. 255-260, 2003.
- TRACEY, D.J.; WALKER, J.S. Pain due to nerve damage: Are inflammatory mediators involved? **Inflamm. Res.**, v. 44, p.407-411, 1995.
- TREEDE R.-D.; MEYER, R.A.; RAJA, S.N.; CAMPBELL, J.N. Peripheral and central mechanisms of cutaneous hyperalgesia. **Prog. Neurobiol.**, v. 38, p. 397-421, 1992.
- TU, H.; JUELICH, T.; SMITH, E.M.; TYRING, S.K.; RADY, P.L.; HUGHES Jr, T.K. Evidence for endogenous interleukin-10 during nociception. **J. Neuroimmunology**, v. 139, p. 145-149, 2003.
- UEDA, H.; INOUE, M. Animal models and peripheral nociception tests for the study of neuropathic pain. **Folia Pharmacol. Jpn.**, v. 188, p. 89-95, 2001.
- UEDA, M.; HIROSE, M.; TAKEI, N.; IBUKI, T.; NARUSE, Y.; AMAYA, F.; IBATA, Y.; TANAKA, M. Nerve growth factor induces systemic hyperalgesia after thoracic burn injury in the rat. **Neurosci. Lett.**, v. 328, p. 97-100, 2002.
- USHIDA, T.; TANI, T.; KANBARA, T.; ZINCHUK, V.S.; KAWASAKI, M.; YAMAMOTO, H. Analgesic effects of ketamine ointment in patients with complex regional pain syndromes type 1. **Reg. Anesth. Pain Med.**, v. 27, p. 524-528, 2002.
- VAN TULDER, M.; KOES, B. Low back pain and sciatica. **Clin. Evid.**, v. 5, p. 772-789, 2001.

- VANEGAS, H.; TORTORICI, V. Opioidergic effects of nonopioid analgesics on the central nervous system. **Cell. Mol. Neurobiol.**, v.22, p. 655-661, 2002.
- VENERONI, O.; MAJ, R.; CALABRESI, M.; FAVARELLI, L.; FARIELLO, R.G.; SLAVATI, P. Anti-allodynic effect of NW-1029, a novel Na⁺ channel blocker, in experimental animal models of inflammatory and neuropathic pain. **Pain**, v. 102, p. 17-25, 2003.
- von HEIJNE, M.; HAO, J.X.; YU, W.; SOLLEVI, A.; XU, X.J.; WIESENFELD-HALLIN, Z. Reduced anti-allodynic effect of the adenosine A1-receptor agonist R-phenylisopropyladenosine on repeated intrathecal administration and lack of cross-tolerance with morphine in a rat model of central pain. **Anesth. Analg.**, v. 87, p. 1367-1371, 1998.
- VRINTEN, D.H.; KALKMAN, C.J.; ADAN, R.A.H. GISPEN WH. Neuropathic pain: a possible role for the melanocortin system? **Eur. J. of Pharmacol.**, v. 429, p. 61-69, 2001.
- WAGNER, R.; JANJIGIAN, M.; MYERS, R.R. Anti-inflammatory interleukin-10 therapy in CCI neuropathy decreases thermal hyperalgesia, macrophage recruitment, and endoneurial TNF α expression. **Pain**, v. 74, p. 35-42, 1998.
- WAIKAKUL, S.; WAIKAKUL, W.; PAUSAWASDI, S. Brachial plexus injury and pain: incidence and the effects of surgical reconstruction. **J. Med. Assoc. Thai.**, v. 83, p. 708-718, 2000.
- WALKER, K.M.; URBAN, L.; MEDHURST, S.T.; PATEL, S.; PANSER, M.; FOX, A.J.; McINTYRE, P. The VR1 antagonist capsazepine reverses mechanical hyperalgesia in models of inflammatory and neuropathic pain. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 304, p. 56-62, 2003.
- WALL, P.D.; SCADDING, J.W.; TOMKIEWICZ, M.M. The production and prevention of experimental anesthesia dolorosa. **Pain**, v. 6, p. 175-182, 1979.
- WALLACE, M. Emerging drugs of neuropathic pain. **Expert. Opin. Emerging Drugs**, v. 6, p. 249-259, 2001.
- WALLACE, M.S.; RIDGEWAY, B.M.; LEUNG, A.Y.; GERAYLI, A.; YAKSH, T.L.; Concentration-effect relationship of intravenous lidocaine on the allodynia of complex regional pain syndrome types I and II. **Anesthesiology**, v. 92, p. 75-83, 2000.
- WANG, L.X.; WANG, Z.J. Animal and cellular models of chronic pain. **Adv. Drug Delivery Rev.**, v. 55, p. 949-965, 2003.

- WATKINS, L.R.; MAIER, S.F. Beyond neurons: Evidence that immune and glial cells contribute to pathological pain states. **Physiol. Rev.**, v. 82, p. 981-1011, 2002.
- WATKINS, L.R.; MAIER, S.F. The pain of being sick: implications of immune-to-brain communication for understanding pain. **Ann. Rev. Psychol.**, v. 51, p. 29-57, 2000.
- WATKINS, L.R.; MAIER, S.F.; GOEHLER, L.E. Immune activation: the role of pro-inflammatory cytokines in inflammation, illness, responses and pathological pain states. **Pain**, v. 63, p. 289-302, 1995.
- WIESENFELD-HALLIN, Z.; HAO, J.X.; XU, X.J.; HOKFELT, T. Nitric oxide mediates ongoing discharges in dorsal root ganglion cells after peripheral nerve injury. **J. Neurophysiol.**, v. 70, p. 2350-2353, 1993.
- WILLIS, JR, W.D. Anatomy and physiology of descending control of nociceptive responses of dorsal horn neurons: comprehensive review. **Prog. Brain Res.**, v. 77, p. 1-29, 1988.
- WOLKA, A.M.; HUBER, J.D.; DAVIS, T.P. Pain and the blood-brain barrier: obstacles to drug delivery. **Adv. Drug Delivery Rev.**, v.55, p. 987-1006, 2003.
- WOOLF, C.J. Recent advances in the pathophysiology of acute pain. **Br. J. Anesthesiol.**, v. 63, p. 139-146, 1989.
- WOOLF, C.J.; DOUBELL, T.P. The pathophysiology of chronic pain – increased sensitivity to low threshold A beta-fibre inputs. **Curr. Opin. Neurobiol.**, v. 4, p. 525-534, 1994.
- WOOLF, C.J.; MANNION, R.J. Neuropathic pain: aetiology, symptoms, mechanisms, and management. **Lancet**, v. 353, p. 1959-1964, 1999.
- WOOLF, C.J.; SHORTLAND, P.; COGGESHALL, R.E. Peripheral nerve injury triggers central sprouting of myelinated afferents. **Nature**, v. 335, p.75-78, 1992.
- WOOLF, C.J.; THOMPSON, S.W. The induction and maintenance of central sensitization is dependent on N-methyl-D-aspartic acid receptor activation: implications for the treatment of post-injury pain hypersensitivity states. **Pain**, v. 44, p.293-299, 1991.
- WOOLF, C.J.; WALL, P.D. Chronic peripheral nerve section diminishes the primary afferent A-fibre mediated inhibition of rat dorsal horn neurons. **Brain Res.**, v. 242, p. 77-85, 1982.

- WYNN PARRY, C.B. Brachial plexus injury. In: VINKEN, P.J.; BRUYN, G.W., ed. **Handbook of Clinical Neurology**. Amsterdam, North-Holland, v.7, p. 143-155, 1970.
- WYNN PARRY, C.B. Pain in avulsion lesions of the brachial plexus. **Pain**, v. 9, p. 41-53, 1980.
- WYNN PARRY, C.B. Pain in avulsion of the brachial plexus. **Neurosurgery**, v. 15, p. 960-964, 1984.
- XU, Z.; CHEN, S.-R.; EISENACH, J.C.; PAN, H.-L. Role of spinal muscarinic and nicotinic receptors in clonidine-induced nitric oxide release in a rat model of neuropathic pain. **Brain Res.**, v. 861, p. 390-398, 2000.
- YAMAMOTO, T; YAKSH, T.T.L. Effects of colchicine applied to the peripheral nerve on the thermal hyperalgesia evoked with chronic nerve constriction. **Pain**, v. 55, p. 227-233, 1993.
- YU, L.C.; HANSSON, P.; LUNDEBERG, T. The calcitonin gene-related peptide antagonist CGRP₈₋₃₇ increases the latency to withdrawal responses bilaterally in rats with unilateral experimental mononeuropathy, an effect reversed by naloxone. **Neuroscience**, v. 71, p. 523-531, 1996.
- ZANINI, M.; TAKAHASHI, R.N. Sex difference in sensitization to the locomotor effects of mazindol in rats. **Brain Res. Bull.**, v. 4, p.385-387, 1994.
- ZEMLAN, F.P.; BEHBEHANI, M.M.; MURPHY, R.M. Serotonin receptors subtypes and the modulation of pain transmission. **Prog. Brain Res.**, v. 77, p. 349-355, 1988.
- ZHANG, J.; HOFFER, C.; VU, H.K.; GROBLEWSKI, T.; AHMAD, S.; O'DONNELL. Induction of CB2 receptor expression in the rat spinal cord of neuropathic but not inflammatory chronic pain models. **Eur. J. Neurosci.**, v. 17, p. 2750-2754, 2003.
- ZHAO, Z.; CHEN, S.R.; EISENACH, J.C.; BUSIJA, D.W.; PAN, H.L. Spinal cyclooxygenase-2 is involved in development of allodynia after nerve injury in rats. **Neuroscience**, v. 97, p. 743-748, 2000.
- ZIMMERMANN, M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. **Pain**, v. 16, p. 109-110, 1983.
- ZIMMERMANN, M. Pathobiology of neuropathic pain. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 429, p. 23-37, 2001.