

UFRRJ

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
MULTICÊNTRICO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

DISSERTAÇÃO

**AVALIAÇÃO ANTI-INFLAMATÓRIA E ANTINOCICEPTIVA
DO COMPOSTO MOLECULAR HÍBRIDO DE TRICLOSAN
COM CETOPROFENO**

DAIANE BARRETO SUZANO DOS SANTOS

2024



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MULTICÊNTRICO EM
CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

**AVALIAÇÃO ANTI-INFLAMATÓRIA E ANTINOCICEPTIVA DO
COMPOSTO MOLECULAR HÍBRIDO DE TRICLOSAN COM
CETOPROFENO**

DAIANE BARRETO SUZANO DOS SANTOS

Sob a orientação do Professor
Bruno Guimarães Marinho

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas (PPGMCF) como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas, pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Área de concentração: Fisiologia.

Seropédica, RJ

Fevereiro de 2024

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S237a

Santos, Daiane Barreto Suzano dos, 1983-
Avaliação anti-inflamatória e antinociceptiva do
composto molecular híbrido de triclosan com
cetoprofeno / Daiane Barreto Suzano dos Santos. -
Seropédica, 2024.
138 f.

Orientador: Bruno Guimarães Marinho.
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação
Multicêntrico em Ciências Fisiológicas, 2024.

1. Dor. 2. Inflamação. 3. Nocicepção. 4.
Cetoprofeno. 5. Triclosan. I. Marinho, Bruno
Guimarães, 1978-, orient. II Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação
Multicêntrico em Ciências Fisiológicas III. Título.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS



TERMO N° 108/2024 - DeptCF (12.28.01.00.00.48)

N° do Protocolo: 23083.011123/2024-84

Seropédica-RJ, 04 de março de 2024.

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MULTICÊNTRICO EM
CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

DAIANE BARRETO SUZANO DOS SANTOS

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Fisiológicas**, no Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas, área de Concentração em Fisiologia.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 26/02/2024

Prof Dr Bruno Guimarães Marinho (Orientador – UFRRJ) (Orientador)

Profa Dra Raquel do Nascimento de Souza (Membro Interno – UFRRJ)

Profa Dra Maria Eline Matheus (Membro Externo – UFRJ)

Documento não acessível publicamente

(Assinado digitalmente em 04/03/2024 14:36)

BRUNO GUIMARAES MARINHO

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR DeptCF (12.28.01.00.00.48)

Matricula: ###740#3

(Assinado digitalmente em 09/03/2024 14:59)

RAQUEL DO NASCIMENTO DE SOUZA

TECNICO DE LABORATORIO AREA DeptCF (12.28.01.00.00.48)

Matricula: ###412#4

(Assinado digitalmente em 04/03/2024 15:45)

MARIA ELINE MATHEUS

ASSINANTE EXTERNO

CPF: ###.###.717-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrj.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: **108**, ano: **2024**, tipo: **TERMO**, data de emissão: **04/03/2024** e o código de verificação: **26001be4cd**

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu Deus, sem ele eu jamais conseguiria, ao meu marido e aos meus pais, por todo amor, dedicação e incentivo para que esse sonho se realizasse.

AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus único e verdadeiro, nas pessoas do Pai, do Filho e do Espírito Santo, muito obrigada, por todo sustento, provisão, livramento, ajuda, graça, proteção, misericórdia e bênçãos, sem o Senhor eu jamais conseguiria chegar até aqui. Ebenézer! Até aqui me ajudou o Senhor.

Ao meu marido, o grande amor da minha vida, muito obrigada por toda ajuda, incentivo, amparo, suporte, investimento, paciência e companheirismo, sem você eu não teria conseguido, muito obrigada por me amar e cuidar de mim com excelência, muito obrigada por não deixar eu desistir no meio do caminho, a vitória certamente é nossa.

Ao meu Papai Querido, muito obrigada por me amar como ninguém, muito obrigada por ter sido meu ajudador todos os dias, durante seis anos, o amor e a ajuda do senhor foram essenciais para que eu chegasse até aqui.

A minha Mãe Querida, muito obrigada por todo auxílio, dedicação e empenho em relação a mim. Ao meu Tio Tato, muito obrigada pela torcida, incentivo, amor e força.

A minha sogra, Nilzinha, muito obrigada por ser generosa, por me ajudar em muitas situações.

A minha pastora, Zanza, muito obrigada pelas orações, por me ouvir sempre que eu precisava falar, por profetizar bênçãos sobre a minha vida, sua intercessão me fez avançar e permanecer.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Bruno Guimarães Marinho, muito obrigada pela gentileza, paciência, incentivo, ajuda, ensino e generosidade com que o senhor sempre me tratou, o senhor é uma pessoa muito admirável.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ). This study was financed in part by the Rio de Janeiro Research Foundation (FAPESP).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). This study was financed in part by The Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq).

RESUMO

DOS SANTOS, Daiane Barreto Suzano. **Avaliação anti-inflamatória e antinociceptiva do composto molecular híbrido de triclosan com cetoprofeno.** 2024. 138p. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas). Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2024.

Objetivando maximizar os benefícios e minimizar os danos de fármacos bem estabelecidos, o design molecular veio unir a atividade bacteriostática do triclosan com a anti-inflamatória do cetoprofeno em uma molécula híbrida inédita, o composto JO-04. Neste estudo investigamos os efeitos antinociceptivos e anti-inflamatórios do JO-04, em modelos experimentais usando camundongos *Swiss*. Os efeitos antinociceptivos do JO-04, foram avaliadas pelos testes de contorções abdominais induzidos por ácido acético, formalina, retirada de cauda e campo aberto. E os efeitos anti-inflamatórios, foram avaliadas pelo teste de edema de pata induzido por carragenina, histamina, serotonina e bradicinina e bolha de ar subcutânea com quantificação de leucócitos totais e citocinas. Comparamos todos os resultados com o grupo controle de cada modelo experimental. No modelo de contorções abdominais, induzidas por ácido acético, o JO-04 nas maiores doses, 5 e 10 mg/kg, reduziu o número de contorções. No modelo de formalina, o JO-04, nas maiores doses reduziu o tempo de lambertura nas duas fases. No teste de retirada de cauda, o JO-04 nas maiores doses, induziu aumento no tempo de latência. Apenas o L-NAME e a atropina, administrados previamente ao composto, foi capaz de diminuir o efeito no modelo de retirada da cauda. No modelo de campo aberto, nenhuma dose testada do JO-04 foi capaz de alterar significativamente a movimentação espontânea dos animais. No modelo de edema de pata induzido por carragenina, o JO-04, na maior dose, diminui o edema. Nos demais modelos de indução de edema, notou-se que o JO-04 inibiu a formação de edema em praticamente todas as doses testadas. No modelo de bolsa de ar subcutâneo, o JO-04 diminuiu o número de leucócitos totais, assim como, na sua maior dose, reduziu a síntese de citocinas. Conforme os resultados obtidos nos métodos empregados, podemos concluir que o JO-04 apresentou efeito antinociceptivo e anti-inflamatório nos modelos de dor e inflamação aguda, sugerindo suas potencialidades para fins terapêuticos.

Palavras-chave: dor; nocicepção; inflamação; camundongos.

ABSTRACT

DOS SANTOS, Daiane Barreto Suzano. **Anti-inflammatory and antinociceptive evaluation of the hybrid molecular compound of triclosan with ketoprofen.** 2024. 138p. Dissertation (Master's Degree in Physiological Sciences). Institute of Biological and Health Sciences, Department of Physiological Sciences, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2024.

Aiming to maximize the benefits and minimize the harm of well-established drugs, the molecular design combined the bacteriostatic activity of triclosan with the anti-inflammatory activity of ketoprofen. In an unprecedented hybrid molecule, the compound JO-04. In this study we investigated the antinociceptive and anti-inflammatory effects of JO-04 in experimental models using *Swiss mice*. The antinociceptive effects of JO-04 were evaluated by abdominal contortion tests induced by acetic acid, formalin, tail removal and open field. And the anti-inflammatory effects were evaluated by the paw edema test induced by carrageenan, histamine, serotonin and bradykinin and subcutaneous air bubble with quantification of total leukocytes and cytokines. We compared all results with the control group of each experimental model. In the model of abdominal contortions induced by acetic acid, JO-04 at the highest doses, 5 and 10 mg/kg, reduced the number of contortions. In the formalin model, JO-04, in the highest doses, reduced the licking time in both phases. In the tail withdrawal test, JO-04 in the highest doses induced an increase in latency time. Only L-NAME and atropine, administered prior to the compound, was able to reduce the effect in the tail withdrawal model. In the open field model, no tested dose of JO-04 was able to significantly alter the spontaneous movement of the animals. In the carrageenan-induced paw edema model, JO-04, at the highest dose, reduces edema. In the other edema induction models, it was noted that JO-04 inhibited the formation of edema at practically all doses tested. In the subcutaneous air pocket model, JO-04 reduced the number of total leukocytes, as well as, at its highest dose, reducing the synthesis of cytokines. According to the results obtained in the methods employees, we can conclude what OJ-04 presented It is made antinociceptive and anti-inflammatory in models of pain and acute inflammation, suggesting your potential for therapeutic purposes.

Key words: pain; nociception; inflammation; mice.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Principais classes de dor em relação ao estímulo. (A) A dor nociceptiva representa a sensação associada com a detecção de estímulos nocivos potencialmente prejudiciais dos tecidos, possui caráter protetor. (B) A dor inflamatória e associada a danos nos tecidos e a ação de mediadores inflamatórios podem promover a reparação e causar hipersensibilidade a dor até que ocorra a cura. (C) A dor patológica é um estado de doença causada por danos no sistema nervoso, sendo a principal a dor neuropática.....	7
Figura 2 - Condução dos impulsos nociceptivos.....	9
Figura 3 - Componentes dos nociceptores.....	10
Figura 4 - A extensão das fibras nociceptivas desde a periferia até o corno dorsal da medula espinal.....	12
Figura 5 - As duas principais vias de ascendência da informação nociceptiva da medula espinal ao córtex somatossensorial.....	13
Figura 6 - Visão geral do circuito nociceptivo. A ativação da terminação nervosa periférica por um estímulo nocivo leva à geração de potenciais de ação, que são conduzidos até o corno dorsal da medula espinal. A neurotransmissão no corno dorsal transmite o sinal a neurônios do SNC, que enviam o sinal ao cérebro. Esse circuito também está sujeito a controle modulador descendente.....	14
Figura 7 - Sensibilização periférica. Setas brancas - liberação, setas pretas - ligação a um receptor. NGF: Fator de crescimento nervoso; BDNF: Fator nervoso derivado do cérebro; COX: ciclooxigenase; NO: óxido nítrico; Substância P: substância P; CGRP: peptídeo relacionado com o gene da calcitonina; TNF: fator de necrose tumoral; IL-1 β : interleucina 1 β ; ATP: adenosina trifosfato; μ , δ : receptores de opioides; PG: prostaglandinas; LT: leucotrienos; TX: tromboxanos; P2X: receptor de ATP; TRPV1: receptor vanilóide.....	16
Figura 8 - Correlação dos sintomas da dor com as mudanças funcionais dos neurônios	17
Figura 9 - Esquema de transmissão sináptica.....	19
Figura 10 - Esquema de transmissão sináptica com receptores desbloqueados.....	20
Figura 11 - Representação esquemática dos circuitos de modulação da dor.....	22
Figura 12 - Sistema descendente modulatório da nocicepção. O córtex cingulado anterior (ACC), ínsula e amígdala ativam projeções descendentes diretamente ou via hipotálamo para a substância cinzenta periaquedutal (PAG).....	23

Figura 13 - Regulação inibitória da neurotransmissão. A norepinefrina, o GABA e os opióides, que são liberados por neurônios inibitórios descendentes e/ou de circuito local, atuam em nível tanto pré-sináptico quanto pós-sináptico, inibindo a neurotransmissão. A inibição pré-sináptica é mediada pela atividade reduzida dos canais de cálcio sensíveis à voltagem, enquanto a inibição pós-sináptica é mediada principalmente pelo aumento do influxo de cloreto e efluxo de potássio.....	25
Figura 14 - Mediadores da inflamação.....	26
Figura 15 - Respostas desencadeadas pelo processo inflamatório.....	27
Figura 16 - Processo com múltiplas etapas da migração de neutrófilos ao longo dos vasos sanguíneos.....	29
Figura 17 - Cascata do ácido araquidônico.....	37
Figura 18 - Via do óxido nítrico na nocicepção.....	40
Figura 19 - Via do óxido nítrico na antinocicepção.....	40
Figura 20 - Vias de síntese, armazenamento, liberação e degradação da acetilcolina e agentes farmacológicos que atuam sobre essas vias.....	42
Figura 21 - Resumo dos mecanismos modulatórios na via nociceptiva.....	46
Figura 22 - Fórmula estrutural do triclosan.....	48
Figura 23 - Fórmula estrutural do cetoprofeno.....	50
Figura 24 - Estrutura do composto 5-cloro-2-(2,4-diclorofenoxi) fenil propanoato de 2-(3benzil fenila).....	52
Figura 25 - Protocolo experimental do modelo de contorção abdominal induzido por ácido acético.....	57
Figura 26 - Protocolo experimental do modelo de formalina.....	57
Figura 27 - Protocolo experimental do modelo de retirada de cauda.....	58
Figura 28 - Protocolo experimental do modelo de retirada de cauda com administração prévia de antagonistas.....	59
Figura 29 - Protocolo experimental do modelo de campo aberto.....	59
Figura 30 - Protocolo experimental do modelo do edema de pata induzido por carragenina.....	60
Figura 31 - Protocolo experimental do modelo de edema de pata induzido por histamina, serotonina e bradicinina	61
Figura 32 - Protocolo experimental do modelo da bolsa de ar subcutânea estéril.....	62
Figura 33 - Efeito antinociceptivo do composto JO-04 no modelo de contorções abdominais. A significância estatística (** $p < 0,01$) e (***) $p < 0,001$) foi por ANOVA acompanhado pelo	

teste de Bonferroni calculada entre o grupo controle e os grupos tratados com veículo, morfina (5,01 mg/kg) e o composto (1, 5 e 10 mg/kg)	64
Figura 34 - Curvas Log dose-resposta do composto JO-04 (A) e seus precursores triclosan (B) e cetoprofeno (C) no modelo de contorções abdominais induzidas por ácido acético.....	65
Figura 35 - Efeito antinociceptivo do composto JO-04 no modelo de formalina. A significância estatística (* $p < 0,05$) e (** $p < 0,01$) foi calculada por ANOVA acompanhado pelo teste de Bonferroni entre o grupo controle e os grupos tratados com veículo, morfina (5,01 mg/kg), ácido acetilsalicílico (AAS – 100 mg/kg) e o composto JO-04 (1, 5 e 10 mg/kg)	66
Figura 36 - Efeito antinociceptivo do composto JO-04 no modelo de retirada da cauda (A) e representação do cálculo da área sob a curva (B). A significância estatística (* $p < 0,05$), (** $p < 0,01$) e (***) $p < 0,001$) foi calculada por ANOVA acompanhado pelo teste de Bonferroni entre o grupo controle e os grupos tratados com veículo, morfina (8,15 mg/kg) e o composto (1, 5 e 10 mg/kg)	68
Figura 37 - Avaliação da administração prévia de Naloxona (Nal – 5 mg/kg), L-NAME (L-N - 1 mg/kg), L-Arginina (L-Arg – 3 mg/kg) e Atropina (Atro – 3 mg/kg) sobre o efeito antinociceptivo do composto JO-04 no modelo de retirada da cauda (A). Avaliação da administração prévia de Ondansetrona (Ond – 0,5 mg/kg), Ioimbina (Ioi – 0,15 mg/kg), 1H-[1,2,4] Oxadiazol[4,3-a]quinoxalina-1-ona (ODQ – 0,5 mg/kg), Mecamilamina (Mec – 1,5mg/kg) e Glibenclamida (Gli – 3 mg/kg) (B). Representação do cálculo da área sob a curva (C). A significância estatística (* $p < 0,05$) e (** $p < 0,01$) foi calculada por ANOVA acompanhado pelo teste de Bonferroni entre o grupo administrado com o composto isoladamente e os grupos previamente tratados com naloxona, L-NAME, atropina, L-arginina, ondansetrona, mecamilamina, ODQ, ioimbina e glibenclamida associados ao composto.....	71
Figura 38 - Avaliação do déficit motor do composto JO-04 no modelo de campo aberto em camundongos. Os tratamentos foram realizados por via oral. A significância estatística (* $p < 0,05$) foi calculada por ANOVA acompanhado pelo teste de Bonferroni entre o grupo controle e os grupos tratados com veículo, diazepam (3 mg/kg) e o composto JO04 (10 mg/kg)	73
Figura 39 - Efeito antiedematogênico do composto JO-04 no modelo de edema de pata induzido por carragenina em camundongos (A) e Representação do cálculo da área sob a curva (B). A significância estatística (* $p < 0,05$) e (** $p < 0,01$) foi calculada por ANOVA acompanhado pelo teste de Bonferroni entre o grupo controle e os grupos veículo, dexametasona (2,25 mg/kg; s.c.) e o composto (1, 5 e 10 mg/kg)	74

Figura 40 - Efeito antiedematogênico do composto JO-04 no modelo de edema de pata induzido por histamina em camundongos. A significância estatística (* $p < 0,05$), (** $p < 0,01$) e (***) $p < 0,001$) foi calculada por ANOVA acompanhado pelo teste de Bonferroni entre o grupo controle e os grupos veículo, prometazina (5 mg/kg; s.c.) e o composto (1, 5 e 10 mg/kg)	75
Figura 41 - Efeito antiedematogênico do composto JO-04 no modelo de edema de pata induzido por serotonina em camundongos. A significância estatística (** $p < 0,01$) foi calculada por ANOVA acompanhado pelo teste de Bonferroni entre o grupo controle e os grupos veículo, dexametasona (2,25 mg/kg; s.c.) e o composto (1, 5 e 10 mg/kg)	76
Figura 42 - Efeito antiedematogênico do composto JO-04 no modelo de edema de pata induzido por bradicinina em camundongos. A significância estatística (***) $p < 0,001$) foi calculada por ANOVA acompanhado pelo teste de Bonferroni entre o grupo controle e os grupos veículo, dexametasona (2,25 mg/kg; s.c.) e o composto (1, 5 e 10 mg/kg)	77
Figura 43 - Efeito do composto JO-04 na quantificação de leucócitos totais (A), e de citocinas (B- TNF- α , C- IL-1 β e D-IL-6) a partir do teste bolsa de ar subcutâneo. Os animais foram pré-tratados com solução salina, veículo, dexametasona (2,25 mg/kg; s.c.) e o JO-04 (1,5 e 10 mg/kg). Na bolsa de ar subcutâneo foram aplicadas solução salina e carragenina. Os resultados são expressos como média \pm E.P.M. (n = 6) da concentração de leucócitos ou de citocinas. A significância estatística (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$) foi calculada entre o grupo controle que recebeu solução carragenina por via subcutânea e os grupos tratados com veículo, dexametasona e doses crescentes do composto e a significância estatística (#### $p < 0,001$) foi calculada entre o grupo que recebeu solução salina e o grupo controle que recebeu solução carragenina por via subcutânea, por One-Way ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni.....	79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação e principais característica da dor, quanto a origem dos estímulos.....	8
Tabela 2 - Subtipos das fibras nervosas A δ e C.....	10
Tabela 3 - Classificação das fibras sensitivas.....	11
Tabela 4 - As ações dos principais mediadores do processo inflamatório.....	31 e 32
Tabela 5 - Modelo de contorções abdominais induzidas por ácido acético.....	64
Tabela 6 - Tempos de lambedura, em segundos, no modelo de formalina.....	67
Tabela 7 - Tempos de latência, em segundos, no modelo de retirada de cauda.....	69
Tabela 8 - Avaliação da influência da administração prévia de Naloxona, L-NAME, L-arginina, Atropina, Ondansetrona, Ioimbina, Glibenclamida, ODQ e Mecamilamina sobre os tempos de latência induzidos pelo JO-04 no modelo de retirada de cauda.....	72
Tabela 9 - Avaliação no modelo de campo aberto.....	73
Tabela 10 - Avaliação no modelo de edema de pata induzido por carragenina.....	75
Tabela 11 - Avaliação no modelo de edema de pata induzido por histamina, serotonina e bradicinina.....	78
Tabela 12 - Quantificação de citocinas no modelo de bolha de ar subcutâneo.....	80

LISTA DE ABREVIACÕES, SIGLAS OU SÍMBOLOS

2-AG	2-araquidonoilglicerol
5-HT	Serotonina
AA	Ácido araquidônico
ACC	Córtex cingular anterior
ACh	Acetilcolina
AIEs	Anti-inflamatórios esteroides
AINEs	Anti-inflamatórios não esteroides
AMPA	Alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico
ANOVA	Análise de variância
ASC	Área sob a curva
ASP	Associação internacional para o estudo da dor
ATP	Adenosina trifosfato
Aδ	Fibra nervosa do tipo A-delta
C	Fibra nervosa do tipo C
C3a	Fragmento do componente complemento C3
C4a	Fragmento do componente complemento C4
C5a	Fragmento do componente complemento C5
C9	Fragmento do componente complemento C9
Ca²⁺	Íon cálcio
CET	Cetoprofeno
CEUA	Comissão de ética para o uso de animais
CGRP	Peptídeo relacionado ao gene de calcitonina
CIPA	Insensibilidade congênita à dor com anidrose
cm	centímetros
COX-1	Ciclooxigenase-1
COX-2	Ciclooxigenase-2
COXs	Ciclooxigenases
DAG	Diacilglicerol
DAO	Diamina oxidase
DbcGMP	Monofosfato de dibutirilguanosina-cíclica
DLF	Funículo dorso lateral
DLPT	Região dorso lateral da ponte

DMSO	Dimetilsulfóxido
DNIc	Controle inibitório nocivo difuso
DRD	Gânglios da raiz dorsal
DRt	Subnúcleo reticular dorsal
EDRF	Fator Relaxante do Endotélio
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática
EPM	Erro padrão da média
EROs	Espécies reativas de oxigênio
g	grama
G	Proteína G
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GCS	Glicocorticóides
Gi	Proteína G inibitória da adenilato ciclase
GMPc	Monofosfato cíclico de guanosina
Gq	Proteína G ativadora da fosfolipase C
GRD	Gânglio da raiz dorsal
Gs	Proteína G estimulatória da adenilato ciclase
GTP	Guanosina trifosfato
H⁺	Íon hidrogênio
H₂O₂	Peróxido de hidrogênio
HDC	L-histidina descarboxilase
HM	Hibridização molecular
HMT	Histamina metiltransferase
HO⁻	Hidroxila
i.p.	Intraperitoneal
IASP	International Association for the Study of Pain
ICAM1	Molécula de adesão intercelular1
ICBS	Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde
ID50	Dose correspondente a 50% do efeito inibitório de uma droga
IFN-γ	Interferon gama
IL- 1	Interleucina 1
IL- 6	Interleucina - 6
IL- 8	Interleucina - 8

IL-10	Interleucina - 10
IL-12	Interleucina 12
IL-13	Interleucina 13
IL-1β	Interleucina -1 β
IL-4	Interleucina 4
IL-7	Interleucina 7
ILs	Interleucinas
IP3	Trifosfato de inositol
IS	Índice de seletividade
JO-04	5-cloro-2-(2,4-diclorofenoxi) fenil propanoato de 2-(3benzil fenila)
K⁺	Íon potássio
K⁺ ATP	Canal de potássio dependente de ATP
Kg	quilograma
L- NAME	N(ω)-nitro-L-arginina metil éster
LC	Locus coeruleus
LOPXs	Lipooxygenases
LPS	Lipopolissacarídeo
LTA4	Leucotrieno A4
LTB4	Leucotrieno B4
LTC4	Leucotrieno C4
LTD4	Leucotrieno D4
LTs	Leucotrienos
LTP	Long term potentiation
M	Receptor muscarínico
M1	Receptor muscarínico subtipo 1
mAChR	Receptor muscarínico de acetilcolina
mg	miligrama
mg/ml	miligramas por mililitros
ml	mililitro
ml/g	mililitro por grama
Na⁺	Íon sódio
nAChR	Receptor nicotínico de acetilcolina
NaCl	Cloreto de sódio
NFKB	Fator de transcrição nuclear Kappa B

NGF	Fator de crescimento neural
NMDA	N-metil-D-aspartato
NO	Óxido nítrico
NOS 1	Óxido nítrico sintase constitutiva
NOS 2	Óxido nítrico sintase induzível
NOS 3	Óxido nítrico sintase neural
OCL⁻	Hipoclorito
ODQ	1H-[1,2,4] Oxadiazol[4,3-a]quinoxalina-1-ona
OMS	Organização Mundial da Saúde
ONOO⁻	Peroxinitrito
PAF	Fator ativador plaquetário
PAG	Substância cinzenta periaquedutal
PECAM-1	Molécula de adesão de plaqueta e células do endotélio
PGD₂	Prostaglandina D ₂
PGE₂	Prostaglandina E ₂
PGF_{2α}	Prostaglandina 2α
PGI₂	Prostaglandina I ₂
PI₃K_γ/AKT	Via de sinalização fosfatidilinositol-3-cinase
PK	Proteína quinase
PKC	proteína kinase C
PKG	Proteína quinase G
PLA	Enzima Fosfolipase A
PLA₂	Enzima Fosfolipase A ₂
PLC	Fosfolipase C
PNLCD	Plano Nacional de Luta Contra a Dor
P₂X₃	Receptor purinérgico
QM	Química Medicinal
RVM	Medula ventro rostral
s.c.	Via subcutânea
SBQ	Sociedade brasileira de química
SNC	Sistema nervoso central
SP	Substância P
TCS	Triclosan
TFS	Tampão fosfato salina

TMN	Núcleos tuberomamilaes do hipotálamo
TNF-α	Fator de necrose tumoral α
TXA4	Tromboxano A4
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
v.o.	Via oral
v/v	Volume por volume
VCAM	Molécula de adesão vascular 1
VDCC	Canais de cálcio dependentes de voltagens
VDKC	Canais de potássio sensíveis a voltagens
VMAT-2	Transportador vesicular de monoamina 2
VR1	Receptor vanilóide tipo 1
δ	Receptor DOR opioide
κ	Receptor KOR opioide
μ	Receptor MOR opioide
$\mu\text{g/ml}$	microgramas por mililitro
$\mu\text{mol/kg}$	micromol por quilograma

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1.1 Classificação da dor	4
2.1.2 Fisiopatologia da dor	8
2.1.2.1 Sensibilização periférica	14
2.1.2.2 Sensibilização central	17
2.1.2.3 Modulações de vias descendentes nociceptivas	20
2.2 Processo inflamatório	25
2.2.1 Citocinas	32
2.2.2 Histamina	33
2.2.3 Serotonina	35
2.2.4 Bradicinina	35
2.2.5 Mediadores inflamatórios lipídicos	36
2.3 Óxido Nítrico	37
2.4 Sistema colinérgico	40
2.5 Controle farmacológico da dor e inflamação	42
2.6 Triclosan	46
2.7 Cetoprofeno	47
2.8 Composto 5-cloro-2-(2,4-diclorofenoxi) fenil propanoato de 2-(3benzil fenila).....	50
3 OBJETIVOS	52
3.1 Objetivo Geral.....	52
3.2 Objetivos Específicos	52
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	52
4.1 Animais.....	52
4.2 Tratamentos	53
4.3 Agentes Químicos	54
4.4.1 Modelo de contorções abdominais induzidas por ácido acético.....	56
4.4.2 Modelo da formalina	56
4.4.3 Modelo de imersão da cauda em água quente.....	57
4.4.4. Modelo de campo aberto.....	58
4.5.1 Modelo de edema de pata	59
4.5.2 Modelo da bolsa de ar subcutâneo (air pouch).....	60
4.5.2.1 Contagem de leucócitos totais na cavidade de ar subcutânea estéril	61
4.5.2.2 Quantificação de mediadores inflamatórios	61
4.6 Análise estatística.....	62

5 RESULTADOS	62
5.1 Modelo de contorções abdominais induzidos por ácido acético	62
5.2 Modelo da formalina	65
5.3 Modelo de retirada de cauda	66
5.3.1 Avaliação do sistema opioide sobre o efeito antinociceptivo do composto JO-04 no modelo de retirada da cauda	68
5.3.2 Avaliação do sistema nitrérgico sobre o efeito antinociceptivo do composto JO-04 no modelo de retirada da cauda.....	68
5.3.3 Avaliação do sistema colinérgico muscarínico sobre o efeito antinociceptivo do composto JO-04 no modelo de retirada da cauda.....	69
5.4 Modelo de campo aberto	71
5.5 Modelos de avaliação da atividade anti-inflamatória	72
5.5.1 Modelo de edema de pata induzido por carragenina	72
5.5.3 Modelo de edema de pata induzido por serotonina	75
5.5.4 Modelo de edema de pata induzido por bradicinina.....	76
5.6 Modelo da bolsa de ar subcutâneo	77
5.6.1 Contagem de leucócitos totais na cavidade de ar subcutânea estéril.....	77
5.6.2 Quantificação de mediadores inflamatórios.....	77
5.7 Avaliação toxicológica aguda.....	78
6 DISCUSSÃO	80
7 CONCLUSÕES	91
8 REFERÊNCIAS.....	92

1 INTRODUÇÃO

A maioria das patologias cursam com a dor e/ou inflamação. Saliente-se ainda que elas sejam responsáveis pelo aumento da morbidade e mortalidade entre a população (OMS). Pode-se dessa forma perceber a importância do assunto em questão. Sendo este de interesse não só de uma classe específica de pessoas, bem como de todas as pessoas.

A dor é uma sensação angustiante que tem o seu relato influenciado por diversos aspectos de origens variadas. Há quem acredite que não senti-la tornaria a vida mais feliz, contudo uma rápida observação sobre a doença de “insensibilidade congênita à dor com anidrose (CIPA)”, por exemplo, muda radicalmente esse entendimento, visto que as pessoas com essa patologia possuem muitos prejuízos e limitações, tendo sua qualidade de vida reduzida e podendo ter sua longevidade bastante diminuída se não se enquadrarem aos sinais e sintomas dessa doença. Percebe-se dessa maneira que a dor é um componente relevante do sistema de defesa do organismo, constituindo uma sentinela que sinaliza quando algo está errado ou atua na tentativa de impedir um dano maior, como por exemplo no reflexo de retirada, onde ocorre a mobilização de uma resposta motora orquestrada pelo sistema nervoso. Na fisiologia da dor podem estar envolvidos mediadores específicos responsáveis pela complexidade de eventos que acontecem durante a transmissão da dor no sistema nervoso periférico e central.

A inflamação é mais uma resposta do organismo a desequilíbrio da homeostase, podendo ser ocasionada por agentes nocivos ou não físicos, mecânicos, biológicos e químicos. Este fenômeno natural ocorre quando o sistema está tentando combater infecções reais ou potenciais, eliminar moléculas tóxicas ou restabelecer-se de lesões físicas. Este processo é complexo, multimediado e dinâmico, que envolve a participação de mediadores específicos como, bradicinina, prostaglandinas, óxido nítrico dentre outros, que atuam em determinados receptores ativando vias de sinalização intracelular, e dessa maneira promovendo o desenvolvimento da sensibilização neuronal. Todavia também pode se tornar a causa de diversas doenças, tais como obesidade, doenças cardiovasculares e determinados tipos de câncer.

O arsenal terapêutico existente para o tratamento de dor e/ou inflamação envolve principalmente analgésicos opioides, anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) e glicocorticoides (GCs). Estando isto longe do ideal, visto que muitos são os efeitos adversos causados por eles. Sendo os responsáveis pelo abandono da terapia com estas classes de fármacos, ocasionando diversos prejuízos à saúde dos indivíduos e comprometendo a eficácia

do processo. Por isso, a descoberta de novos fármacos que induzam menos eventos adversos e sejam mais eficazes é relevante para a adesão do paciente ao tratamento, o sucesso da terapia e o desenvolvimento da ciência.

A cada ano o número de pesquisas neste campo de dor e inflamação aumenta devido ao grau de relevância na prática clínica e no bem-estar como um todo dos indivíduos. Soma-se a isso o fato de que os pesquisadores estão usando cada vez mais o design molecular na busca por novos fármacos que possam ser usados para tratar dor e inflamação. Uma vez que, envolve modificações na estrutura química dos compostos, aperfeiçoando a potência e a eficácia dos mesmos. Em adição, objetiva-se a diminuição dos efeitos adversos, considerando-se seus possíveis efeitos tóxicos, melhora do grau de estabilidade nos tecidos e fluidos do organismo.

Nessa perspectiva, o presente estudo trata-se da avaliação da atividade farmacológica do composto híbrido sintético oriundo da união de triclosan (TCS) com o cetoprofeno (CET), fornecido pelo Professor Doutor Saulo Luís Capim do Instituto Federal de Ciência e Tecnologia Baiano, que é uma molécula com potencial atividade analgésica e/ou anti-inflamatória, sintetizado com o intuito de potencializar os possíveis efeitos terapêuticos das moléculas originais, melhorar seu perfil de atividade e suprimir ou mitigar efeitos deletérios.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Dor e Nocicepção

A origem da palavra dor envolve linguas distintas tais como: inglês médio, do anglo-francês *peine* (dor, sofrimento), o latim *poena* (pena, punição) e o grego *poin-e* (pagamento, pena, recompensa) (IASP,2020).

A Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP), inicialmente, definiu a dor, como uma experiência sensitiva e emocional desagradável associada a uma lesão tecidual real ou potencial, ou descrita nos termos de tal lesão (IASP, 1986).

No entanto, atualmente o conceito de dor foi revisado passando a ser uma experiência sensitiva e emocional desagradável associada, ou semelhante àquela associada, a uma lesão tecidual real ou potencial (IASP, 2020).

Ressalta-se que a dor é sempre uma experiência pessoal que é influenciada, em graus variáveis, por fatores biológicos, psicológicos e sociais. Dor e nocicepção são fenômenos diferentes. A dor não pode ser determinada exclusivamente pela atividade dos neurônios sensitivos. Através das suas experiências de vida, as pessoas aprendem o conceito de dor. O relato de uma pessoa sobre uma experiência de dor deve ser respeitado. Embora a dor geralmente cumpra um papel adaptativo, ela pode ter efeitos adversos na função e no bem-estar social e psicológico. A descrição verbal é apenas um dos vários comportamentos para expressar a dor; a incapacidade de comunicação não invalida a possibilidade de um ser humano ou um animal sentir dor (IASP, 2020). Apesar do conceito de dor ser mais adequado quando empregado para humanos, já que possui um componente emocional, convencionou-se a empregá-lo também a animais (Hellebrekers, 2002). A dor é considerada o quinto sinal vital, em uma lista que inclui a temperatura, frequência respiratória, frequência cardíaca e pressão arterial (Luna, 2006).

A origem da palavra nocicepção procede do latim *nocere* (doer) (IASP, 2020). O conceito de nocicepção tem sido utilizado há muito tempo para caracterizar o processo neural de codificação e processamento dos estímulos nocivos (IASP, 2008). A nocicepção, mediante experimentos executados através de metodologias específicas, pode ser mensurada. Por meio destes métodos realizados pode-se analisar as reações comportamentais dos animais, que são correspondentes a sensação de dor, imitando os fenômenos que acontecem clinicamente. Os testes de retirada de estímulos nociceptivos já são usados por um longo tempo a fim de estudar mecanismos de nocicepção. Estes modelos experimentais têm demonstrado uma grande

contribuição para o avanço do saber em áreas como a de receptores mensageiros intracelulares, a fisiopatologia da dor, os genes envolvidos neste contexto e a identificação de neurotransmissores. Ademais a ação farmacológica, como duração da ação, potência e eficácia, ao longo das últimas décadas, demonstrou apropriada analogia para a analgesia humana, em modelos de nocicepção aguda e dor crônica em animais, onde usaram um amplo espectro de analgésicos a fim de diminuir as respostas sensoriais reflexivas (Gregory e cols., 2013).

2.1.1 Classificação da dor

A dor pode ser classificada mediante diversos aspectos, tais como o tempo de duração, a fisiopatologia, a localização da dor, o envolvimento do sistema nervoso simpático e o local afetado (Sakata, 2008).

Quanto à classificação por tempo de duração, a dor pode ser classificada em aguda ou crônica. A dor aguda, normalmente, tem uma definição causal/temporal, sendo de curta duração e intensidade relevante (Moreira, 2001). Pode durar de minutos a algumas semanas, possuindo um tempo de manifestação bastante curto, correlacionada a lesões em órgãos ou tecidos, geradas por infecção, inflamação, traumatismos, dentre outros (SBED, 2017). Desaparecendo após intervenção apropriada, por exemplo, mediante a fármacos, imobilização, resultando em cura da lesão ou resolução da causa (Brasil, 2001; SBED, 2017). A dor aguda é imprescindível para o bom funcionamento do sistema fisiológico porque representa um aviso de uma lesão tecidual ter acontecido, ademais também promove reações de defesa, remoção do agente causador da perturbação da homeostase e fuga (Teixeira, 2009). O sistema nervoso autônomo simpático está hiperativo neste tipo de dor, devido a isso percebe-se sinais como agitação psicomotora, taquicardia, aumento da pressão arterial, ansiedade e taquipneia (Brasil, 2001). Ressalta-se também postura de proteção, expressões faciais e vocalização. Tendo um caráter protetivo. Exemplos de dor aguda, as causadas por condições como apendicite ou litíase nos rins, as dores de cólicas menstruais, as dores após torções, as cólicas intestinais pós-infecção alimentar, dentre outras (Brasil, 2001).

A dor contínua ou recorrente de duração maior que três meses é definida como dor crônica, tendo muitas vezes a etiologia desconhecida, não desaparece com o emprego dos procedimentos terapêuticos convencionais e é causa de incapacidades e inabilidades prolongadas (Moreira, 2001). A dor crônica, devido a sua longa duração, provoca comprometimento funcional, custo socioeconômico, incapacidade progressiva e sofrimento (Acta fisiátrica, 2004). Além disso, ela também é caracterizada por ser aquela que persiste por

mais de 1 mês após a resolução de uma lesão tecidual aguda ou acompanha uma lesão que não se cura. Estando assim, na maioria das vezes, relacionada a uma lesão incorretamente tratada e a doenças crônicas, como a fibromialgia (SBED, 2017). Na dor crônica ocorre adaptação aos sinais desencadeados pela hiperatividade do sistema nervoso autônomo simpático, mas existe a manifestação de ansiedade frequente e respostas emocionais (Brasil, 2001). Pelo fato da dor crônica ser composta particularmente por reações musculares esqueléticas psicocomportamentais que induzem repercussões biopsicossociais desfavoráveis e incapacidade, ela é desprovida do valor biológico bem singular da dor aguda (Clapham, 2003). De modo contraditório, apesar da dor crônica ser um sintoma para muitas patologias, ela também possui um conjunto de sintomas, portando-se desse modo como doença, contudo ainda não existe consenso entre os pesquisadores para conceituá-la como tal. Ressaltam-se seus sinais característicos bem limitadores, como por exemplo: alterações do sono, dependência de profissionais da saúde, de medicamentos, de instituições e de cuidadores, declínio acentuado na qualidade de vida, problemas nutricionais, imobilidade, alterações no sono, frustração, ansiedade, depressão, amargura, suicídio, medo, gerando um intenso sofrimento para o indivíduo que a tem (Siqueira, 2019). Ela não é tão somente, uma extensão da dor aguda. Na dor crônica ocorre repetidas estimulações nociceptivas, levando a diversas alterações no Sistema Nervoso Central (SNC) (Brasil, 2001). Variadas pesquisas têm se concentrado nas alterações que ocorrem no encéfalo de quem sofre com este tipo de dor. Em algumas áreas do córtex cerebral, modificações morfológicas têm sido identificadas, mediante análise de neuroimagem, em indivíduos que possuem dor crônica. Ademais revisões da literatura, têm demonstrado ocorrer alterações genéticas, físicas e funcionais no cérebro destes indivíduos. Conjectura-se que as mudanças neuroplásticas que acontecem indiquem um conjunto de fatores, como de sobrevivência, disfuncionais e adaptativos (Siqueira, 2019). Destaca-se o seu caráter incapacitante (Brasil, 2012). Exemplos de dor crônica: dores lombares, artrose e artrite.

Quanto a classificação pela origem do estímulo, a dor pode ser nociceptiva, inflamatória e neuropática.

A dor nociceptiva decorre do estímulo fisiológico dos receptores e da via de condução da dor, sendo concernente a danos aos tecidos musculares, ligamentares e ósseos, isso significa que ela depende da estimulação química, térmica ou mecânica dos nociceptores (Figura 1A) (Woolf, 2010; Schestatsky, 2008). Baseada em sua localização, pode ser visceral, na ocasião em que provém de órgãos viscerais ou pode ser somática, no momento em que deriva da pele ou músculo esquelético (Woolf, 2010).

A dor inflamatória é aquela gerada pela hipersensibilidade sensorial, que acontece em seguida a uma lesão de tecido, devido a liberação dos mediadores pró-inflamatórios, como por exemplo, bradicinina e histamina. Esta dor possui um aspecto protetivo, objetivando reduzir o movimento e o contato físico, contribuindo dessa forma para a cicatrização. Como por exemplo, posteriormente a uma cirurgia, sucederá na ferida um processo inflamatório, estímulos que antes não provocavam dor, nesta ocasião provocarão. Pois, depois de um dano ou infecção tissular, o sistema imunológico é ativado, e a este tipo de fenômeno dá-se o nome de dor inflamatória (Figura 1B) (SBED, 2010; Woolf, 2010).

Em contrapartida, a dor neuropática é aquela causada por uma doença ou lesão do sistema nervoso, ou seja, que afeta o sistema somatossensorial, ocasionando uma ativação anormal da via nociceptiva (fibras de pequeno calibre e trato espinotalâmico). Sendo frequentemente relatada como sensações agudas de formigamento, de choque elétrico ou de queimadura. Na maioria das vezes, acaba se tornando crônica, sendo de difícil tratamento, podendo apresentar um viés incapacitante. A dor neuropática é um tipo de dor crônica, pode ser central ou periférica. A central ocorre quando há alterações na modulação inibitória efetuada pelas vias descendentes e também pode resultar de modificação da via espino-tálamo-cortical. Já a periférica acontece quando os nervos periféricos são lesionados, alterando o padrão de condução dos impulsos, promovendo sensibilização central ou periférica (Figura 1C) (Baron, 2010; SBED, 2010).

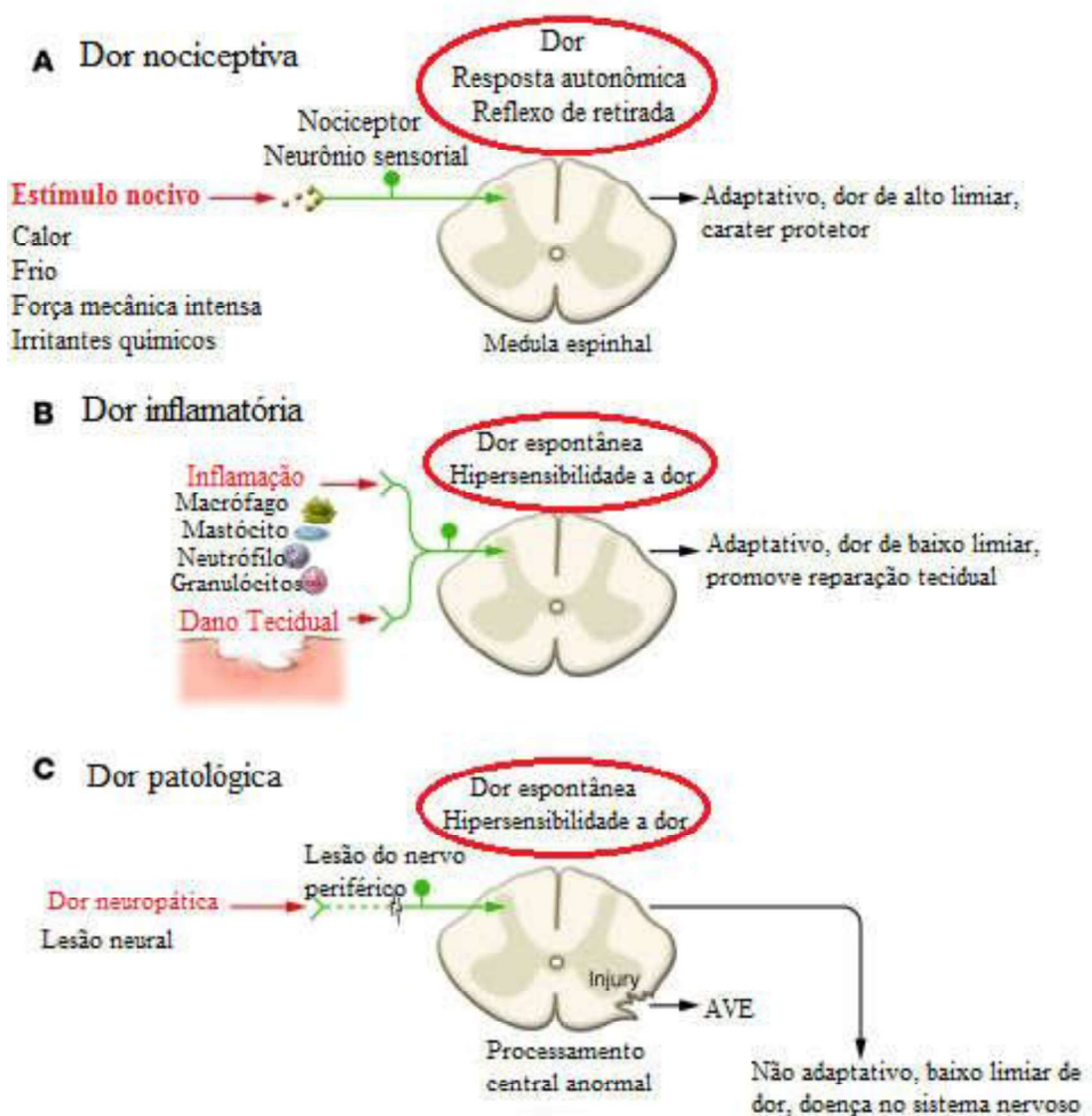


Figura 1 - Classificação da dor quanto a origem dos estímulos. (A) A dor nociceptiva representa a sensação associada com a detecção de estímulos nocivos potencialmente prejudiciais dos tecidos, possui caráter protetor. (B) A dor inflamatória é associada a danos nos tecidos e a ação de mediadores inflamatórios que podem promover a reparação e causar hipersensibilidade a dor até que ocorra a cura. (C) A dor patológica é um estado de doença causada por danos no sistema nervoso, sendo a principal a dor neuropática. (Fonte: adaptado de Woolf, 2010).

Existe também uma quarta classificação da dor, quanto a origem do estímulo, que é a dor disfuncional ou centralizada (Vardeh, 2016). Esta foi corroborada pela Sociedade Americana da Dor que ressaltou as características essenciais de cada táxon (Tabela 1) (Kumar, 2016).

Tabela 1 - Classificação e principais característica da dor, quanto a origem dos estímulos. (Fonte: adaptado de Vardeh, 2016; Kumar, 2016).

Classificação	Principais Características
Nociceptiva	<p>Evidência de injúria (física) nociva</p> <p>Sintomas: dor localizada na área de estímulo / lesão</p> <p>Sinais: exames de imagem / patologia mecânica</p> <p>Geralmente produzidas por forças excessivas suficientes para ativar nociceptores</p>
Inflamatória	<p>Evidência de inflamação quer seja estéril ou infecciosas</p> <p>Sintomas: vermelhidão, calor, edema</p> <p>Sinais: alterações inflamatórias, detecção de patógenos/resposta a antibióticos e/ou anti-inflamatórios</p>
Dor patológica	<p>Evidência de lesão dos nervos sensoriais</p> <p>Sintomas: queimação, choque, dor espontânea; parestesias</p> <p>Sinais: diminuição da sensibilidade a picada ou vibração, alodinia mecânica</p>
Disfuncional/centralizada	<p>Dor na ausência de patologia detectável</p> <p>Nenhum estímulo nocivo identificável, inflamação ou dano neural</p>

2.1.2 Fisiopatologia da dor

O domínio dos conhecimentos envolvidos na compreensão da via de condução da dor, como a neuroanatomia, a fisiologia e a fisiopatologia é essencial para o progresso da ciência,

visto que por meio dele, torna-se viável a descoberta de novos fármacos que sejam mais eficientes, eficazes e com menos efeitos colaterais (Voscopoulos, 2010). Na fisiopatologia da dor ocorrem estímulos nocivos que desencadeiam potencial de ação, que são transportados até o SNC, a partir das fibras nervosas periféricas (Figura 2) (Kuner, 2010).

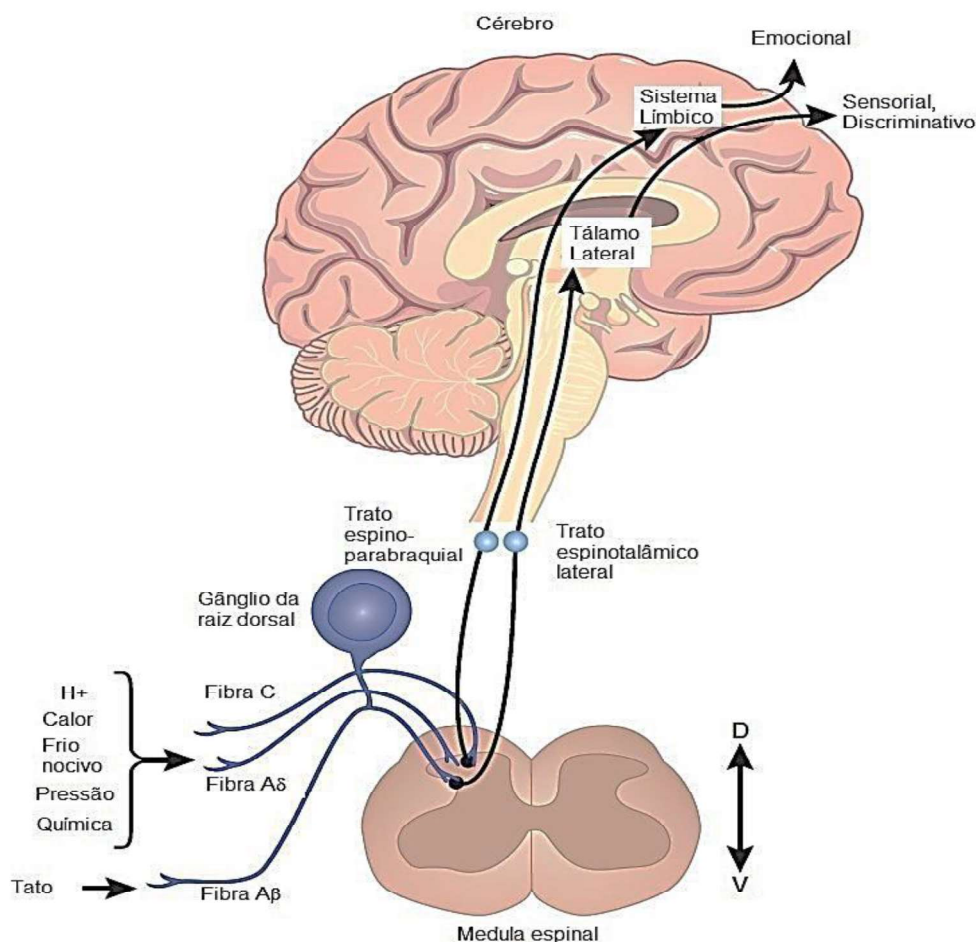


Figura 2 - Condução dos impulsos nociceptivos. (Fonte: adaptado de Kuner, 2010). Legenda: Dorsal (D), Ventral (V).

Os receptores típicos para dor são chamados de nociceptores. Estes estão situados nas terminações das fibras nervosas Aδ e C (Tabela 2), sendo hábeis para traduzir um estímulo nocivo em estímulo elétrico que será levado até o SNC e percebido como dor, no córtex cerebral (Rocha e cols., 2007).

Tabela 2 - Subtipos das fibras nervosas Aδ e C. (Fonte: adaptado de Rocha e cols., 2007).

Tipo de fibra	Características
Fibras Aδ tipo I	Respondem a temperatura em torno de 52°C, são insensíveis a capsaicina e possuem resposta mediada pelos receptores VR1 (receptor vanilóide tipo 1)
Fibras Aδ tipo II	São sensíveis a temperatura em torno de 43°C, a capsaicina e ativam, via receptores VR1, canais catiônicos não seletivos permeáveis ao cálcio
Fibras C tipo I	Liberam substância P e CGRP (peptídeo relacionado ao gene da calcitonina) e expressam receptores tirosinase A, para o fator de crescimento nervoso. São responsivas a capsaicina e a prótons
Fibras C tipo II	Expressam receptores purinérgicos P2X3 para adenosina e um grupo de carboidratos de superfície, a α -D-galactose, capaz de se ligar a lecitina IB-4, sensíveis seletivamente a prótons

Existem quatro componentes básicos fundamentais no nociceptor, o terminal periférico, local em que se origina o potencial de ação, o axônio que transporta o potencial de ação, o corpo celular que regula a integridade e as identidade do neurônio, e o terminal central pré-sináptico que é o componente, na via sensorial no SNC, da primeira sinapse (Figura 3).

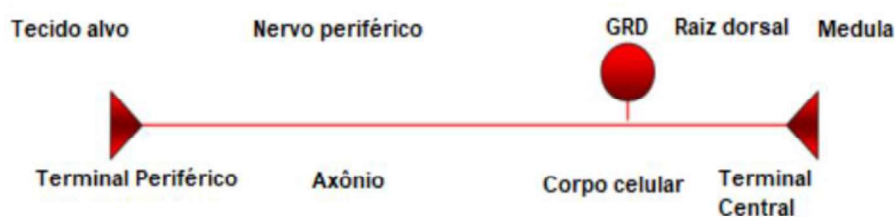


Figura 3 - Componentes dos nociceptores. (Fonte: adaptado de Woolf, 2007).

A literatura descreve quatro tipos de nociceptores: polimodais, silenciosos, térmicos e mecânicos. Os nociceptores que são responsivos às nocivas temperaturas, são separados em polimodais, quando identificam estímulos nocivos de caráter térmico, mecânico e químico e também podem ser unimodais, quando um exclusivo estímulo térmico os ativam. Os nociceptores silenciosos são ativados por mediadores inflamatórios ou estímulos químicos, além de serem responsivos também a estímulos térmicos e mecânicos, todavia isso é possível apenas após terem sido ativados. Tendo uma velocidade de condução menor que 3 m/s,

possuindo pequenas fibras C amielinizadas. Os nociceptores térmicos são formados por fibras A, finamente mielinizada, de médio calibre, conduzindo os impulsos a uma velocidade de 12 a 30 m/s. Sendo estimulados por temperaturas extremas, quentes ou frias ($> 45^{\circ}\text{C}$ ou $< 5^{\circ}\text{C}$). Os nociceptores mecânicos são estimulados por pressões excessivas e são encontrados em fibras A δ de diâmetro médio, que conduzem os potenciais de ação na velocidade de 12 a 30m/s, sendo pouco mielinizadas. Juntamente estes nociceptores de fibra A (β - δ) são chamados de nociceptores mecano-térmicos (Fein, 2011; Diamond, 1999; Moffat, 2011).

Os sinais dolorosos são transmitidos ao SNC, pelos nociceptores. Estes usam duas vias distintas para conduzirem a dor aguda e a dor crônica. Existem quatro tipos de fibras aferentes primárias ou fibras sensoriais, anatomicamente falando, são elas A α , A β , A δ e C, sendo categorizadas por velocidade de condução, receptores a que se associam e diâmetro (Tabela 3).

Tabela 3 - Classificação das fibras sensitivas.

Fonte: JANEIRO, I. M. I.; *et al.* **Fisiologia da dor.** Dissertação defendida em provas públicas na Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde. Lisboa, p.52. 2017.

Tipos de fibra	Diâmetro(μm)	Mielinização	Velocidade de condução (m /s)
A β	>10	Densa	30-100
A δ	2-6	Fina	12-30
C	0,4-1,2	Ausente	0,5-2
A α	10-20	Densa	70-120

No contexto da complexa transmissão dos estímulos nociceptivos e a dor, existem duas espécies principais de fibras aferentes, as fibras A δ e as fibras C. Elas se estendem até o corno dorsal da medula e a partir dele saem diversos feixes para o sistema límbico, hipotálamo e córtex cerebral (Guyton e Hall, 2011). Na dor aguda, os sinais pontuais dolorosos, são provocados por estímulos térmicos ou mecânicos. Estes através de fibras A δ , são conduzidos para a medula pelos nervos periféricos (Klaumann, 2008). A dor crônica é produzida, sobretudo, por estímulos dolorosos químicos e esporadicamente por estímulos térmicos ou mecânicos insistentes. As fibras do tipo C transmitem para a medula espinal, a dor crônica (Moffat, 2011). O estímulo doloroso abrupto, normalmente, em consequência a este sistema de dupla inervação, produz sensação “dupla” dolorosa, dor rápida pontual, conduzida pelas fibras A δ , para o cérebro, seguida pela condução de dor realizada pelas fibras C (Tresguerres, 2005).

Em resposta aos estímulos nocivos, ocorre a ativação dos nociceptores, levando a geração de uma corrente despolarizante que se estende por todo o comprimento da fibra, sendo levada para o SNC (Woolf e Salter, 2000). As fibras nas terminações nervosas livres possuem

uma membrana com receptores que transformam o estímulo mecânico, químico e térmico em potencial elétrico de caráter despolarizante. Quando o limiar de excitabilidade é alcançado acontece o disparo de potencial de ação e este é levado, até o corno dorsal da medula espinal, pelo axônio (Basbaum e Jessel, 2014).

O limiar de ativação das fibras nociceptivas é muito elevado. Estas se estendem a partir da periferia até o corno dorsal da medula espinal, mais especificamente nas lâminas de Rexed I e II. Nestas regiões elas estimulam neurônios de segunda ordem, podendo ser neurônios de projeção ou interneurônios (Figura 4) (Basbaum e Jessel, 2014; Schaible e Richter, 2004; Cury *et al.*, 2011).

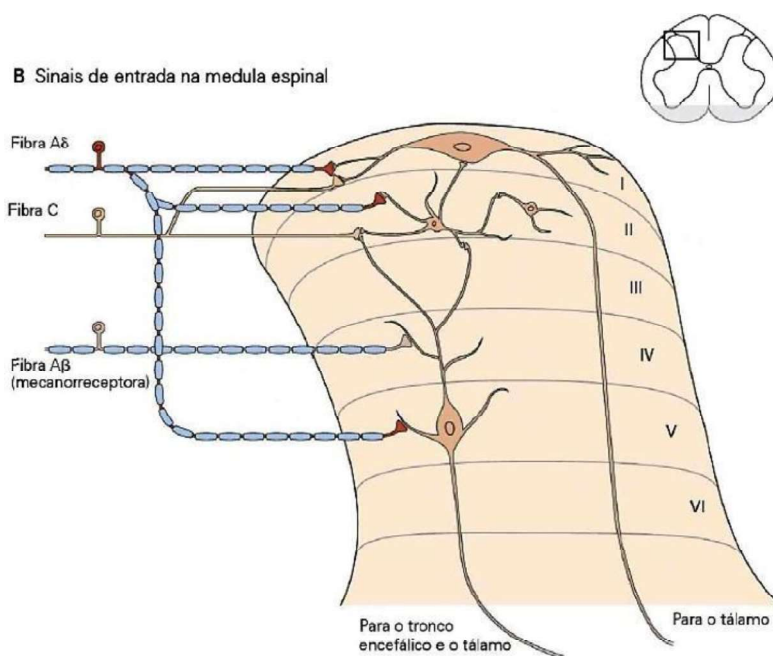


Figura 4 - A extensão das fibras nociceptivas desde a periferia até o corno dorsal da medula espinal. (Fonte: adaptado de Basbaum e Jessel, 2014).

A primeira sinapse na via nociceptiva acontece no corno dorsal da medula espinal, onde ocorre a liberação de neurotransmissores, pelas fibras aferentes primárias. Podendo ser substância P, peptídeo relacionado ao gene da calcitonina e glutamato, hábeis para estimular os neurônios de projeção (Schaible e Richter, 2004).

Além do mais, os axônios de neurônios espinais de segunda ordem, na medula, atravessam a linha média, e o estímulo nociceptivo, ascende na forma de potencial de ação, por meio de distintos tratos nervosos particulares, sobretudo, os tratos espinotalâmico e trato espinorreticular (Figura 5) (Basbaum e Jessel, 2014). No núcleo posterior ventral do tálamo ocorre a confluência dos tratos supracitados com populações neuronais. Acontecendo a

projeção dessa informação do tálamo para o córtex somatossensorial, local em que acontece a percepção da dor, assim como sua intensidade, qualidade, duração e localização, envolvidos do fenômeno da percepção (Figura 5) (Basbaum e Jessel, 2014; Cury *et al.*, 2011).

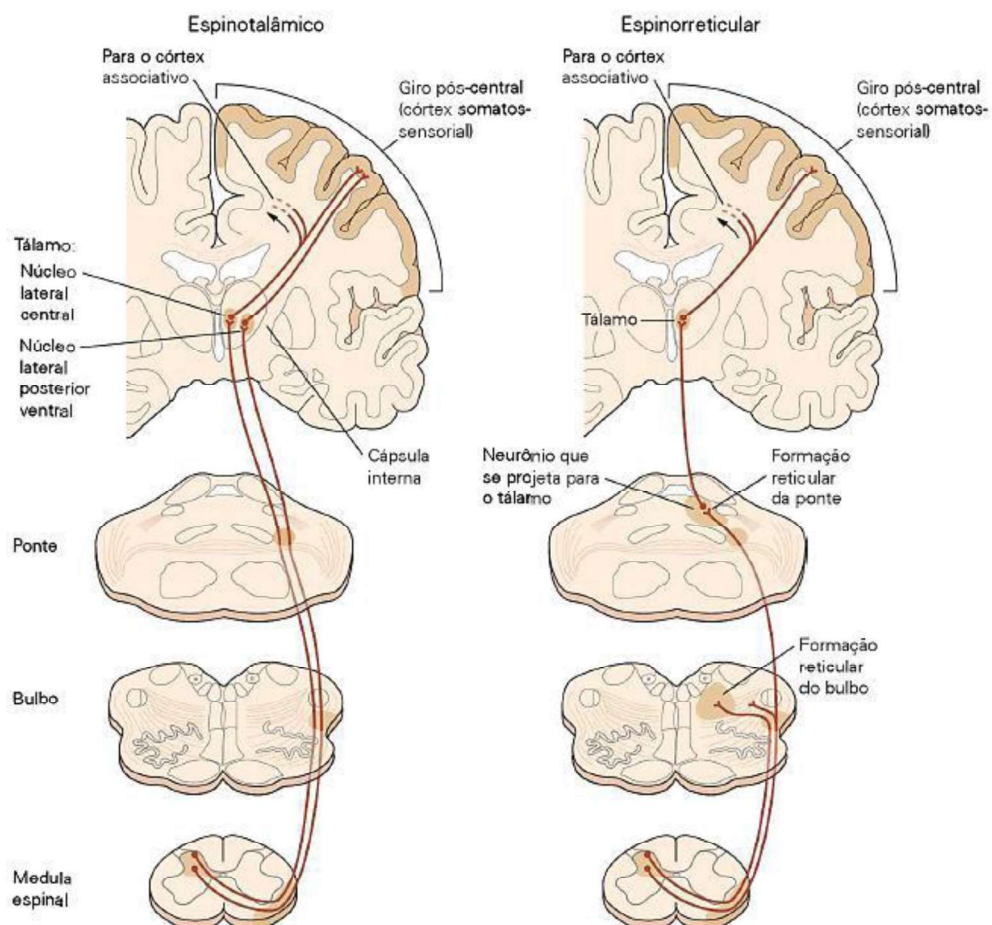


Figura 5 - As duas principais vias de ascendência da informação nociceptiva da medula espinal ao córtex somatossensorial. (Fonte: adaptado de Basbaum e Jessel, 2014).

A nociceção origina-se na periferia, onde o neurônio de primeira ordem que se projeta para a medula espinal, ascendendo pela medula espinhal encontra-se com o neurônio de segunda ordem e projetando-se para o córtex cerebral, onde está o neurônio de terceira ordem. Logo, a nociceção ocorre através de eventos como a transdução, transmissão, modulação e percepção (Figura 6) (Messlinger, 1997; Golan, 2014). A dor é resultante desses acontecimentos que possibilitam a codificação e o processamento dos estímulos nocivos (Bear; Connors; Paradiso, 2017). Essa via também está submetido a uma regulação moduladora descendente (Figura 6) (Golan, 2014).

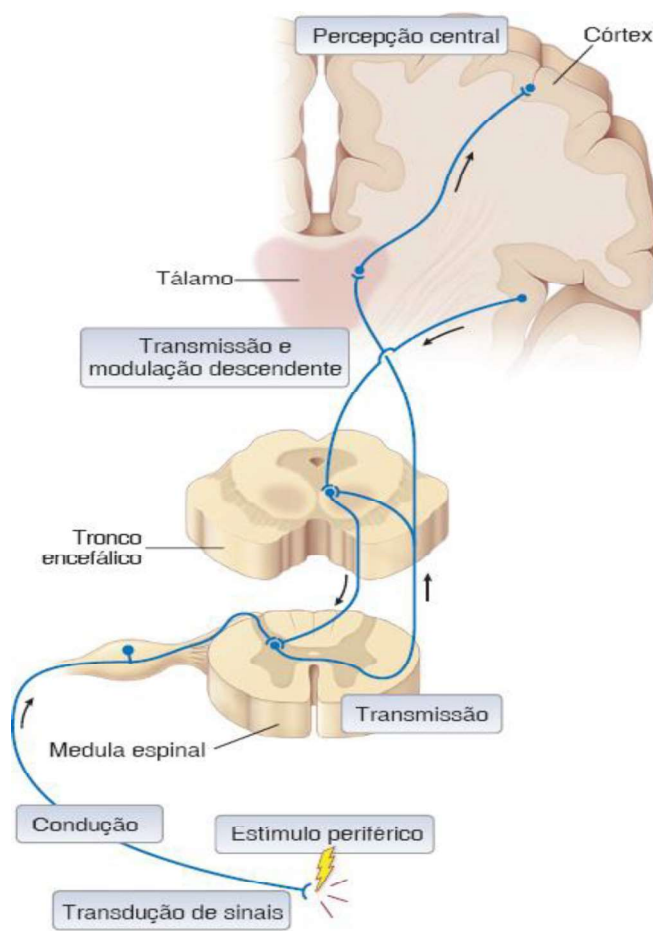


Figura 6 - Visão geral do circuito nociceptivo. A ativação da terminação nervosa periférica por um estímulo nocivo leva à geração de potenciais de ação, que são conduzidos até o corno dorsal da medula espinal. A neurotransmissão no corno dorsal transmite o sinal a neurônios do SNC, que enviam o sinal ao cérebro. Esse circuito também está sujeito a controle modulador descendente. (Fonte: Golan, 2014).

2.1.2.1 Sensibilização periférica

Nos anos 70 os pesquisadores Iggo e Perl descobriram a sensibilização periférica através de uma pesquisa em que observaram um elevado limiar de neurônios sensoriais específicos, conciliados de maneira a reagir somente aos estímulos nocivos. Posteriormente, diferentes estudiosos e Perl, comprovaram que os nociceptores da periferia, depois de acontecer uma lesão, seriam capazes de se sensibilizarem, diminuindo o seu limiar. Sendo essa região envolvida na hiperalgesia primária (Woolf, 2011). A hiperalgesia é o aumento da percepção da dor, promovida por um estímulo nocivo, onde ocorre uma elevação do estado excitável, desencadeando uma elevação da eficácia da estimulação dos canais iônicos que, por sua vez, desencadeia uma diminuição do limiar de disparo de canais dependentes de voltagem e também existe uma exagerada resposta (Moffat, 2011). Desta forma, a dor percebida em consequência

a estímulos que acontecem num período curto de tempo depois de um estímulo inicial, é provável que seja mais forte que a dor percebida no começo (Moffat, 2011).

Os macrófagos, neutrófilos, mastócitos e linfócitos T liberam mediadores inflamatórios, a partir de células lesadas e inflamatórias, na sensibilização periférica. Esses mediadores estimulam os nociceptores, diminuindo o limiar, como resultado eleva a habilidade de resposta, sobretudo na região da lesão e inflamação (Figura 7) (Moffat, 2011; Woolf, 2011).

Os neurônios sensibilizados, ao decorrer do processo de inflamação, liberam peptídeo relacionado com o gene da calcitonina (CGRP) e a substância P de dentro de vesículas. Ao serem liberadas essas duas substâncias se ligam aos seus receptores situados em variadas células envolvidas no processo de inflamação, assim como os mastócitos, basófilos e neutrófilos (Moffat, 2011). Esta ligação desencadeia a liberação de substâncias pró – inflamatórias, por exemplo a bradicinina, histamina e citocinas, possibilitando a produção de outros mediadores. A enzima ciclooxigenase (COX) proporciona a produção de eicosanóides, como as prostaglandinas. O fator de crescimento neural (NGF), fator trófico, também é liberado. A partir de células lesionadas acontece produção e liberação de óxido nítrico (NO), liberação de adenosina trifosfato ATP, e assim por diante, promovendo dessa maneira, na medula espinal, uma amplificação do sinal para os centros superiores e assim decorre a sensibilização periférica, contribuindo relevantemente dessa maneira para a conservação da dor crônica (Figura 7) (Moffat, 2011; Woolf, 2011).

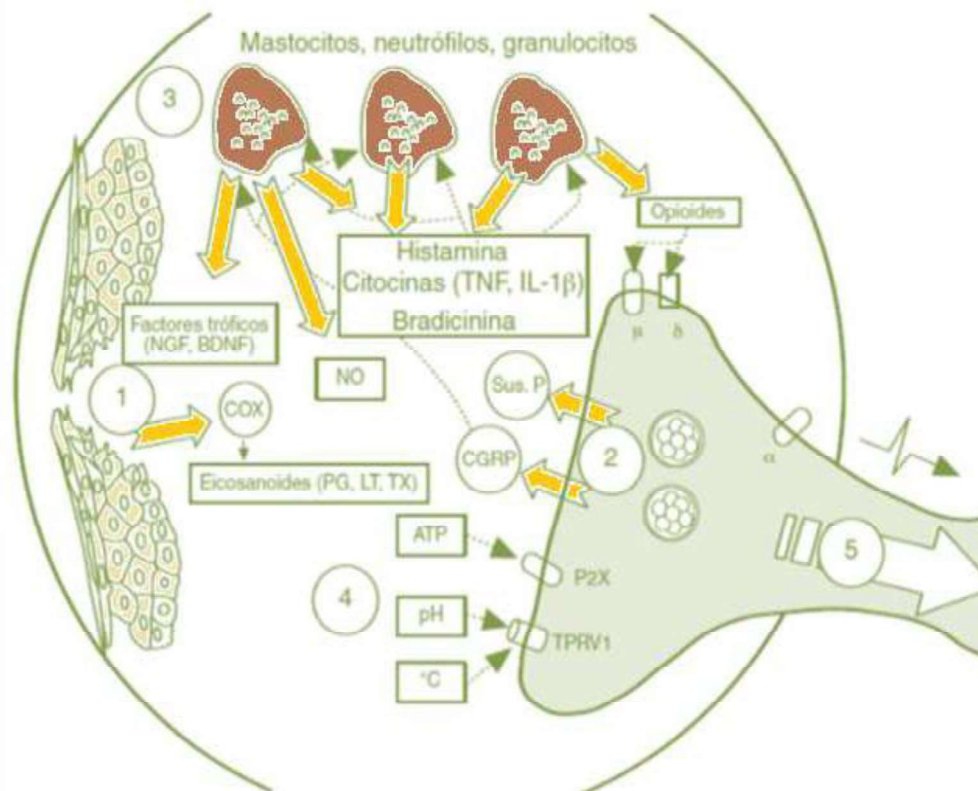


Figura 7 - Sensibilização periférica. Setas brancas-libertação, setas pretas - ligação a um receptor. NGF: Fator de crescimento nervoso; BDNF: Fator nervoso derivado do cérebro; COX: ciclooxigenase; NO: óxido nítrico; Sustância P: substância P; CGRP: peptídeo relacionado com o gene da calcitonina; TNF: fator de necrose tumoral; IL-1β: interleucina 1β; ATP: adenosina trifosfato; μ, δ: receptores de opioides; PG: prostaglandinas; LT: leucotrienos; TX: tromboxanos; P2X: receptor de ATP; TPRV1: receptor vanilóide. O número 1 da figura representa a lesão e envio da informação para a região dorsal; o número 2 representa a liberação da substância P e CGRP. O número 3 refere-se à liberação de substâncias pro - nociceptivas e inflamatórias desde os mastócitos e neutrófilos; o 4 representa a ativação dos receptores vanilóides e sensíveis a ATP, por último o número 5 representa a transmissão do sinal amplificado ao sistema nervoso central. (Fonte: adaptado de Woolf, 2012).

2.1.2.2 Sensibilização central

As sucessivas estimulações dos nociceptores fazem os neurônios ficarem em uma condição de hiperexcitabilidade, sendo esta evidenciada por diminuição do limiar de ativação, elevação da atividade espontânea neuronal, elevação da resposta aos estímulos e o aumento dos campos receptivos (Klaumann, 2008). Estando estas mudanças relacionadas às observações feitas na clínica, especificamente a elevação da resposta aos estímulos, hiperalgesia primária. Assim como o aumento dos campos receptivos, hiperalgesia secundária. Da mesma forma, a diminuição do limiar de ativação, alodinia. Além do aumento da atividade espontânea, a dor espontânea (Figura 8) (Widmaier, 2006).

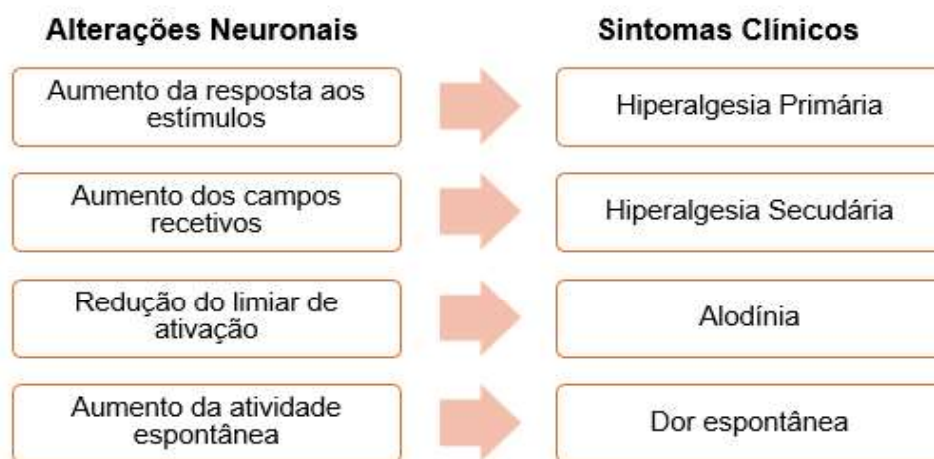


Figura 8 - Correlação dos sintomas da dor com as mudanças funcionais dos neurônios (Fonte: adaptado de Klaumann, 2008).

A hiperalgesia e/ou a alodínia são desenvolvidas quando a membrana dos neurônios estão hiperexcitadas, devido a ocorrência do aumento da resposta dos nociceptores a determinados estímulos ou a substâncias químicas. A hiperalgesia é conceituada pelo aumento das respostas aos estímulos de dor, sendo um evento sensorial que surge em algumas pessoas como decorrência de lesões nos tecidos e também resultante das síndromes neuropáticas, em que não acontece lesão nos tecidos. O organismo através da hiperalgesia aciona um mecanismo de proteção a mais, pois ela auxilia no resguardo da região lesionada, além de induzir o fenômeno de cura e estimular o processo de cicatrização da lesão inicial. Duas zonas são abrangidas, na hiperalgesia, promovida por lesão, a que circunda o local logo após a lesão, designada de zona de hiperalgesia primária, e a que alcança mais adiante da região que sofreu

o dano, designada de zona de hiperalgesia secundária. Qualquer forma de estímulos de baixa intensidade, seja mecânico, térmico, dentre outros, na zona de hiperalgesia primária, promoverá sensações de dor, devido ao fato dos nociceptores que inervam aquela região lesada, estarem sensibilizados. Assim sendo, ela pode ser compreendida como um fenômeno da periferia, por causa das mudanças das características fisiológicas dos nociceptores, que inervam as regiões que sofreram a lesão (Klaumann, 2008). A hiperalgesia secundária é descrita por um aumento das sensações de dor produzidas por estímulos mecânicos de elevada intensidade, e por uma mudança sensorial promovida mediante ativação de mecanorreceptores de baixo limiar. A primeira mudança estabelece o aumento da sensibilidade aos estímulos nocivos mecânicos e a segunda mudança gera a sensação dolorosa produzida através do tato. Nestas mudanças não estão envolvidos mecanismos da periferia, visto que são montadas por intermédio de alterações na elaboração central, como também pelos sinais produzidos pelos mecanorreceptores de elevada intensidade (elevação da sensibilidade de dor mecânica) e de baixo limiar (sensações dolorosas produzidas pelo tato). Tais mudanças centrais são produzidas pelo aumento da atividade da via aferente, resultante da zona de hiperalgesia primária, após a sensibilização dos nociceptores da periferia. Dentre as variações sensoriais produzidas pela hiperalgesia, destaca-se, a alodinia, que é a dor promovida por um estímulo que normalmente não causaria dor, por exemplo a dor produzida pelo tato (Tresguerres, 2005).

A hiperalgesia e a alodinia são eventos relevantíssimos, o seu surgimento certifica notadamente que a sensação dolorosa é um fenômeno dinamizado em que a magnitude e a intensidade decorre do contexto da região lesionada e não somente do estímulo original. Todavia a sensação dolorosa produzida através do tato mostra que a dor é passível de ser gerada em pessoas comuns mediante a estimulação dos mecanorreceptores de baixo limiar, havendo previamente, uma região periférica lesada (Tresguerres, 2005).

Na sensibilização central estão envolvidos dois eventos: a potenciação de longo prazo e *windup*. A potenciação de longo prazo (*long term potentiation* – LTP), é designada dessa maneira devido a ocorrência do prolongamento no tempo do estado de hiperexcitabilidade, conceituada como a elevação da eficácia de uma sinapse excitatória depois de uma ativação de pequena duração e elevada frequência, em que acontecem várias mudanças neuroquímicas. Já o *windup* baseia-se no aumento da responsividade neuronal da medula espinal, ao se exercer um estímulo continuamente, porém com uma frequência baixa (Moulin, 2007).

Na ocasião em que uma fibra C é ativada através de um estímulo, o glutamato (Glu) é liberado na fenda sináptica entre o terminal aferente primário nociceptivo e o neurônio espinal (Moffat, 2011). Logo depois o Glu conecta-se aos receptores NMDA, nomeado dessa maneira

devido ao fato do seu agonista preferido ser o N-metil-D-aspartato e os receptores AMPA, que têm como agonista preferido o ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolopropiônico, situados no neurônio espinal (Moulin, 2007). A ligação aos receptores AMPA desencadeia uma acelerada entrada de sódio (Na^+) e uma decorrente despolarização da membrana neuronal espinal, e com a possibilidade do surgimento de um potencial de ação (Figura 9) (Woolf, 2011).

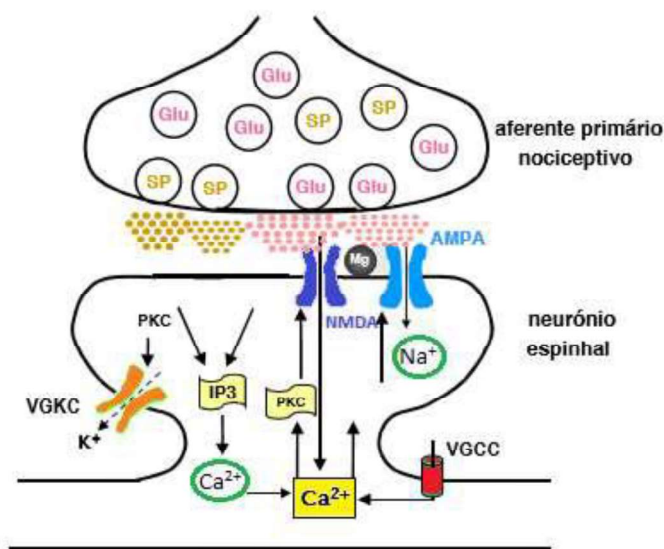


Figura 9 - Esquema de transmissão sináptica. (Fonte: Abreviaturas e descrição no texto, adaptado de Woolf CJ. Central Sensitization: Implications for the diagnosis and treatment of pain. Pain. 2011;152 (3 Supplemental): 1–31).

Esta comunicação entre neurônios finaliza com a desativação dos receptores AMPA, além da abertura dos canais de potássio sensíveis a voltagens (VDKC), com consecutiva hiperpolarização da membrana (Figura 10) (Moffat, 2011; Moulin, 2007; Widmaier, 2013; Woolf, 2011). A despolarização transitória da membrana faz com que os canais de Ca^{2+} dependentes de voltagem (VDCC), se abram. Caso haja estímulos constantes, da mesma forma que ocorre nos eventos de LTP e *windup*, em virtude do aumento do número de íons Na^+ e Ca^{2+} , a membrana é propensa a ficar despolarizada. Deste modo, os íons magnésio (Mg^+), não bloqueiam mais os canais de Ca^{2+} dos receptores NMDA, permitindo o influxo de Ca^{2+} (Moffat, 2011; Woolf, 2011; Moulin, 2007).

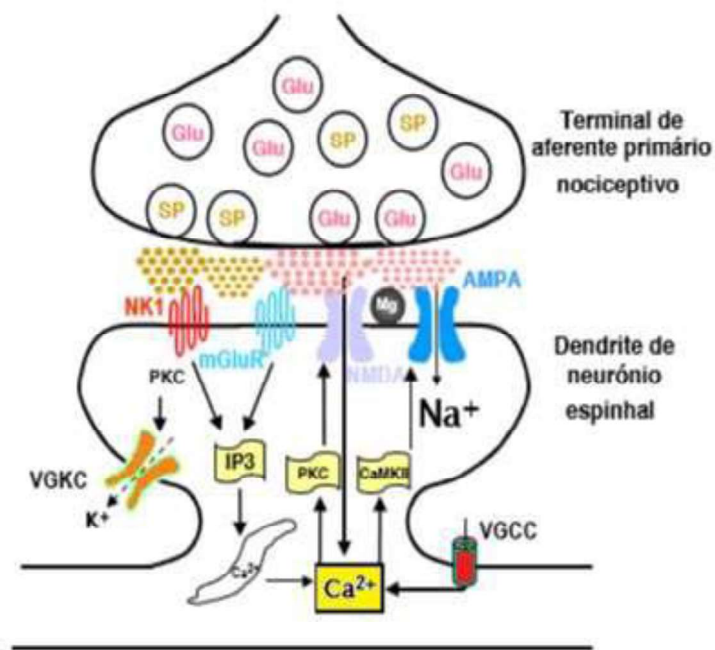


Figura 10 - Esquema de transmissão sináptica com receptores desbloqueados. (Fonte: abreviaturas e descrição no texto, adaptado de Woolf CJ. Central Sensitization: Implications for the diagnosis and treatment of pain. Pain. 2011;152 (3 Supplemental):1–31).

Uma grande proporção dos terminais aferentes primários liberam de forma simultânea tanto o Glu quanto a substância P (SP). Esta possui uma participação muito importante na estimulação dos receptores NMDA (Moffat, 2011). A ativação dos receptores NMDA leva à ativação da fosfolipase C (PLC) e consecutiva síntese de diacilglicerol (DAG), como também de trifosfato de inositol (IP3) (Woolf, 2010). Este propicia a elevação da quantidade dentro da célula de Ca^{2+} , por meio da sua saída do retículo endoplasmático. Ademais, o DAG estimula a PKC, e a fosforilação dos receptores NMDA (Moulin, 2007).

2.1.2.3 Modulações de vias descendentes nociceptivas

A modulação descendente das vias nociceptivas compreende várias regiões do cérebro e diversas vias que se expandem do córtex cerebral até a área caudal da medula espinhal (Ren, 2015). Desta maneira é designada como uma rede anatômica que possibilita a regulagem do fenômeno da nocicepção, principalmente no corno dorsal da medula espinhal em variadas situações a fim de desencadear a antinocicepção, através da inibição ou a pronocicepção, mediante a indução (Fields, 2005).

O sistema descendente que envolve a substância cinzenta periaquedutal (PAG) que compreende a medula ventromedial rostral (RVM) e medula espinhal é o mais importante no

contexto da dor. Muitas aferências procedentes da periferia, bem como de várias áreas do cérebro, sobretudo o sistema límbico e o hipotálamo dirigem-se para a PAG e em seguida para RVM, controlando a passagem nociceptiva, por intermédio de vias descendentes, no corno dorsal da medula espinal, deslocando-se através do funículo dorso lateral (DLF) da medula espinal (Figuras 11) (Millan, 2002; Fields, 2004; Ossipov *et al.*, 2010). No corno dorsal da medula espinal a regulação da informação de nocicepção é dependente, sobretudo de vias noradrenérgicas que procedem de projeções do locus coeruleus, dopaminérgicas que procedem da área do hipotálamo A11 e serotoninérgicas que procedem do RVM. Danos às regiões supramencionadas ou bloqueio, à nível espinal, dos neurotransmissores em questão, compromete a analgesia proporcionada por esta via modulatória (Millan, 2002).

No corno dorsal, o RVM, tem a habilidade de regular inibindo ou facilitando a mensagem de nocicepção, ou seja, ele pode desempenhar uma função anti-nociceptiva ou pró-nociceptiva a depender do somatório de eferências.

No corno dorsal da medula espinal, as vias modulatórias descendentes da dor, regulam a liberação de neurotransmissores, dos terminais nociceptivos das fibras aferentes primárias (Millan, 1997). Podendo ocorrer de forma direta, mediante seus eferentes catecolaminérgicos e serotoninérgicos, e de forma indireta por meio de interneurônios excitatórios, como também da estimulação dos interneurônios inibitórios, contendo neurotransmissores como glicina e o ácido gama-aminobutírico (GABA). Ademais, interneurônios opioidérgicos também são estimulados pelas vias modulatórias descendentes, inibindo as fibras aferentes primárias e os interneurônios excitatórios (Millan, 2002).

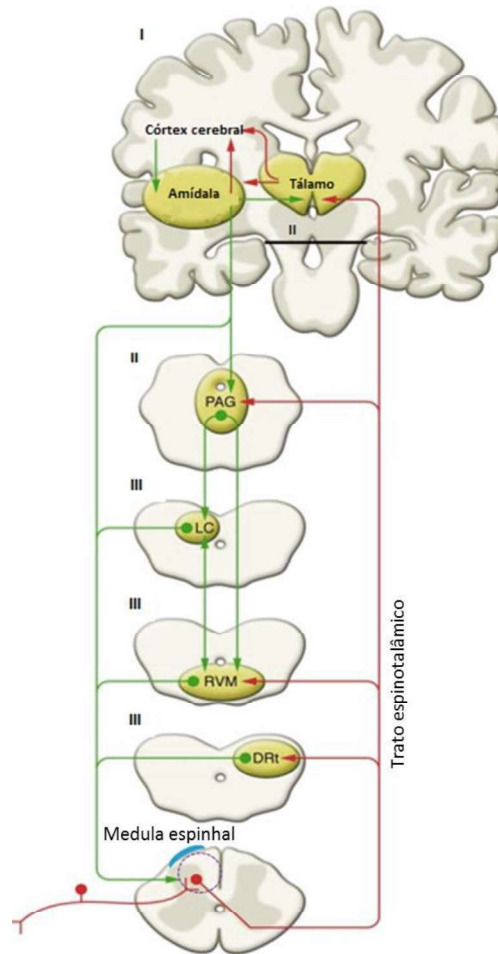


Figura 11 - Representação esquemática dos circuitos de modulação da dor. As entradas nociceptivas (em vermelho) entram no corno dorsal da medula espinhal (círculo pontilhado em roxo) e ascendem anterolateral através do trato espinotalâmico. Tais projeções chegam ao tálamo, enquanto as colaterais visam o DRt (subnúcleo reticular dorsal), o RVM (medula ventromedial rostral) e a PAG (substância cinzenta periaquedutal) - projeções descendentes a partir do DRt são essenciais à analgesia do DNIC. O tálamo por sua vez projeta para regiões corticais e para a amígdala. A modulação descendente (em verde) se dá através de projeções à PAG que projeta ao RVM de onde partem as projeções para a medula espinhal (através do funículo dorsolateral, representado em azul). Além disso, o locus coeruleus (LC) recebe projeções da PAG, se comunica com o RVM e envia projeções noradrenérgicas inibitórias ao corno dorsal. (Fonte: adaptado de Ossipov *et al.*, 2010).

A PAG possui um destaque na conjuntura de regulação descendente da dor. A mesma está situada no mesencéfalo, sendo relatada como uma área habilitada para inibir a dor. Sabe-se que suas projeções descendentes diminuem, no corno dorsal da medula espinhal, o disparo de aferências nociceptivas (Jones e Gebhart, 1988; Costigan, 2009).

Diversas áreas cerebrais emitem aferências para a PAG, como o loco cerúleo, tálamo, córtex pré-frontal e insular, núcleo cuneiforme, hipotálamo – hipotálamo lateral e núcleos tuberomamilaes do hipotálamo (TMN), dentre outras. Na PAG existem neurônios que possuem GABA, encefalinas, SP, e alguns deles se prolongam-se para o RVM (Sandkuhler, 1996; Fields, 2004). A interrelação entre PAG e RVM é bastante relevante na modulação da sensação

dolorosa, visto que danos no RVM compromete a analgesia promovida pela PAG (Figura 12) (Millan, 2002; Tracey e Mantyh, 2007).

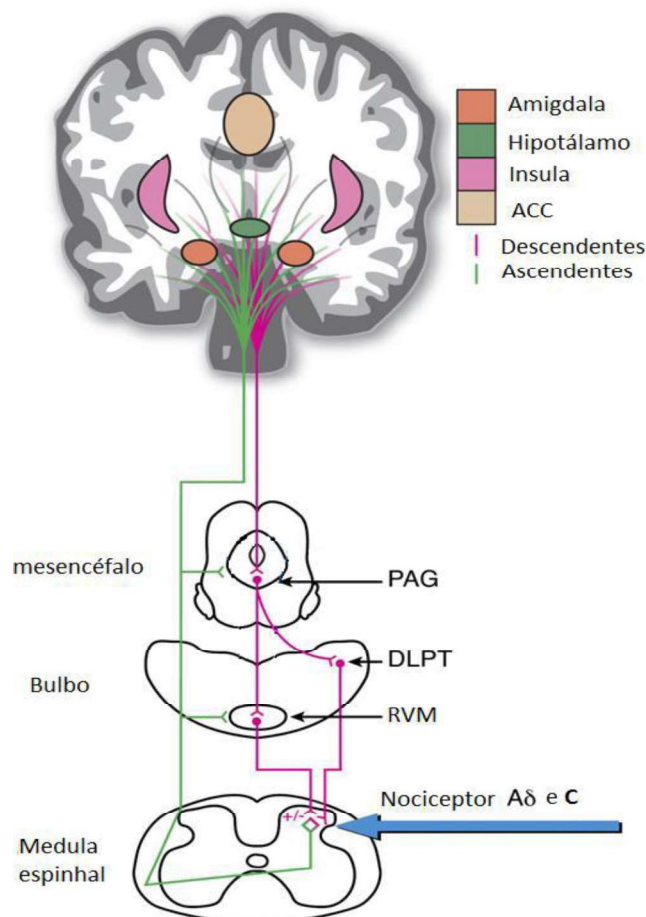


Figura 12 - Sistema descendente modulatório da nocicepção. O córtex cingulado anterior (ACC), ínsula e amígdala ativam projeções descendentes diretamente ou via hipotálamo para a substância cinzenta periaquedutal (PAG). A PAG controla os neurônios nociceptivos do corno dorsal da medula espinhal através de conexões na medula ventromedial rostral (RVM) e na região dorso-lateral da ponte (DLPT). O RVM contém neurônios serotoninérgicos e não-serotoninérgicos, os quais se projetam diretamente para o corno dorsal; o DLPT projeta neurônios noradrenérgicos para o corno dorsal diretamente ou via RVM. (Fonte: adaptado de Tracey e Mantyh, 2007).

No RVM existem núcleos que participam do fenômeno de abolimento da dor, ressaltam-se neurônios de formação reticular que recebem projeções do loco ceruleo, PAG e hipotálamo posterior, abonados de neurônios noradrenérgicos, bem como núcleo magno da rafe, abastado de neurônio serotoninérgicos. Através da projeção dos neurônios do RVM em direção à medula espinhal ocorre a inibição da transmissão nociceptiva (Fields, 2004).

Sabe-se que os mecanismos descendentes facilitatórios exercem efeitos excitatórios no terminal da fibra aferente primária e também nos neurônios do corno dorsal, no que se refere as suas atividades próprias, logo as vias descendentes modulatórias da dor não executam apenas

efeito inibitório no corno dorsal. A partir de um mesma estrutura supraespinal podem derivar vias descendentes inibitórias e facilitatórias (Bee e Dickenson, 2007).

Na transmissão sináptica da medula espinal estão envolvidos interneurônios inibitórios locais e projeções que descem do tronco encefálico para o corno dorsal. Ressalta-se que os mais relevantes neurotransmissores da dor no corno dorsal da medula espinal são a 5-HT, os peptídeos opioides, o GABA, a norepinefrina e a glicina (Figura 13) (Golan, 2014).

A norepinefrina é liberada por projeções que descem do tronco encefálico em direção à medula espinal. O principal receptor de norepinefrina na medula espinal é o receptor $\alpha 2$ -adrenérgico que é acoplado a proteína G inibitória (PG_i), inibe a adenil ciclase, que sequencialmente leva ao fechamento dos canais de cálcio e a abertura dos de potássio, hiperpolarizando a célula. Existem receptores $\alpha 2$ -adrenérgico tanto na membrana pré-sináptica quanto na pós-sináptica, devido a isso, a liberação de norepinefrina na medula espinal pode diminuir a exocitose das vesículas pré-sinápticas, assim como reduzir a excitação pós-sináptica. Outros compostos também executam funções, na medula espinal, de regulação da dor. Atualmente, os receptores canabinoides e os canabinoides endógenos tornaram-se alvo de estudo sobre a modulação da sensação dolorosa. Existem dois tipos de receptores canabinoides, ambos acoplados à proteína G: o CB1 expresso em cérebro, medula espinal, neurônios sensoriais e predominantemente também estão expressos na periferia; e o CB2, expresso, em grande parte, em tecidos não neurais, particularmente nas células imunes, incluindo a micróglia e predominantemente estão expressos também no SNC (Costigan, 2009; Golan, 2014).

Foram identificados vários canabinoides endógenos, incluindo membros das famílias da anandamida e do 2-araquidonoilglicerol (2-AG). Os canabinoides endógenos podem modular a dor por meio de receptores canabinoides situados na periferia ou na medula espinal, que afetam a transmissão nociceptiva, ou por receptores na PAG, que afetam as projeções inibitórias descendentes (Golan, 2014).

Os opioides com seus receptores e a 5-HT com seus receptores também participam da modulação descendente da dor, contudo os mesmos já foram comentados separadamente.

Terminação central do neurônio sensorial primário

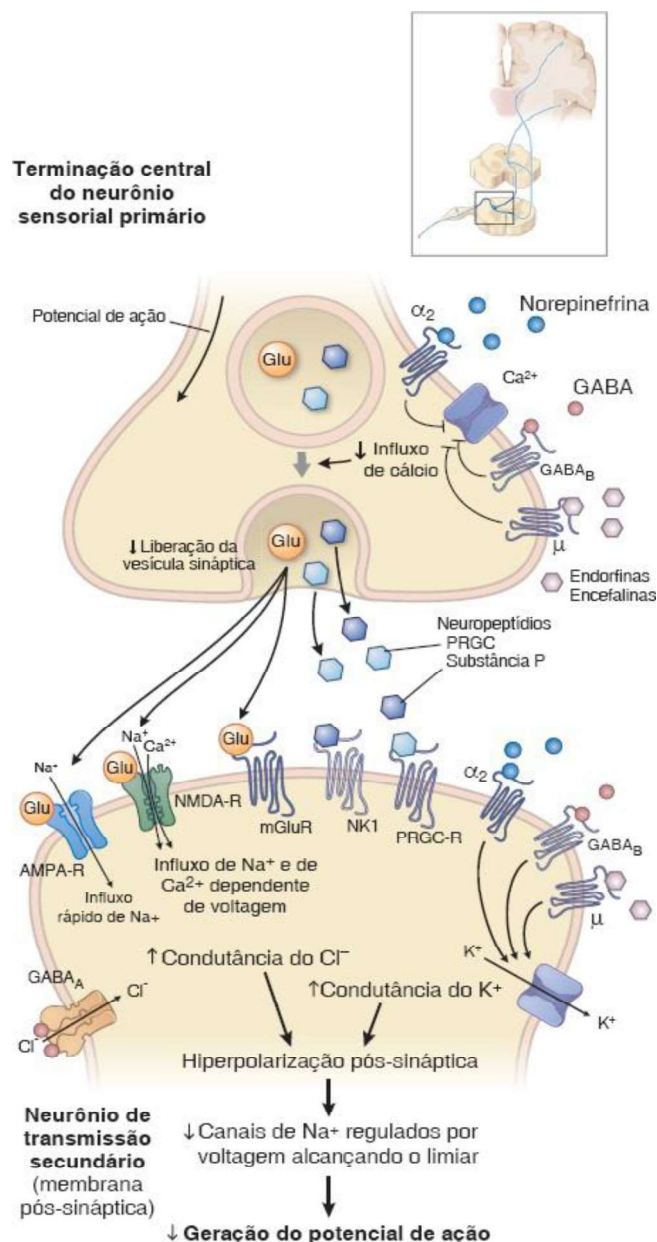


Figura 13 - Regulação inibitória da neurotransmissão. A norepinefrina, o GABA e os opioides, que são liberados por neurônios inibitórios descendentes e/ou de circuito local, atuam em nível tanto pré-sináptico quanto pós-sináptico, inibindo a neurotransmissão. A inibição pré-sináptica é mediada pela atividade reduzida dos canais de cálcio sensíveis à voltagem, enquanto a inibição pós-sináptica é mediada principalmente pelo aumento do influxo de cloreto e efluxo de potássio. (Fonte: Golan, 2014).

2.2 Processo inflamatório

A etimologia da palavra inflamação vem do latim *inflammatio*, atear fogo (Ubiali, 2005). A inflamação é um fenômeno dinâmico, que constitui-se especialmente na responsividade dos vasos sanguíneos e leucócitos, tendo como propósito a extinção do agente agressor ou de células necróticas (Kumar, 2010). Assim, dizendo a inflamação é uma reação que acontece nos tecidos

que habilita proteínas circulantes e células do sistema de defesa do indivíduo a chegarem às regiões de lesão tecidual e infecções (Figura 14) (Abbas; Lichtman; Pillai, 2016).

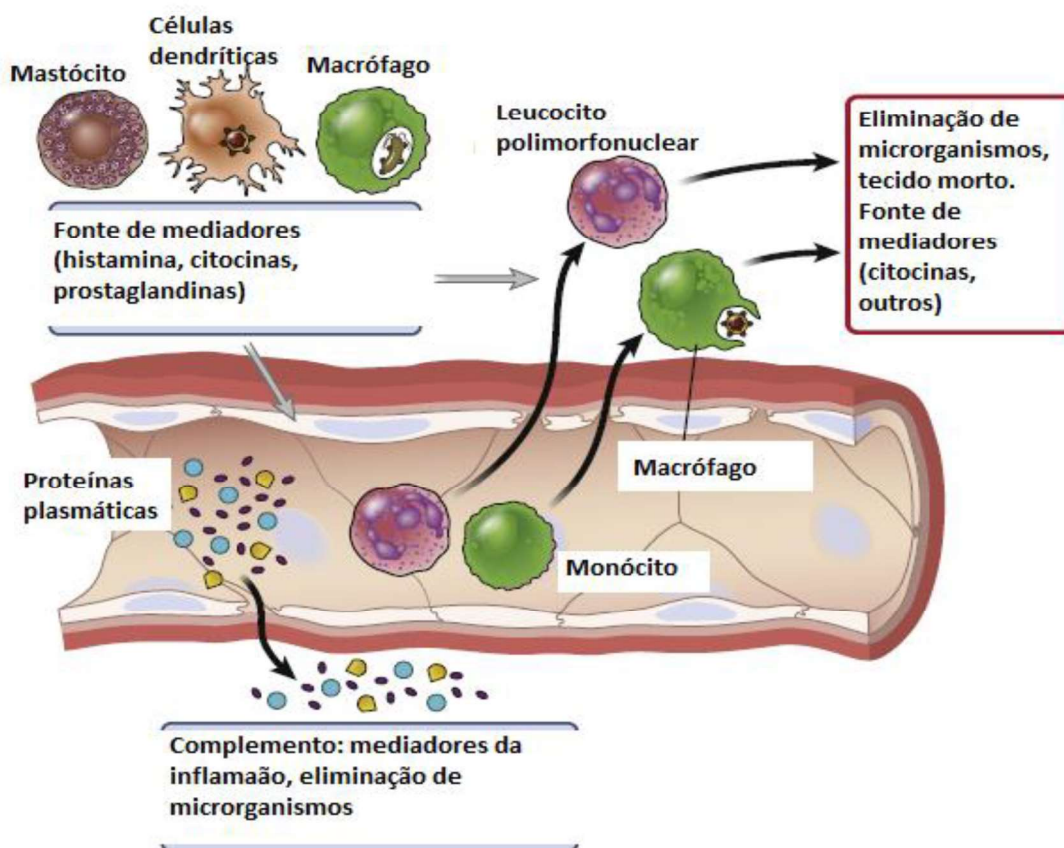


Figura 14 - Mediadores da inflamação. (Fonte: Abbas, 2016).

Os cinco sinais cardinais fazem parte do processo inflamatório e estão demonstrados na Figura 15, onde observa-se apenas os primeiros 4 sinais, destacando as causas iniciais que desencadearam as respostas. Desta maneira a resposta inflamatória não é uma doença, e sim um mecanismo de defesa do organismo, tendo como proposta beneficiar o indivíduo (Rang *et al.*, 2011). Todavia caso não seja dominada ou manejada de forma adequada pode se tornar razão de doenças e injúrias, logo as terapias farmacológicas no primeiro momento, dedicam-se a preservar a função e a aliviar os sintomas e em um segundo momento, retardar ou impedir a lesão do tecido (Katzung *et al.*, 2014).

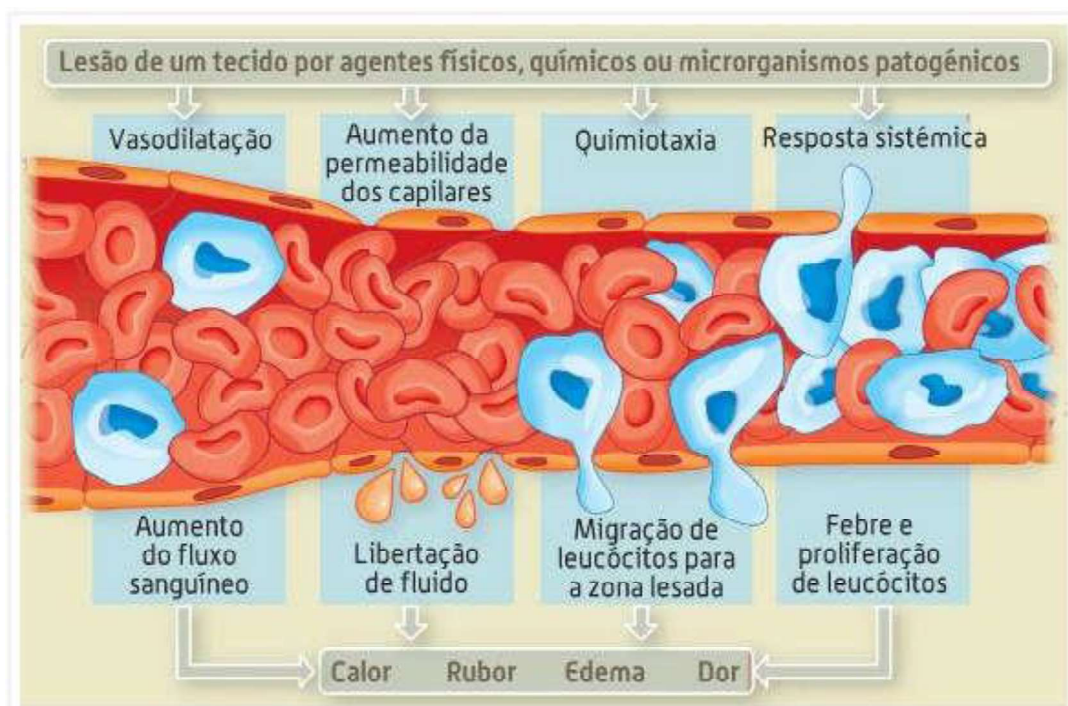


Figura 15 - Respostas desencadeadas pelo processo inflamatório. (Fonte: Felipini, 2013).

A inflamação é subdividida, baseada nos aspectos de duração e de particularidades histopatológicas, em aguda e crônica. A inflamação aguda compreende-se como uma resposta célere do sistema do hospedeiro a fim de conduzir, ao tecido lesionado ou região da infecção, proteínas do plasma, por exemplo, os anticorpos, e leucócitos. Enquanto que a inflamação crônica tipifica um período prolongado, chegando a semanas e meses, ressaltando-se a coexistência em variadas combinações, de injúria no tecido e tentativas de reparo (Kumar, 2010).

Existem estímulos indutores essenciais na inflamação, sendo comumente: os corpos estranhos, as infecções, as reações imunes e necrose tecidual. No entanto existem outros motivos poucos habituais. Apesar de haver variadas razões do desenrolar dos acontecimentos e as conformações morfológicas não se alteram, tais como: a vasodilatação, a permeabilidade vascular aumentada, a dor e o extravasamento leucocitário (Abbas, 2016).

Durante alguns segundos, a vasodilatação, é umas das manifestações iniciais constatada, no músculo liso vascular, tornando-se a razão essencial da elevação do calor na região e rubor, sendo este fenômeno intermediado, consideravelmente, pelo óxido nítrico (NO) e a histamina (Kumar, 2010). A vasodilatação é acompanhada de imediato, pelo aumento da permeabilidade vascular, isso causa o escapamento do exsudato cheio de proteínas que se dirige adentro do tecido extravascular, acarretando o edema.

Existem três mecanismos responsáveis pela formação do edema na inflamação. O primeiro ocorre devido ao fato das células endoteliais se contraírem, sendo esta contração provocada por bradicinina, histamina, substância P, neuropeptídeos, leucotrienos, dentre outros, acarretando dessa maneira, um aumento dos espaços interendoteliais. Habitualmente tem duração de 15 a 30 minutos, porém em queimaduras de sol, injúrias brandas, podem ter duração de horas, começando mais tarde (Kumar, 2010). O segundo relaciona-se à necrose das células do endotélio e o despreendimento das mesmas, por consequência da injúria endotelial, isso acontece quando micóbios ou traumas chegam nas células do endotélio, começando imediatamente à injúria, sendo preservado dessa maneira por horas, até que os vasos passem ao estado de reparados ou a trombosados (Hammer, 2014). E o terceiro é a transcitose, ou seja, o transporte de proteínas e fluidos aumentam por meio das células do endotélio, estando este mecanismo envolvido com os canais formados por vesículas situados adjacentes as junções intercelulares (Ren-Smith, 2015).

O edema formado comprime as terminações nervosas, sendo dessa maneira, sobretudo, que a dor se inicia. Obviamente, em adição a isso têm as ligações diretas com a injúria de origem. Essencialmente os mediadores bradicinina e prostaglandinas são hábeis para gerarem e amplificarem a sensação de dor (Hammer, 2014).

A migração leucocitária para os tecidos acontece mediante três eventos (Figura 23). O primeiro evento ocorre na luz do vaso, destacando-se a marginalização, rolamento e adesão ao tecido endotelial. No local da inflamação o sangue circula mais lento, ocasionando mudanças nos parâmetros hemodinâmicos, os leucócitos que em homeostase do sistema circulam no sangue na parte central, nesta condição marginalizam, cisalhando a parede do vaso. Primeiramente de forma individual, subsequentemente os leucócitos mediante fila deslocam-se, de forma transitória, aderindo ao tecido endotelial, ligam e desligam sucessivamente, e dessa maneira eles dirijam-se rolando pela parede do vaso. Enfim, os leucócitos através de moléculas de adesão, aderem de forma firme. As citocinas têm sua produção aumentada nos tecidos lesionados, como uma resposta ao agente causador da injúria e também aumentam a expressão de moléculas de adesão, assim é garantido o recrutamento para a região lesada. O rolamento é uma etapa que acontece através das selectinas. Estas podem ser expressas pelos diferentes agentes tais como o endotélio, sendo chamadas de E-selectinas, pelas plaquetas no endotélio, sendo chamadas de P-selectinas, e pelos leucócitos, sendo chamadas de L-selectinas. Especialmente os mastócitos e macrófagos ao entrarem em contato com tecidos mortos ou micróbios produzem variadas citocinas, entre elas a interleucina-1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral (TNF). Estas citocinas estimulam a exposição de ligantes de integrinas nos leucócitos,

no endotélio. A molécula-1 de adesão intercelular (ICAM-1) e a molécula-1 de adesão vascular (VCAM-1), situam-se no endotélio (Figura 16 – 1º etapa) (Kumar, 2010).

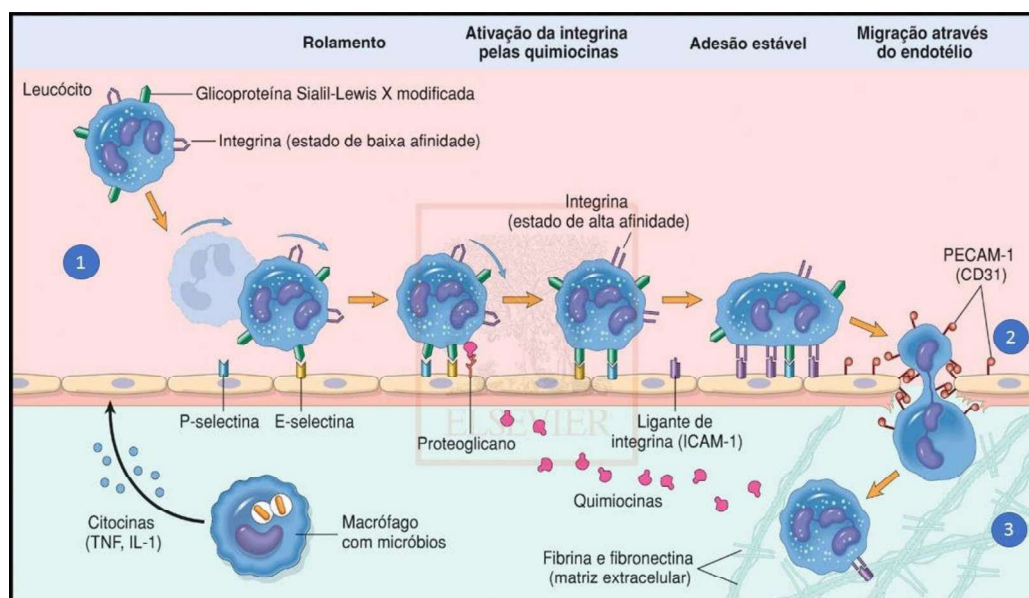


Figura 16 - Processo com múltiplas etapas da migração de neutrófilos ao logo dos vasos sanguíneos. Primeiro os leucócitos rolam, então se tornam ativados e aderem ao endotélio, então transmigram pelo endotélio, penetrando na membrana basal e migrando em direção aos quimio atraentes liberados na fonte da injúria. Diferentes moléculas têm papéis predominantes em diferentes fases desse processo – selectinas na rolagem; quimiocinas (usualmente mostradas ligadas aos proteoglicanos) nos neutrófilos ativados para aumentar a avidez das integrinas em firme adesão e CD31 (PECAM-1) na transmigração. Os neutrófilos expressam baixos níveis de L-selectinas; eles se ligam às células endoteliais predominantemente via P- e E-selectinas. ICAM-1, molécula 1 de adesão intercelular; TNF, Fator de necrose tumoral. 1- Na luz: marginação, rolamento e adesão ao endotélio; 2 - Migração através do endotélio e parede do vaso; 3 - Migração nos tecidos em direção aos estímulos quimiotáticos. (Fonte: adaptado de Kumar, 2010).

O segundo evento é a diapedese, denominada também por transmigração, que é a migração dos leucócitos mediante a parede dos vasos e o endotélio, acontecendo essencialmente nas vênulas pós capilares, que são sítios preferenciais de migração dos leucócitos. Neste local, por meio de espaços interendoteliais, as quimiocinas incitam a migração para o foco da lesão, visto que as mesmas se concentram por intermédio de extravasamento, na região em que o agente causador da inflamação está agindo. Variados mediadores químicos participam deste mecanismo, ressalta-se ainda neste contexto a imunoglobulina PECAM-1 (molécula de adesão de plaqueta e célula endotelial) (Figura 16 – 2º etapa) (Kumar, 2010).

O terceiro evento é a quimiotaxia em que os leucócitos saem da circulação e se direcionam para a região afetada, ou seja, é a migração que parte dos tecidos diretamente para a fonte dos estímulos quimiotáticos. Os quimiotáticos podem ser substâncias tanto endógenas quanto exógenas. As endógenas são separadas por categorias e existe a categoria dos

componentes do sistema do complemento (C5a), dos metanos neutrófilos ativados para aumentar a avidéz das integrinas em firme adesão e CD31 (PECAM-1 bólitos do ácido araquidônico, sobretudo o leucotrieno B4 (LTB4) e a das citocinas destacando a família das quimiocinas, por exemplo a intercleucina-8 (IL-8) (Figura 16 – 3º etapa) (Kumar, 2010).

Os leucócitos, especialmente os monócitos, entre 24 a 48 horas do início do processo, e os neutrófilos entre 6 a 24 horas do início do processo, reconhecem o agente agressor ao chegarem na região inflamada, e emitem indícios que estimulam outros leucócitos a destruírem e a ingerirem o agente causador do dano inflamatório, tanto quanto indícios amplificadores da reação (Ren-Smith, 2015).

A etapa derradeira para a morte e/ou degradação do agente agressor e a eliminação de células necrosadas, ocorre essencialmente por espécies reativas de oxigênio (EROs). Estas em organelas específicas, produzem e liberam radicais livres de hidroxila (OH^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e hipoclorito (OCl^-). Ademais as espécies reativas de nitrogênio, liberam um radical peroxinitrito (ONOO^-) muito reativo, através de reação do óxido nítrico (NO). Destaca-se também o envolvimento de outras proteínas, dentre elas as defensina, lactoferrina e elastase, podendo agir sinergicamente (Hammer, 2014).

Em vista disso, é incontestável a relevância do processo inflamatório e da síntese de substâncias defensivas pelos leucócitos para o organismo, visto que proporcionam um sistema de proteção eficaz, porém às vezes o mesmo sistema usado na defesa acaba prejudicando o indivíduo, injuriando células saudáveis. São exemplos desse fenômeno: infecções de difícil resolução, onde acontece ataques a tecidos adjacentes, por dano colateral, assim como em doenças virais e na tuberculose; doenças auto-imunes, em que há um inapropriado direcionamento contra tecidos do indivíduo; e doenças alérgicas, na qual reações exageradas são montadas pelo sistema para combater substâncias ambientais que normalmente não causariam dano algum (Kumar, 2010).

O término da inflamação acontece devido ao fato dos mediadores químicos serem sintetizados em picos elevados possuindo meia-vida sucinta e em poucas horas fora do leito do vaso, os leucócitos passam pela apoptose (Katzung, 2017). Todavia, com o avançar do fenômeno da inflamação, ocorre disparo de muitos sinais indicativos de parada, sendo exemplos desses a liberação de citocinas anti-inflamatórias, como a interleucina-10 (IL-10) e a alteração do metabólito do ácido araquidônico sintetizado (lipoxina) (Kumar, 2010).

Bioquimicamente, os mediadores da inflamação podem ser separados em variadas classes. Dentre estas estão os mediadores lipídicos, como o fator de ativação plaquetária (PAF) e eicosanóides; as enzimas proteolíticas, como catepsina, metaloproteinases e elastina; aminas

vasoativas, como serotonina e histamina; fragmentos do sistema complemento nomeados também por anafilatoxina, como C4a, C5a e C3a; citocinas, como IL-1, IL-6 e TNF- α ; peptídeos vasoativos, como trombina, bradicinina e substância P; e quimiocinas, como IL-8 dentre outras. Cada tipo de mediador possui uma ou mais fontes e atribuições específicas essenciais (Tabela 4) (Kumar, 2010).

Tabela 4 - As ações dos principais mediadores do processo inflamatório. (Fonte: adaptado de Kumar, 2010).

Mediador	Principais Fontes	Ações
Histamina	Mastócitos, basófilos e plaquetas	Vasodilatação, permeabilidade vascular aumentada, ativação endotelial
Serotonina	Plaquetas	Vasodilatação, permeabilidade vascular aumentada
Prostaglandinas	Mastócitos, leucócitos	Vasodilatação, dor, febre
Leucotrienos	Mastócitos, leucócitos	Permeabilidade vascular aumentada, quimiotaxia, adesão e ativação de leucócitos
Fator ativador de plaquetas	Mastócitos, leucócitos	Vasodilatação, permeabilidade vascular aumentada, adesão de leucócitos, quimiotaxia, desgranulação, aumento de EROs
Espécies reativas de oxigênio	Leucócitos	Destruição de microrganismos, Injúria tecidual
Óxido Nítrico	Endotélio, macrófagos	Relaxamento do músculo liso vascular, destruição de microrganismos
Citocinas	Macrófagos, células endoteliais, mastócitos	Ativação endotelial local (expressão de moléculas de adesão), febre, dor, anorexia, hipotensão, resistência vascular diminuída (choque)
Quimiocinas	Leucócitos, macrófagos ativados	Quimiotaxia, ativação de leucócitos

Produtos do complemento (C5a,C3a, C4a)	Plasma (produzidos no fígado)	Quimiotaxia e ativação de leucócitos, vasodilatação (ativação de mastócitos)
Cininas	Plasma (produzidas no fígado)	Permeabilidade vascular aumentada, contração de músculo liso, vasodilatação, dor
Proteases ativadas durante a coagulação	Plasma (produzidas no fígado)	Ativação endotelial, recrutamento de leucócitos

2.2.1 Citocinas

As citocinas são glicoproteínas ou polipeptídeos extracelulares solúveis em água, podendo ser sintetizadas, na região da injúria, por variados tipos de células, assim como as imunes. As mesmas possuem um papel essencial no fenômeno doloroso. Determinadas citocinas demonstram efeito anti-inflamatório por exemplo: IL-10, IL-13 e IL-4 e, outras efeito pró-inflamatório tais quais IL-7, IL-1, IL-6 e IL-2. Acontece uma associação do sistema imune e a dor, de maneira que o impedimento do processo nociceptivo desencadeia uma diminuição da síntese de citocinas pró-inflamatórias, e como resultado a sensação dolorosa é menor. Ressalta-se ainda existir a possibilidade das citocinas pró-inflamatórias que intervêm no fenômeno doloroso, procederem além de células neurais e do sistema imune, das células da glia, e por isso terem a capacidade de serem responsivas em um tempo pequeno ou grande, tendo a habilidade de aumentar o fenômeno doloroso, provocar hiperexcitabilidade crônica e mudanças nos fenótipos dos nociceptores (Oliveira *et al.*, 2011).

As citocinas constituem um grupo importante de moléculas. Dentre elas existe uma subcategoria, as quimiocinas, consideradas singulares. As citocinas são sintetizadas, basicamente pelos linfócitos e macrófagos, sendo habilitadas para regular o processo de infiltração de variadas células. As citocinas mais consideráveis são IL-1 β , IL-6 e TNF- α , tendo como atribuições fundamentais a estimulação dos leucócitos e células do endotélio, e também incitam atuações do sistema de fase aguda. No endotélio vascular acontece uma elevação na exposição e produção de integrinas e selectinas, elevando a incorporação, às células do endotélio, dos leucócitos circulantes, como também a produção de NO, fatores de crescimento, outras citocinas e eucosanoides. Salienta-se o envolvimento destas citocinas na perda de apetite e febre, em respostas de fase aguda. Em contrapartida, as quimiocinas têm a peculiaridade de direcionar os leucócitos e modular a migração dos mesmos da circulação sanguínea aos tecidos,

exercendo dessa maneira sua atribuição quimiotática. As quimiocinas são uma família proteica que age através do mecanismo de quimiotaxia em relação a variadas espécies de linfócitos. Sendo subcategorizadas em quatro associações, designadas segundo a disposição dos resíduos de cisteína, podendo ser: C-X-C, C-C, CX₃C e C. Esta família opera mediante ligação a receptores metabotrópicos. A IL-8 apesar de configurar uma das mais importantes quimiocinas, atuando na estimulação e quimiotaxia dos neutrófilos, está restrita a eosinófilos e monócitos. Tendo os produtos de micróbios e citocinas, por exemplo TNF- α e IL-1, dentre outras, como seus estimuladores mais marcantes. Portanto, as quimiocinas possuem duas atribuições essenciais, o arrolamento dos leucócitos no processo inflamatório e no arranjo natural anatômico celular nos tecidos linfoides e demais tecidos (Robbins, 2010).

2.2.2 Histamina

A histamina é um composto orgânico nitrogenado básico, formada sobretudo, através de descarboxilação, por isso é denominada por amina biogênica. Sua produção depende do aminoácido essencial histidina. Na membrana da célula existe um transportador chamado de L-aminoácido que transporta a histidina do meio extracelular para o intracelular. Ao estar dentro da célula a histidina sofre ação da enzima L-histidina descarboxilase (HDC), passando assim pelo processo de descarboxilação. A enzima em questão é encontrada em diversas células, tais como basófilos, mastócitos, neurônios do SNC, células gástricas parietais, entre outras (Hass, 2007; Stein *et al.*, 2009). O transportador vesicular de monoamina 2 (VMAT-2), depois da histamina ter sido produzida, capta e desloca a mesma para o interior de vesículas, e neste local ela fica armazenada (Merickel, 1995). Somente os basófilos e mastócitos conseguem estocar a histamina, enquanto que células linfoides e mieloides não estocam histamina, embora tenham o HDC, sendo dessa forma hábeis de produzirem histamina. Este fenômeno é denominado por neo síntese histaminérgica (Haas, 2007). As enzimas histamina metiltransferase (HMT) e diamina oxidase (DAO) agem sobre a histamina que se encontra fora da célula, metilando-a dando origem a N-metilhistamina. Todavia, algumas células possuem capacidade de secretá-la assim como as células enterocromafins, linfócitos, plaquetas, neurônios histaminérgicos e células dendríticas. A histamina participa de variadas funções fisiológicas em vários sistemas e órgãos (Shahid *et al.*, 2010).

As ações biológicas promovidas pela histamina são intermediadas através da sua interação com quatro tipos de receptores: H₁, H₂, H₃ e H₄ (Ghamari *et al.*, 2019). Estes fazem parte da família de receptores acoplados a proteína G, em que os receptores H₁ são acoplados à

Gq, os receptores H₂, à Gs e os receptores H₃ e H₄, à Gi/Go. Os receptores H₁, H₂ e H₃ agem na maioria das áreas cerebrais, enquanto que o receptor H₄ está envolvido na mediação da mudança de formato de eosinófilos e quimiotaxia de mastócitos (Rang e Dale, 2016).

O receptor H₁ é expresso em várias células tais como as do aparelho respiratório, epiteliais nervosas, eosinófilos, músculo liso, linfócitos B e endoteliais, por isso ele tem a expressão designada por ubiquitária. Sua estimulação ativa as vias de sinalização do fosfatidilinositol, estimula a fosfolipase C e eleva o nível, intracelular, de Ca⁺², mediante síntese de diacilglicerol (DAG) e IP3. Observa-se assim incitação do fator de transcrição nuclear kappa B (NFkB), que é um fator que modula a manifestação de citocinas participantes do processo inflamatório, além de síntese de mediadores inflamatórios que desencadeiam uma ampliação da permeabilidade vascular e broncoconstrição (Azzolina *et al.*, 2003). Em vista disso a estimulação do H₁ tem um relevante envolvimento nas alergias (Criado *et al.*, 2010).

O receptor H₂ é encontrado em vários tipos celulares diferentes assim como em linfócitos T, linfócitos B, coração, encéfalo, células dendríticas, parietais gástricas, dentre outras. Sua estimulação promove aumento da secreção de ácido gástrico, aumento da permeabilidade vascular, aumento da produção da secreção de mucosa respiratória, entre outros efeitos (Thangam, 2018). A ativação do H₂ inibe a síntese de citocinas inflamatórias tais como a IL-12, interferon-gama (IFN- γ) e IL-2 (Mazzoni, 2001), além de desencadear, principalmente, uma elevação de secreção de citocina anti-inflamatória IL-10 por células T e dendríticas (Borro, 2021). Mediante a interação da histamina com H₂ destaca-se sua possível atuação contrarregulatória, visto que propicia a elevação da síntese de IL-10 colaborando para o abolimento da resposta de inflamação desordenada (Akdis, 2006).

O receptor H₃ é expresso, sobretudo, no SNC sendo encontrado em maior quantidade no hipocampo, hipotálamo, gânglios basais e córtex cerebral (Meiler, 2008; Gemkow, 2009). Sua ativação inibe a condutância de Ca⁺², reduzindo a despolarização do neurônio e soltura da histamina (Oda, 2000).

O receptor H₄ possui elevada exibição em basófilos, neutrófilos, células hematopoiéticas periféricas, mastócitos, na medula óssea, dentre outras, e apresenta baixa exibição nos hepatócitos, coração, tecidos periféricos, baço, etc. Ademais este tipo de receptor incita a quimiotaxia dos mastócitos e eosinófilos (Rang e Dale, 2016), estando envolvido em processos de resposta imunológica, possuindo ação nociceptiva periférica, de pronocicepção (Farzin, 2002; Eschi *et al.*, 2005; Criado *et al.*, 2010; Mocking *et al.*, 2016). A expressão do receptor H₄ é incitada por várias citocinas, tais quais IL-6, IL-13, IL-10, TNF- α e IFN- γ .

2.2.3 Serotonina

A serotonina (5-Hidrotriptamina ou 5-HT) é denominada monoamina neurotransmissora sintetizada e localizada majoritariamente no intestino, e nos neurônios do SNC. Possui variadas atribuições, contudo uma das mais relevantes para o contexto do presente trabalho trata-se da sua habilidade em diminuir a intensidade dos sinais dolorosos encaminhados para o encéfalo (Widgerow, 2012). Mediante a neutralização das ações da substância P é que a 5-HT evita que a dor seja percebida no encéfalo (Millan, 2002). A serotonina e a histamina são denominadas por aminas vasoativas, sendo mediadores da inflamação contidas dentro dos grânulos do citoplasma. A serotonina encontra-se localizada, substancialmente em plaquetas e a histamina em mastócitos. Estes mediadores sofrem modulações de vários agentes, além disso propiciam a agregação de plaquetas, após contato com adenosina difosfato, colágeno, trombina, PAF – em virtude de desencadear nas plaquetas a liberação de serotonina. A serotonina suscita a ampliação da permeabilidade vascular e vasodilatação que depende de NO. A histamina age sobre os receptores histaminérgicos H₁ desencadeando aumento da permeabilidade vascular e vasodilatação. Ademais, incita o endotélio a liberar NO e viabiliza a produção de prostaciclina (Kumar, 2010; Jutel *et al.*, 2009).

2.2.4 Bradicinina

A bradicinina promove vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, sendo um agente relevante na dor, já que a mesma compõe um dos cinco sinais cardinais da inflamação (Kumar, 2011). Sendo sintetizada mediante quinogénios de alto peso molecular como integrante da cascata de coagulação. Possuindo dois tipos de receptores B₁ e B₂, estes foram descritos por intermédio de pesquisas *in-vitro* e *in-vivo*, onde se utilizaram antagonistas e agonistas próprios para cada tipo de receptor supracitado (Moalem, 2006). A bradicinina encontra-se como fundamento da elaboração da hipersensibilidade à dor, porque possibilita que as terminações periféricas sejam, sensibilizadas e na medula espinal, intensifica a transmissão sináptica do glutamato. Tanto os fatores que estimulam a quimiotaxia de monócitos e neutrófilos quanto a indução dos macrófagos na liberação de IL-1 e TNF, decorrem da ação da bradicinina. Além disto ela estimula os mastócitos a liberarem histamina, contudo o mecanismo não envolve os receptores B₁ e B₂, e sim uma ligação inespecífica na superfície da célula. Todavia os receptores B₁ e B₂ possuem peptídeos antagonistas capazes de se ligarem em regiões inespecíficas na superfície da célula, e assim promover a desgranulação (Moalem e Tracey,

2006).

2.2.5 Mediadores inflamatórios lipídicos

O metabolismo do ácido araquidônico (AA) produz mediadores lipídicos, os eicosanóides. O AA é um ácido graxo esterificado situado na posição 2 do glicerol, constituinte das membranas plasmáticas, sendo liberado pela atuação da enzima fosfolipase A2 (PLA₂) (Figura 17). Estas são ativadas, dentre outros componentes do sistema biológico, pelo C5a. Logo em seguida a liberação do AA, o mesmo sofre a ação de duas vias de enzimas diferentes a das cicloxigenases e lipoxigenases. A via enzimática das cicloxigenases induz a produção dos prostanóides, como PGI₂, PGE₂, TXA₂, PGF_{2α} e PGD₂. Já a via enzimática das lipoxigenases está incumbida da síntese dos leucotrienos como, LTD₄, LTC₄, LTA₄ e LTB₄ e também pelas lipoxinas (Figura 17) (Kumar, 2010). Duas isoformas enzimáticas são hábeis para sintetizar os prostanóides, uma é expressa constitutivamente, a COX-1 e a outra é intensamente incitada em consequência a estímulos da inflamação, contudo também é expressa de forma constitutiva em algumas áreas no encéfalo, da mesma forma no endotélio vascular e no aparelho justaglomerular dos rins (Robbins, 2010). A magnitude da relevância dos mediadores da inflamação no processo inflamatório permeia o fato dos mesmos serem moduladores de cada fase deste fenômeno fisiológico, ressaltando as prostaglandinas, PGI₂ (prostaciclina), PGD₂ e PGE₂, que promovem vasodilatação (Fitzgerald, 2011). Ademais, a PGE₂ relaciona-se de forma íntima com a dor, mediante sua atuação sobre os nervos aferentes sensitivos, na medula espinal e encéfalo. O tromboxano A₂ (TXA₂), é produzido na área das plaquetas, induz intensa vasoconstrição e promove excessiva agregação de plaquetas, além disso é um potente quimiotático em relação aos neutrófilos, proporcionando tanto a estimulação quanto a incorporação deles ao tecido endotelial (Francischetti, 2010). O LTC₄ e os produtos do seu metabolismo, LTE₄ e LTD₄, essencialmente são produzidos nos mastócitos, desencadeando elevação da permeabilidade vascular, vasoconstrição e broncoespasmo (Harizi, 2008).

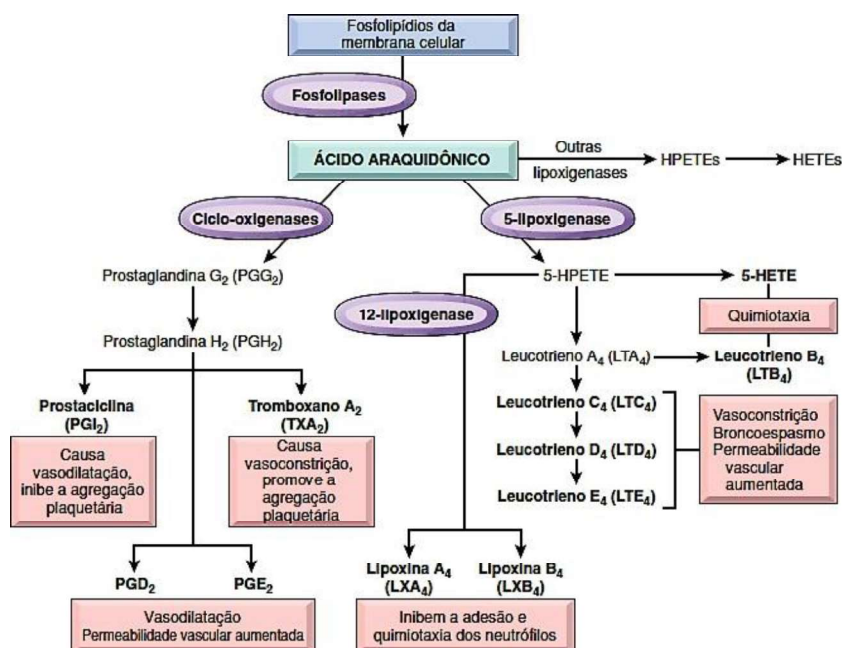


Figura 17 - Cascata do ácido araquidônico. (Fonte: adaptado de Kumar, 2010).

2.3 Óxido Nítrico

O óxido nítrico (NO) é um radical livre produzido de forma endógena no endotélio vascular, antigamente era nomeado por fator relaxante do endotélio (EDRF). Desse modo, ele é considerado uma molécula mensageira tendo muitos focos moleculares. O NO é produzido em variados tecidos por meio da transformação da L-arginina em L-citrulina mediante atuação da enzima óxido nítrico sintase (NOS) (Martinez, 1997). A literatura descreve formas constitutivas da óxido nítrico sintase (NOS 1) e formas induzidas da óxido nítrico sintase (NOS 2). As formas constitutivas da enzima óxido nítrico sintase (NOS 1) encarregadas de sintetizarem o NO são as isoformas, eNOS (endotelial) e nNOS (neuronal), sendo importantes para a neurotransmissão, integridade vascular, manutenção do tecido, dentre outro (Baylis, 1998). Entretanto a forma induzível (NOS 2) demonstra exposição elevada em processos inflamatórios (Grisham, 1992). Portanto o NO possui variadas atribuições tais como, mediador inflamatório, neurotransmissor, regulador de transcrição e tradução de genes, controle do tônus vascular, dentre outras (Förstermann e Sessa, 2012).

O NO detém relevantes atribuições no papel de mensageiro intracelular, possuindo alta difusibilidade, por isso não precisa de receptores transmembranas (Flora e Zilberstein, 2000). Uma heme proteína heterodimérica do citosol, designada por guanilato ciclase solúvel (GCs), é estimulada pelo NO. A partir daí ocorre a transformação de guanosina trifosfato (GTP) para monofosfato cíclico de guanosina (GMPc) (Montfort *et al.*, 2017). Sua função na sistemática

da nocicepção é complexa, pois o mesmo participa da analgesia periférica e central, assim como da sensação dolorosa (Cury *et al.*, 2011). O NO é detectado na área supraespinal e espinal, no SNC (Schmidtke, 2015; Buhler *et al.*, 2018).

O favorecimento do NO na ampliação da nocicepção é um fenômeno que depende da estimulação dos receptores NMDA (Choi *et al.*, 2019). A chegada do potencial de ação nas fibras C nociceptivas, no terminal pré- sináptico, incita a liberação de mediadores excitatórios tais quais CGRP, neurocininas, glutamato e SP (Miclescu e Gordh, 2009). A ligação do glutamato no receptor, incita a liberação de Ca^{+2} intracelular, promovendo uma cascata de fenômenos, englobando a estimulação da NOS e, com isso a elevação da produção de NO, no terminal pós sináptico. O NO produzido no terminal pós sináptico consegue mover-se em direção ao ambiente fora da célula, no qual agirá de maneira retrógrada, como neurotransmissor, incitando a liberação, no terminal pré-sináptico, de neurotransmissores excitatórios (Figura 18) (Cury *et al.*, 2011).

Na nocicepção o óxido nítrico é um relevante mediador. Todavia, através de indícios provenientes de experimentos e da clínica notou-se que o NO também promove analgesia. Consequentemente, o NO cumpre um efeito dual sobre a transmissão e o manejo da dor (Cury *et al.*, 2011).

Diversos achados literários evidenciam que o NO produz analgesia e que permeia a ação antinociceptiva central e periférica de substâncias analgésicas, exemplo opioides (Javanmardi *et al.*, 2005; Hervera *et al.*, 2009; Napimoga *et al.*, 2009), compostos naturais (Gujinski *et al.*, 2009; Gutierrez *et al.*, 2012) e anti-inflamatórios não esteroidais (Lozano-Cuenca *et al.*, 2005).

O óxido nítrico foi alvo de inúmeras pesquisas do começo da década de 90, onde evidenciaram que ele participa da ação analgésica de fármacos no contexto da antinocicepção periférica e promove analgesia. As conclusões das observações destacaram que ação analgésica periférica da acetilcolina é mediada pelo NO, além do NO promover, por si próprio, a ação analgésica. Ademais, o conjunto das informações indicam que o efeito analgésico do NO é inerente a uma via, intracelular, de sinalização, e que envolve a produção de monofosfato cíclico de guanosina (GMPc) (Duarte *et al.*, 1990).

Os aparatos moleculares que participam do efeito analgésico do NO concernem em uma correlação entre a abertura de canais de K^{+} sensíveis a ATP e a via NO-GMPc. Sendo esta proposta fundamentada em conhecimentos de pesquisas que mostram que a ação antinociceptiva de 3',5'-monofosfato de dibutirilguanossina - cíclica – DbcGMP, um análogo permeável de GMPc, e de doadores de NO, é intermediada por meio da abertura de canais de

K^+ , próprios, que são sugestionáveis a ATP (Soares *et al.*, 2000; Soares *et al.*, 2001). Logo, a união do NO com a guanilato ciclase solúvel, incita a transformação de GTP em GMPc. Este é capaz de ativar os canais de K^+ , que são sensíveis a ATP de forma indireta ou direta, mediante a via proteína quinase G (PKG) (Figura 19) (Curry *et al.*, 2011).

Em neurônios nociceptivos, análises eletro fisiológicas, evidenciam a ação estimuladora da morfina sobre os mesmos, provocando aumento a abertura dos canais de K^+ sensíveis a ATP, acompanhado de hiperpolarização neuronal. Estes dados apontam que compostos habilitados para estimular a via NO-GMPc e o NO, promovem antinocicepção através da abertura de canais de K^+ sensíveis a ATP, conseqüentemente ocorre aumento de K^+ , reconstituindo o limiar do nociceptor que é alto (Cunha *et al.*, 2010).

Portanto, a via NO-GMPc intermeia a ação analgésica de muitos anti-inflamatórios, opioides e dipirona. As maneiras específicas pelas quais ativam a síntese de NO, por enquanto não são elucidadas plenamente de forma satisfatória (Cury *et al.*, 2011).

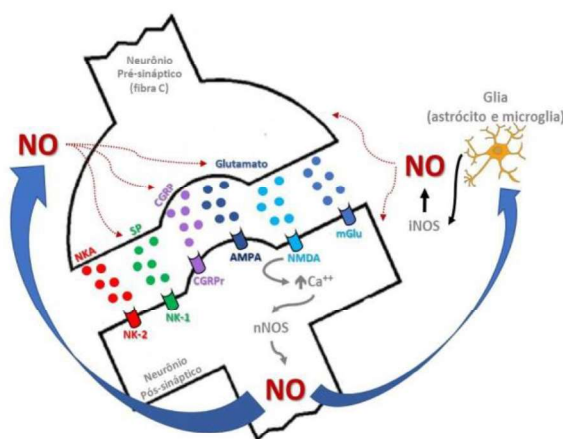


Figura 18 - Via do óxido nítrico na nocicepção. A ativação do receptor NMDA pelo glutamato permite o influxo de cálcio (Ca^{2+}), ativando a enzima óxido nítrico sintase neuronal (NOS 3) e, conseqüentemente, aumentando as concentrações de NO. O NO sintetizado se difunde para o neurônio pré-sináptico e células da glia. No neurônio pré-sináptico, estimulará maior liberação de neurocinina A (NKA), substância P (SP), peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) e glutamato. Na célula da glia, o NO induz a ativação da óxido nítrico sintase indutível (NOS 2).

Fonte: OLIVEIRA, F. Avaliação das vias colinérgica e nitrérgica no efeito antinociceptivo da corrente interferencial em modelo animal de dor inflamatória. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas), Universidade Federal de Sergipe. Sergipe, p.72. 2019.

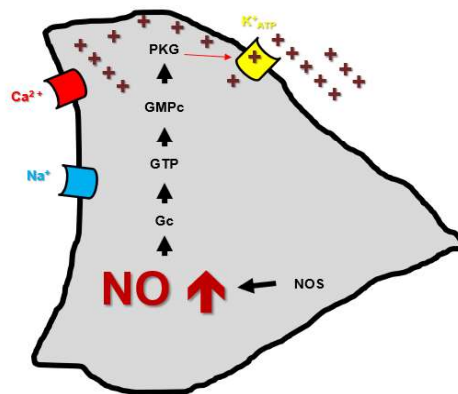


Figura 19 - Via do óxido nítrico na antinocicepção. A ativação da óxido nítrico sintase (NOS) dá início a síntese do óxido nítrico (NO), que acopla-se à guanilato ciclase solúvel (GCs), seu receptor intracelular. Consequentemente haverá aumento nas concentrações de monofosfato cíclico de guanosina (GMPc), ativando a proteína quinase G (PKG). A PKG irá fosforilar os canais de potássio dependentes de adenosina trifosfato (K^+_{ATP}), promovendo a abertura do canal e consequente hiperpolarização da célula.

Fonte: OLIVEIRA, F. Avaliação das vias colinérgica e nitrérgica no efeito antinociceptivo da corrente interferencial em modelo animal de dor inflamatória. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas), Universidade Federal de Sergipe. Sergipe, p.72. 2019.

2.4 Sistema colinérgico

Primeiramente o sistema colinérgico foi descoberto no SN, área em que intermedeia a disseminação do impulso nervoso de sinapses neuro-musculares e neuronais, mediante a atuação da acetilcolina (ACh), seu neurotransmissor característico. Sabe-se que a mesma participa de sinapses no SNC, SNP e junções neuromusculares (Tracey, 2007; Kawashima e Fujii, 2003).

O sistema colinérgico atua sobre a nocicepção de maneira direta e indireta. Diretamente ele age através de vias descendentes colinérgicas inibitórias, como também mediante a liberação da ACh pelos neurônios situados no corno dorsal da medula espinal. Indiretamente ele opera por meio da estimulação de outras vias inibitórias descendentes. A regulação da nocicepção relativa a ACh abrange uma compreensão dinâmica de ações, através dos vários tipos de receptores (Millan, 2002).

No momento da propagação do impulso nervoso, potenciais de ação liberam a ACh para a fenda sináptica, possibilitando sua ligação aos seus receptores particulares. Os mesmos podem ser de dois tipos: muscarínicos e nicotínicos. Estes dois tipos de receptores estão localizados no SNC e SNP, tendo distintas posições sinápticas, manifestando diversas atribuições na transmissão colinérgica (Pavlov e Tracey, 2005). Os receptores muscarínicos (mAChR) são receptores acoplados a proteínas G, significando que eles passam por um tempo de latência

depois de terem sido estimulados, e atualmente conhece-se cinco classes: M_1 a M_5 (Figura 20) (Golan, 2014; Pavlov e Tracey, 2005; Soreq e Seidman, 2001; Jonge e Ulloa, 2007; Gwilt, 2007).

O SNC possui um mecanismo de resposta à presença de estímulos inflamatórios na circulação sanguínea, a via colinérgica anti-inflamatória, sendo intermediada pelo nervo vago (Tracey, 2007). Este é formado por fibras constituídas por elementos motores (eferentes) e sensoriais (aférentes). Pesquisas evidenciam que a estimulação do nervo vago eferente reduz a concentração sanguínea de citocinas pró-inflamatórias e $TNF-\alpha$, e dessa maneira coíbi a resposta inflamatória (Pavlov e Tracey, 2005; Rosas, 2008). Salienta-se desse modo que o nervo vago também possui a atribuição de modulador da resposta inflamatória, além de seus atributos de modulação gastrointestinal e batimento do coração (Pavlov e Tracey, 2005).

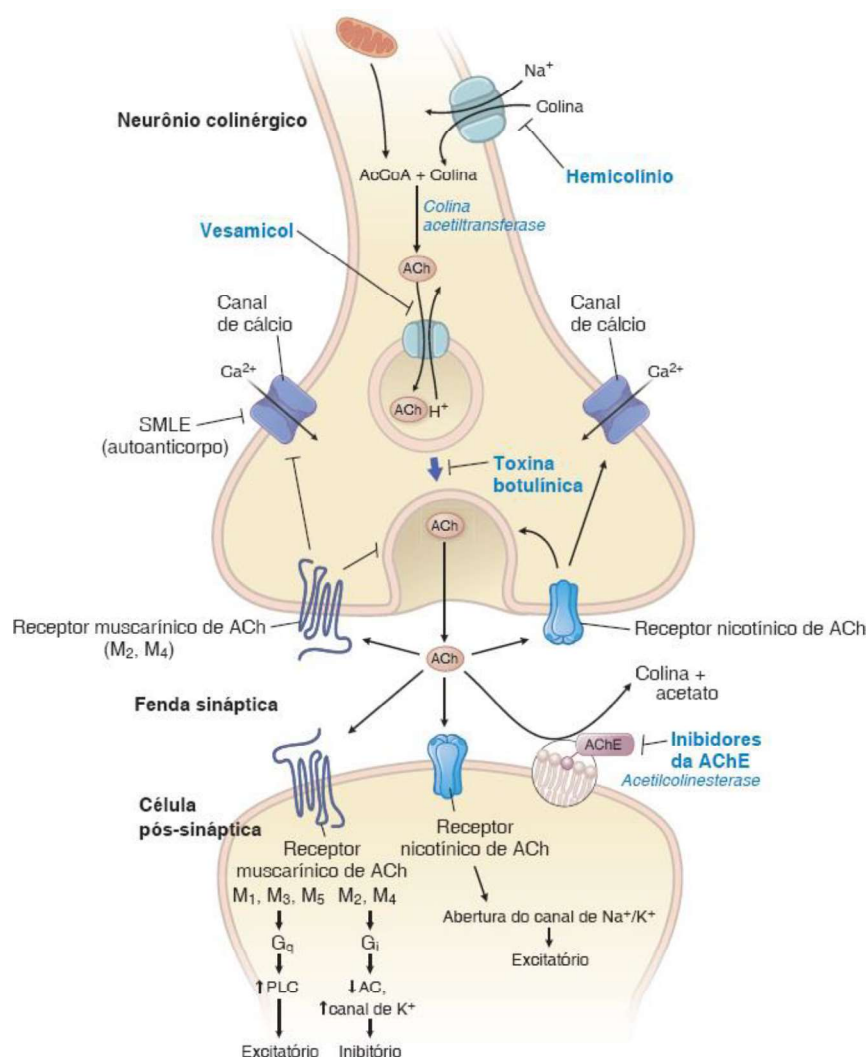


Figura 20 - Vias de síntese, armazenamento, liberação e degradação da acetilcolina e agentes farmacológicos que atuam sobre essas vias. A colina é transportada até a terminação nervosa colinérgica pré-sináptica por um cotransportador de Na^+ - colina de alta afinidade. Este é inibido pelo hemicolinio. A enzima citosólica

colina acetiltransferase catalisa a formação da acetilcolina (ACh) a partir da acetil coenzima A (AcCoA) e colina. A ACh recém-sintetizada é acondicionada (juntamente com ATP e proteoglicanos) em vesículas para seu armazenamento. O transporte da ACh para o interior da vesícula é mediado por um antiportador de H^+ - ACh, inibido pelo vesamicol. As vesículas que contêm ACh fundem-se com a membrana plasmática quando os níveis intracelulares de cálcio aumentam em resposta a um potencial de ação pré-sináptico, liberando o neurotransmissor na fenda sináptica. A síndrome miastênica de Lambert-Eaton (SMLE) resulta da produção de um autoanticorpo que bloqueia o canal de Ca^{2+} pré-sináptico. A toxina botulínica impede a exocitose das vesículas pré-sinápticas, bloqueando, assim, a liberação de ACh. A acetilcolina difunde-se na fenda sináptica e liga-se a receptores pós e pré-sinápticos. Os receptores de acetilcolina são divididos em nicotínicos e muscarínicos. Os nicotínicos são canais iônicos regulados por ligantes, permeáveis a cátions, enquanto os muscarínicos são acoplados à proteína G e alteram as vias de sinalização da célula, incluindo a ativação da fosfolipase C (PLC), a inibição da adenilciclase (AC) e a abertura dos canais de K^+ . Os receptores nicotínicos pós-sinápticos e os receptores muscarínicos M_1 , M_3 e M_5 são excitatórios; os receptores muscarínicos M_2 e M_4 pós-sinápticos são inibitórios. Os receptores nicotínicos pré-sinápticos intensificam a entrada de Ca^{2+} no neurônio pré-sináptico, aumentando, assim, a fusão das vesículas e a liberação de ACh. Os receptores muscarínicos M_2 e M_4 pré-sinápticos inibem a entrada de Ca^{2+} no neurônio pré-sináptico, diminuindo, assim, a fusão das vesículas e a liberação de ACh. A acetilcolina na fenda sináptica é degradada pela acetilcolinesterase (AChE) ligada à membrana em colina e acetato. Existem numerosos inibidores da AChE; os anticolinesterásicos clinicamente relevantes são, em sua maioria, inibidores competitivos da enzima. (Fonte: Golan, 2014).

Os mediadores inflamatórios IL- 1β , TNF α , dentre outros, estimulam as fibras aferentes do nervo vago, estas funcionam como um detector para a inflamação (Pavlov e Tracey, 2005; Gwilt, 2007). Esta informação é transportada ao SNC que ativa o nervo vago eferente a fim de sintetizar ACh (Gwilt, 2007). A ACh promove a inibição da produção e liberação de citocinas pró-inflamatórias por células sintetizadoras de citocinas e macrófagos. Sendo este fenômeno intermediado pela estimulação do receptor nicotínico da acetilcolina $\alpha 7$ (nAChR $\alpha 7$) localizado na membrana plasmática das células pertencentes ao sistema imunológico (Tracey, 2009). Estudos com ratos *knockout* para o gene codificante do receptor nAChR $\alpha 7$, demonstraram que ele é imprescindível para a ação anti-inflamatória do nervo vago, visto que a estimulação do nervo vago não foi suficiente para suprimir a concentração de TNF α (Pavlov e Tracey, 2005). À vista disso, a via colinérgica anti-inflamatória simboliza um fenômeno fisiológico por meio do qual o SN interage com o sistema imunológico inato no intuito de regular a resposta inflamatória (Huston; Tracey, 2011).

2.5 Controle farmacológico da dor e inflamação

Atualmente, analgesia de maior evidência na clínica, trata-se da analgesia multimodal. Esta consiste na utilização de diversos fármacos, recebendo esta denominação por atuar em distintas regiões do sistema nervoso, assim como por agir de modos variados. Dentre os medicamentos mais usados estão os tradicionais e não tradicionais. Dentre os tradicionais encontram-se os AINEs, opioides e anestésicos locais, enquanto dentre os não tradicionais estão os agonistas α -2-adrenérgicos, antagonistas do receptor N-metil D-aspartato (NMDA) e

anticonvulsivantes. No que se refere ao controle não farmacológico da dor, têm-se, dentre outras, a terapia cognitivo-comportamental e a estimulação elétrica nervosa transcutânea (Manworren, 2015).

No controle inicial da dor aguda, é usado os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), incluindo os inibidores seletivos COX2. Geralmente, com a finalidade de se controlar de maneira multimodal a dor, usa-se esta classe terapêutica associada a outros fármacos, objetivando a redução dos efeitos adversos, assim como o aumento da analgesia. Visto que quando um fármaco é utilizado de forma isolada, apresenta uma maior chance de desenvolver reações indesejadas, sobretudo em grandes doses, podendo prejudicar a relação benefício/risco, apresentando uma eficácia maior nas situações de dor leve à moderada (Figueiredo *et al.*, 2015).

Os AINEs compõem uma classe farmacológica que partilham ações terapêuticas como analgésicas, antipiréticas e anti-inflamatórias. Agem inibindo a ação da enzima ciclooxigenase (COX), sobre o ácido araquidônico, diminuindo a síntese de PGs, que são liberadas de células que sofreram danos tecidual, possuindo uma função importante na sensibilização dos nociceptores, como também na permanência da inflamação (Beckman, 2013; Mathews *et al.*, 2014).

Contudo, provocam vários efeitos adversos, como também podem vir a desencadear doença renal crônica. Ademais, demonstram efeitos adversos menos comuns tais como exantemas e reações cutâneas do tipo urticária, no caso do paracetamol, piroxicam, ácido acetilsalicílico e ibuprofeno (Figueiredo *et al.*, 2015; Hamrick *et al.*, 2019).

Os agonistas opioides, como já dito anteriormente, agem sobre os receptores opioidérgicos no SNP e SNC, inibindo, na fibra aferente do corno dorsal da medula espinal, a liberação de neurotransmissores excitatórios, mediante a inibição da propagação entre os neurônios do estímulo nociceptivo. Agem na membrana pós sináptica elevando a saída de K⁺, desencadeando hiperpolarização, na medula espinal, dos neurônios de projeção, como também inibem as vias ascendentes nociceptivas (Mathews *et al.*, 2014).

Vários aspectos devem nortear a escolha do opioide a ser utilizado, dentre eles estão duração e expectativa da dor, condição do paciente e tipo de procedimento envolvido. Frequentemente, fentanil e morfina, agonistas μ puros, são usados nos casos de dor moderada à severa (Berry, 2015). Ao passo que os agonistas μ parciais, possuem uma efetividade menor, contudo ainda assim desempenham uma analgesia relevante, apresentando-se como boas opções para o controle da dor moderada. Enquanto que no caso de procedimentos e pacientes relacionados a dor suave à moderada, os agonistas-antagonistas, tal qual o butorfanol, são indicados (Beckman, 2013). O agonista fraco de receptor opioide μ , tramadol, tem um

mecanismo de ação misto, além de ser um inibidor da recaptação de norepinefrina e serotonina, normalmente utilizado concomitantemente com AINEs ou opioides no controle da dor crônica (Mathews *et al.*, 2014). A morfina e fentanil possuem similaridades na eficácia, e ambos podem promover efeitos adversos leves como ondas de calor, vômito, náuseas, reação alérgicas leves, tontura, como também efeitos adversos mais severos como hipotensão e hipóxia (Blancher *et al.*, 2019).

Os anestésicos locais, tais quais bupivacaína, lidocaína, dentre outros, são bloqueadores clássicos, reversíveis de canais de Na^{+2} , que agem atrapalhando a transmissão do impulso nociceptivo por meio da via aferente da dor. A utilização de anestésicos locais em bloqueio locorregional produz a diminuição ou o abolimento da transmissão das fibras aferentes, desencadeando em uma diminuição considerável da necessidade de medicamentos para manter a anestesia (Lamont, 2008; Beckman, 2013).

A pregabalina e gabapentina, fármacos usados no manejo da epilepsia, pertencentes a classe de anticonvulsivantes, demonstram características analgésicas por causa dos seus mecanismos de ação. Os mesmos promovem diminuição da liberação de neurotransmissores excitatórios dependente de Ca^{+2} , reduzindo dessa forma a excitação dos neurônios. Determinadas pesquisas mostraram que fármacos análogos ao GABA, exemplificando a gabapentina, agem sobre os canais de Ca^{+2} dependentes de voltagem, assim como sobre receptores NMDA e proteína quinase C (Finnerup, 2019).

A utilização destes fármacos é bastante documentada e muito recomendada no manejo de dores crônicas. No caso da pregabalina foi demonstrado, mediante ensaios, sua eficácia no manejo da dor na fibromialgia e em relação a gabapentina, é indicada no manejo da dor neuropática. Ademais a carbamazepina e a oxcarbazepina são padrão ouro na farmacoterapia da neuralgia do trigêmeo (Finnerup, 2021).

Os agonistas α -2-adrenérgicos agem nas vias ascendentes da dor, promovendo a inibição da SP. Esta é um neurotransmissor solto pela fibra aferente primária, que interage, no corno dorsal da medula espinal, com a fibra aferente secundária, a fim de gerar um potencial de ação. Dessa forma, a transmissão da sensação dolorosa é inibida, mediante inibição da liberação da SP (Manworren, 2015).

A cetamina tem sido usado no tratamento de dor aguda como alternativa aos opioides. A mesma é antagonista de receptores NMDA, sua administração pode ser por via retal, intramuscular, epidurais, subcutâneas e intranasal (Majidinejad *et al.*, 2014). Ela tem sido alvo de muitas pesquisas, pois tem demonstrado um alto potencial para substituir os opioides, nas

emergências médicas, nos casos de dor aguda, como também tem sido usada como monoterapia ou em associação a outros fármacos (Bower *et al.*, 2017; Karlow *et al.*, 2018).

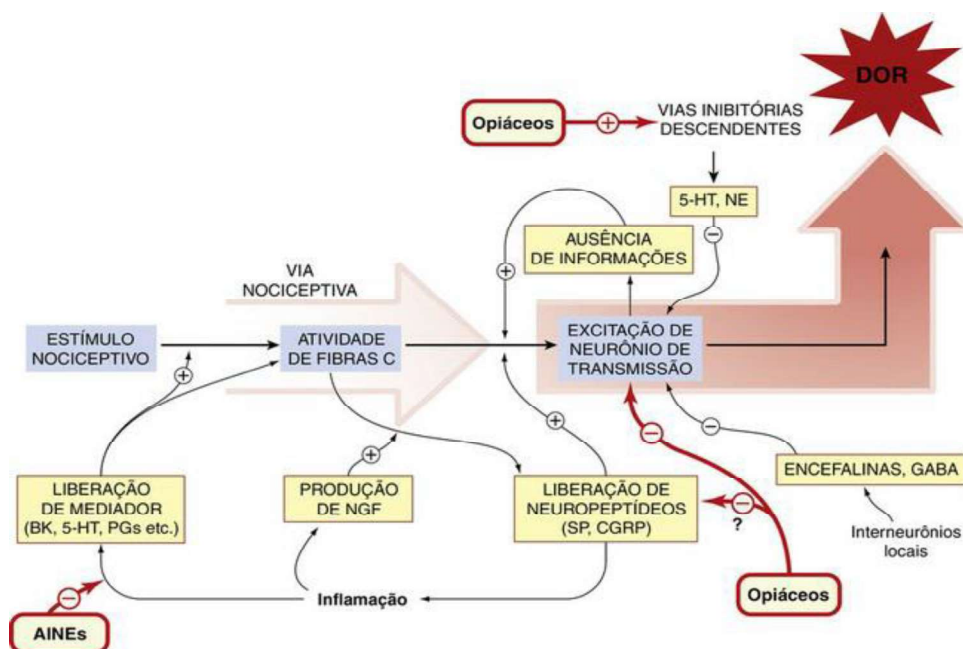


Figura 21 - Resumo dos mecanismos modulatórios na via nociceptiva. 5-HT, 5-hidroxitriptamina; BK, bradicinina; CGRP, peptídeo relacionado com o gene da calcitonina; NE, norepinefrina; NGF, fator de crescimento neural; NO, óxido nítrico; AINE, anti-inflamatório não esteroidal; PG, prostaglandina; SP, substância P. (Fonte: Rang e Dale, 2016).

A farmacoterapia anti-inflamatória mais usada é fundamentada na utilização de fármacos para impedir o recrutamento e a estimulação de neutrófilos ou de inibir a síntese e a ação de mediadores. Neste cenário, as duas mais notáveis classes de fármacos anti-inflamatórios, englobam os glicocorticoides e os AINEs (Figura 21) (Alessandri *et al.*, 2013; Silva e Pereira, 2016; Rang e Dale, 2016). Os AINEs, atualmente, representam a classe farmacológica mais usada, sendo indicados, sobretudo, para tratar dor e edema, ou seja, eventos de fase aguda. Contudo também são usados no manejo de patologias crônicas, exemplo artrite, dentre outras (Brunton, 2018; Oliveira *et al.*, 2019).

Os glicocorticoides compõem uma classe de medicamentos que possui semelhanças nas propriedades terapêuticas, farmacológicas e estruturais. Estes agentes atuam em praticamente todos os sistemas fisiológicos e, apesar de serem anti-inflamatórios eficazes, promovem muitos efeitos adversos (Couture, 2001; Antonow, 2007). Sendo usados em diversas patologias imunológicas e inflamatórias tais quais câncer, dermatites e asma.

Os corticoides agem regulando a transcrição de genes inflamatórios. Nesta situação, eles podem estimular a transcrição de genes anti-inflamatórios ou inibir a ativação de genes pró-inflamatório, englobando genes de quimiocinas, moléculas de adesão e citocinas. Entre os itens destes genes, estão os inibidores da fosfolipase A₂, que é a enzima que libera o AA da membrana plasmática, o ácido graxo metabolizado pelas lipoxigenases, responsáveis pela produção dos leucotrienos, tal qual a 5-LO, assim como pelas ciclooxygenases, com a finalidade de síntese dos mediadores lipídicos (Peixoto *et al.*, 2011; Torres, 2012; Silva e Pereira, 2016; Kumar, 2021).

Os corticosteroides são aptos para intervir em todas as fases da resposta inflamatória, praticamente, como também intervêm no reparo do tecido e na cicatrização, além disso atuam na inibição de reações proliferativas. No entanto, por causa da sua diversidade de efeitos sobre vários sistemas fisiológicos, eles promovem muitos efeitos adversos, dentre estes estão alterações celulares, endócrinas e metabólicas e, por isso o custo benefício/risco destes medicamentos precisa ser avaliado de forma cuidadosa (Bavaresco, 2005; Rang, 2016).

Dentre os fármacos, mais recentes, desenvolvidos para tratar patologias inflamatórias, encontram-se antagonistas de receptores específicos, anticorpos monoclonais, inibidores de quinase e inibidores de citocinas. Todavia, os mesmos apresentam limitações de custo e terapêuticas, tais quais, no uso crônico, prejuízos renais, hepáticos e gastrointestinais, bem como a via de administração (Medzhitov, 2008).

2.6 Triclosan

O 2-(2,4-diclorofenoxi)-5-clorofenol, conhecido também como Triclosan (TCS) (Figura 22) é uma espécie química de classificação fenólica halogenada, não iônica de amplo espectro bacteriano usado largamente em toda a América do Norte, Europa e Ásia (Dann, 2011). Possuindo um código universal utilizado para fornecer uma identificação única e inconfundível para substâncias químicas, denominado de número CAS, que no caso do TCS é 3380-34-5. Apresenta-se na forma de pó cristalino esbranquiçado a branco. Tendo como fórmula molecular C₁₂H₇Cl₃O₂. Em água tem baixa solubilidade, no entanto, em solventes polares como acetona e etanol é altamente solúvel, por apresentar um coeficiente de partição alto. Pode ser encontrado com diversos nomes comerciais como Irgasan; DP300 Irgasan; CH 3565; Irgacare MP; Lexol 300; Cloxifenolum; Aquasept; Gamophen (Calafat *et al.*, 2008; FDA, 2008; Moss *et al.*, 2000). Possui amplo espectro bactericida, pois age destruindo a membrana plasmática da bactéria e

por consequência atrapalhando nas trocas iônicas necessárias para a manutenção da vida (Tortora *et al.*, 2017).

O TCS apresenta uma maior atividade contra bactérias Gram-positivas do que Gram-negativas e fungos. Sua eficácia é demonstrada através de sua integração e interrupção da função da membrana celular bacteriana e inibição da proteína transportadora enoil-redutase, por meio de sua ligação com os resíduos de aminoácidos dos sítios ativos desta enzima, incluindo a síntese de RNA e de ácidos graxos. Desta forma, as sínteses de lipídeos, fosfolipídeos, lipoproteínas e lipopolissacarídeos ficam prejudicadas, e, eventualmente, pode resultar em morte celular (Moraes, 2015; Dann, 2011; Marques, 2017). Este antibacteriano, em elevadas concentrações atua como bactericida, como já exposto acima, inativando as bactérias por meio do rompimento da parede celular e, em baixas concentrações, como bacteriostático, inibindo o crescimento de bactéria (Aiello e cols., 2007). Graças a estas propriedades, o TCS é largamente utilizado em xampus, loções dermatológicas, sabões, desodorantes, dentre outros produtos de higiene pessoal. (Garcia, 2011). O TCS é utilizado em práticas médicas, pois além da propriedade bactericida, apresenta propriedades anti-inflamatórias, inibindo processos infecciosos e/ou anti-inflamatórios. Uma das suas atribuições é a higienização de ferimentos, escaras e limpeza pré-operatórias (Regös *et al.*, 1979).

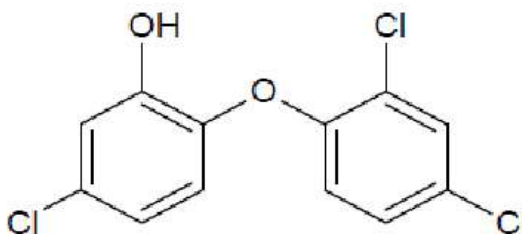


Figura 22 - Fórmula estrutural do triclosan. (Fonte: Melo, 2010).

2.7 Cetoprofeno

Os anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) estão entre os medicamentos mais vendidos no mundo. Diante disto é possível identificar sua ampla aplicabilidade na clínica médica, principalmente no tratamento da dor, febre e inflamação (Levoín *et al.*, 2004).

Devido a diferenças nas estruturas químicas, os AINEs são subdivididos em grupos (Costa *et al.*, 2006). Os derivados do ácido arilpropiónico constituem um grupo importante de

AINEs. Pertencem a este grupo, por exemplo, o ibuprofeno, naproxeno e também o cetoprofeno (Levain *et al.*, 2004).

As principais ações farmacológicas dos AINEs correspondem à ação anti-inflamatória, ação analgésica e ação antipirética. Estes efeitos se correlacionam com a inibição da enzima ciclo-oxigenase (COX), logo à inibição da síntese de prostaglandinas (PGs) e tromboxanos (Rang *et al.*, 2001).

A COX possui duas isoformas, a COX-1 e a COX-2. A COX-1 é expressa na maioria dos tecidos, denominando-se dessa forma constitutiva. Esta é responsável pela síntese de PGs, que sob condições fisiológicas, produz PGs necessárias à modulação das funções gastrointestinais e está envolvida na manutenção da homeostase dos tecidos. No entanto, a COX-2 é responsável pela produção dos mediadores prostanoídes da inflamação, sendo induzida nas células inflamatórias quando ativadas (Turini *et al.*, 2002; Mizushima, 2010). Entretanto, sabe-se que os AINEs devem sua ação anti-inflamatória à inibição da COX-2. Não obstante, a inibição da COX-1, é responsável pelos eventos adversos dos AINES, especialmente os que envolvem o trato gastrointestinal (Kummer *et al.*, 2002).

A classe dos arilalcanoícos é a maior entre os AINEs. Todas as estruturas químicas destes compostos possuem um centro de ácido carboxílico semelhante aquele existente na estrutura química do ácido araquidônico. A atividade anti-inflamatória aumenta devido a substituição, no carbono 2, de um grupamento metila, e ocorre a formação de um centro quiral. Os ácidos propiônicos substituídos, como dos fármacos pertencentes a esta classe, possuem alta potência anti-inflamatória e são classificados como profenos (Heerdink, 1998).

O cetoprofeno (Figura 23) (ácido 3-benzoil- α -metilbenzenoacético) foi sintetizado em 1963 e lançado como um fármaco oral na década de 1970 (Kantor, 1986). Quimicamente, este é um ácido fraco devido à presença de um átomo de carbono quiral na cadeia lateral do ácido propiônico (Levain *et al.*, 2004). Sendo solúvel em solventes orgânicos como acetona e etanol, e em água, praticamente é insolúvel. Mostra-se como um pó branco ou quase branco (Farmacopeia Brasileira, 2010).

O mecanismo de ação do cetoprofeno se dá pela sua capacidade de inibir de forma não seletiva a enzima ciclooxigenase (COX), inibe a COX-1 e COX-2 (Kay *et al.*, 2000). Desta maneira, inibe também a síntese de prostaglandinas (PGs) que são produzidas através da ação da enzima COX (Levain *et al.*, 2004). As prostaglandinas são importantes mediadores inflamatórios, principalmente a prostaglandina E₂ (PGE₂) e a prostaglandina I₂ (PGI₂) que atuam como potentes agentes vasodilatadores e potencializam o aumento da permeabilidade induzida por mediadores como a bradicinina e a histamina (Mendes *et al.*, 2012).

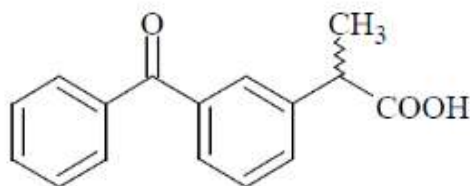


Figura 23 - Fórmula estrutural do cetoprofeno. (Fonte: França; Korolkovas, 1988).

O uso do cetoprofeno na farmacoterapia de diversas doenças possui limitações, visto que ele causa intensos danos ao trato gastrointestinal, dentre outros. Sabe-se que o contato direto do fármaco com a mucosa gástrica e a ação sistêmica, após a absorção, são os responsáveis pelos efeitos adversos causados por ele. A ionização do fármaco, está envolvida com o contato direto do fármaco com a mucosa (Cheng, 2013).

Os AINEs são ácidos orgânicos fracos e como tais, são moléculas não-ionizadas com peculiaridades apolares, em pH baixo. Em vista disso, podem atravessar a membrana mucosa e acumular-se nas células epiteliais. No interior da mucosa ocorre a mudança do pH ácido para o pH neutro, com isso o fármaco se ioniza. A ionização possibilita ao mesmo se acumular no interior das células epiteliais, ocasionando danos. Mesmo a administração intravenosa e intramuscular dos AINEs pode provocar úlceras duodenais ou gástricas, por isso considera-se que o dano tópico causado por eles, não explica por si só, a formação das úlceras. (Fiorucci *et al.*, 2001).

A responsável pela produção das PGs é a COX-1 gástrica, sendo a atividade sistêmica compreendida pela sua inibição. As PGs sob condições fisiológicas padrão, promovem a inibição da secreção ácida estomacal. Consequentemente, o fluxo sanguíneo na mucosa gástrica é aumentado e ocorre a síntese da secreção do muco gástrico protetor. Por isso, a inibição da sua síntese deixa o estômago mais vulnerável a danos diversos. Compreende-se, entretanto, que a deficiência nestas enzimas, não se correlaciona, exclusivamente, aos efeitos adversos causados pelos AINEs. Salienta-se ainda que os fármacos COX-2 seletivos apresentam uma baixa ação danosa, sugerindo dessa forma que exista um mecanismo independente da inibição da COX, como por exemplo, a inferência da liberação do fator de necrose tumoral alfa, que tem a capacidade de induzir a apoptose, de digerir células da membrana gástrica, dentre outros (Fiorucci *et al.*, 2001; Mizushima, 2010).

2.8 Composto 5-cloro-2-(2,4-diclorofenoxi) fenil propanoato de 2-(3benzil fenila)

A Sociedade Brasileira de Química (SBQ) define a Química Medicinal (QM) como sendo aquela que envolve a síntese ou isolamento de compostos químicos e seus efeitos benéficos ou adversos sobre os seres vivos (Lima, 2007). Tendo como propósitos a elucidação, a nível molecular, do mecanismo de ação, do entendimento de mecanismos toxicológicos, farmacocinéticos e bioquímicos e do estabelecimento da conexão entre atividade biológica e estrutura química. Ressaltam-se além destes, a relação entre os variados complexos biológicos/biofases e o planejamento, a identificação, a invenção, a preparação e a descoberta de compostos com atividades biológicas (Amaral, 2002; Montanari, 2000).

Um dos desenvolvimentos mais significativos na QM nos últimos anos foi o *design* e a síntese de compostos híbridos, moléculas que abrangem em um único arcabouço dois farmacóforos de entidades conhecidas dotadas de atividades biológicas bem estabelecidas (Barreiro *et al.*, 2002).

A abordagem de hibridização molecular (HM) é uma ferramenta de QM poderosa para projetar ligantes e protótipos promovendo um efeito benéfico ao tratamento de doenças multifatoriais (Barbosa, 2009). Como dito anteriormente, uma proposta categórica de se construir novos protótipos a partir de estruturas moleculares é a HM. Conceituando-se como um método tradicional de junção entre estruturas moleculares para formação de novos compostos protótipos (Barreiro, 2008). A HM pode ser de dois tipos: HM do tipo droga-droga, que é aquela formada pela convergência de duas drogas diferentes ou HM do tipo farmacofórica, que é aquela formada pela convergência de grupos farmacofóricos de fármacos diferentes. Nas duas ocorrências a HM forma uma nova molécula, e esta é denominada de híbrido. Na maioria das vezes o híbrido, contrapõe as moléculas que o formaram, com uma maior eficácia e afinidade (Nepali *et al.*, 2014).

Promove-se a HM com a finalidade de se obter um dentre variados alvos como o sinergismo de ação farmacológica, terapia de dupla ação farmacológica ou modulação de efeitos secundários indesejáveis. Une-se fármacos inteiros de forma covalente ou une-se tão somente os grupos farmacofóricos (Nepali *et al.*, 2014). Um exemplo de sucesso dessa estratégia foi a descoberta da molécula candidata a fármaco benorilato (4-acetamidofenil 2-acetoxibenzoato), que tem sido usado como anti-inflamatório e antipirético. Esta molécula híbrida foi preparada por esterificação de ácido acetilsalicílico e paracetamol. Tem uma duração de ação mais longa do que o ácido acetilsalicílico e só precisa ser ingerido duas vezes ao dia.

Além disso, tem menos efeitos adversos do que o ácido acetilsalicílico, incluindo menor irritação gástrica e sangramento (Korolkovas, 1988; Ázara, 2013).

Visando a importância deste assunto, o grupo do Prof Dr Saulo Luís Capim, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano promoveu a hibridização molecular das moléculas de triclosan e cetoprofeno obtendo o composto 5-cloro-2-(2,4-diclorofenoxi) fenil propanoato de 2-(3benzil fenila), denominado por JO-04 (Figura 24).

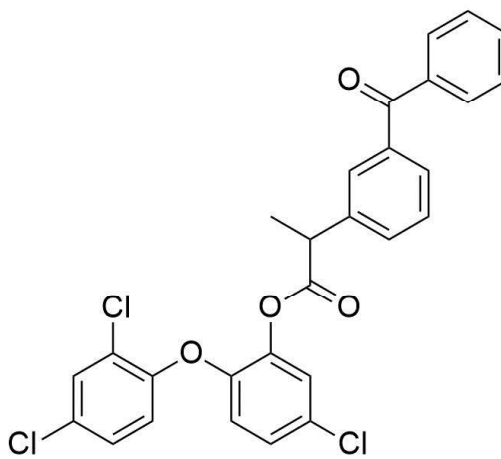


Figura 24 - Estrutura do composto 5-cloro-2-(2,4-diclorofenoxi) fenil propanoato de 2-(3benzil fenila).
(Fonte: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano Prof Dr Saulo Luís Capim).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

- Investigar o potencial antinociceptivo e anti-inflamatório da molécula híbrida 5-cloro-2-(2,4-diclorofenoxi) fenil propanoato de 2-(3benzil fenila), formada pela hibridização molecular do triclosan e cetoprofeno.

3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a ação antinociceptiva do composto sob condições de dor aguda induzida quimicamente e termicamente;
- Elucidar os mecanismos responsáveis pela sua atividade antinociceptiva através do uso de antagonistas e inibidores específicos;
- Avaliar a possibilidade de interferência da performance motora sobre o efeito antinociceptivo;
- Avaliar a atividade anti-inflamatória do composto *in vivo* e *in vitro*;
- Avaliar a toxicidade aguda do composto

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Animais

Nos experimentos *in vivo* foram utilizados camundongos (*Mus musculus*) da linhagem Swiss, machos, albinos com peso entre 20 e 25 g, com aproximadamente três meses de idade, provenientes do Biotério do Departamento de Ciências Fisiológicas/ Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde (ICBS) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Os animais foram mantidos em gaiolas de polietileno, sob condições monitoradas de temperatura (21 ± 2 °C), com livre acesso a uma dieta à base de ração tipo pellets (Purina®) e água, disponível em garrafas de polietileno com bicos de inox. Os animais foram mantidos em ciclo claro/escuro de 12 horas, sendo a fase clara de 6h00 às 18h00. Oito horas antes dos experimentos, os animais receberam apenas água para eliminar a possibilidade de interferência da ração sobre o processo de absorção dos compostos.

Os protocolos experimentais de utilização de animais deste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética para Uso de Animais da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEUA–UFRRJ), sob o nº 07/2018.

4.2 Tratamentos

- Solução salina: Solução NaCl 0,9%. A solução foi administrada aos animais pertencentes ao grupo controle.
- Veículo: solução salina com DMSO, na concentração de 5% (v/v), para a solubilização do composto. Os grupos de animais tratados com veículo foram feitos para demonstrar que este não interfere na atividade antinociceptiva e/ou anti-inflamatória.
- Composto 5-cloro-2-(2,4-diclorofenoxi) fenil propanoato de 2-(3benzil fenila) - JO-04. Administrado por via oral (v.o) nas doses de 1, 5, 10, 30, 50 e 300 mg/kg.
- Cetoprofeno: anti-inflamatório não esteroidal, uma das moléculas que originaram o JO-04. Administrado por via oral (v.o) nas doses de 1, 5, 10, 30 e 50 mg/kg.
- Tampão fosfato salina: composto orgânico formado por: NaCl (130 mM), Na₂PO₄ (5 mM), KH₂PO₄ (1 mM) e heparina (20 UI/mL), em água destilada, com pH 7,6. Utilizado para lavar a cavidade subcutânea no modelo de bolsa de ar subcutâneo (air pouch).
- Triclosan: uma das molécula que originaram o JO-04. Administrado por via oral (v.o) nas doses de 1, 5, 10, 30, 50 e 100 mg/kg.
- Dexametasona: anti-inflamatório esteroidal. Utilizado como controle positivo nos modelos de edema de pata e bolsa de ar subcutânea. Administrado por via subcutânea (s.c.) na dose de 2,25 mg/kg (Santos *et al.*, 2015).
- Prometazina: Antagonista seletivo H₁. Utilizado como controle positivo no modelo de edema de pata induzido por histamina. Administrado por via subcutânea (s.c.) na dose de 5 mg/kg (Esmaili *et al.*, 2021).
- Ácido acetilsalicílico: anti-inflamatório não esteroidal. Utilizado como controle positivo no modelo de formalina. Administrado por via oral (v.o) na dose de 100mg/kg (Gonçalves *et al.*, 2016).
- Morfina: agonista não-seletivo de receptores opioides. Utilizada como controle positivo em modelos nociceptivos com envolvimento do sistema nervoso central. Administrado por via oral (v.o) na dose de 5,01 mg/kg no modelo de contorções abdominais induzidas por ácido acético e formalina, e na dose de 8,15 mg/kg no modelo de imersão da cauda em água quente (Marinho *et al.*, 2011).
- Diazepam: agonista benzodiazepínico. Utilizado como controle positivo no modelo de campo aberto na dose de 3 mg/kg por via subcutânea. (Jones *et al.*, 2021)

4.3 Agentes Químicos

- Ácido acético: foi preparado na concentração de 0,8% (v/v) em solução salina e injetado por via intraperitoneal (i.p), 60 minutos após a administração oral dos tratamentos no modelo de contorções abdominais.
- Formalina: foi preparada na concentração de 2,5% (v/v) em solução salina e injetada em uma das patas traseiras dos animais, 60 minutos após a administração oral dos tratamentos no modelo de formalina.
- Carragenina: a carragenina foi preparada na concentração de 10 mg/ml. Administrada em volume de 0,1 mL, 60 minutos após a administração oral dos tratamentos no modelo de edema de pata e de bolsa de ar subcutâneo. No modelo de edema de pata a carragenina foi administrada em uma das patas traseiras dos animais e no modelo de bolsa de ar subcutâneo foi administrada na bolha subcutânea.
- Serotonina: utilizada para induzir edema no modelo do edema de pata. Administrada no volume de 0,02 mL por via intraplantar na pata traseira (100 µg/pata) direita 60 minutos após a administração oral dos tratamentos no modelo de edema de pata (Conceição *et al.*, 2022).
- Histamina: utilizada para induzir edema no modelo do edema de pata. Administrada no volume de 0,02 mL por via intraplantar na pata traseira direita 60 minutos após a administração oral dos tratamentos no modelo de edema de pata (100 ηmol/pata) (Conceição *et al.*, 2021).
- Bradicinina: utilizada para induzir edema no modelo do edema de pata. Administrada no volume de 0,02 mL por via intraplantar na pata traseira direita 60 minutos após a administração oral dos tratamentos no modelo de edema de pata (1,2 ηmol/pata) (Ueno *et al.*, 2000).
- Naloxona: antagonista não-seletivo opioide. Administrado por via intraperitoneal (i.p) na dose de 5 mg/kg no modelo de imersão de cauda em água quente (Stefano *et al.*, 2017).
- N-nitro-arginina-L-metil éster (L-NAME): inibidor não-seletivo da óxido nítrico sintase. Administrado por via intraperitoneal (i.p) na dose de 5 mg/kg no modelo de imersão da cauda em água quente (Gonçalves *et al.*, 2016).
- L-arginina: Precursor do óxido nítrico. Administrado por via intraperitoneal (i.p) na dose de 3 mg/kg no modelo de imersão da cauda em água quente (Marinho *et al.*, 2013).

- Atropina: antagonista não-seletivo de receptor muscarínico colinérgico. Administrado por via intraperitoneal (i.p) na dose de 3 mg/kg no modelo de imersão da cauda em água quente (Rosas-Ballina *et al.*, 2011).
- Glibenclamida: bloqueador de canal de potássio sensível a ATP. Administrado por via intraperitoneal (i.p) na dose 3mg/kg no modelo de imersão da cauda em água quente.
- Ondansetrona: antagonista seletivo de receptor serotoninérgico do tipo 5-HT₃. Administrado por via intraperitoneal (i.p) na dose de 0,5 mg/kg no modelo de imersão da cauda em água quente (Rosas-Ballina *et al.*, 2011).
- Mecamilamina: antagonista não-seletivo de receptor colinérgico nicotínico. Administrado por via intraperitoneal (i.p) na dose de 1,5 mg/kg no modelo de imersão da cauda em água quente (Rosas-Ballina *et al.*, 2011).
- 1H-[1,2,4] Oxadiazol[4,3-a]quinoxalina-1-ona (ODQ): inibidor seletivo da guanilato ciclase sensível ao óxido nítrico. Administrado previamente por via intraperitoneal (i.p.) nas doses de 0,5mg/kg no modelo de imersão da cauda em água quente (Rosas-Ballina *et al.*, 2011).
- Ioimbina: antagonista adrenérgico α_2 . Administrada previamente por via intraperitoneal (i.p.) na dose de 0,15 mg/kg no modelo de imersão da cauda em água quente (Mwobobia *et al.*, 2021).
- Pentobarbital: barbitúrico. Administrado por via intraperitoneal (i.p) na dose de 80 mg/kg (sobre dose) no modelo de bolsa de ar subcutâneo para eutanásia dos animais (Laferriere *et al.*, 2020).

4.4 Modelos de Avaliação da Atividade Antinociceptiva

4.4.1 Modelo de contorções abdominais induzidas por ácido acético

O teste de contorção é um modelo utilizado para a triagem da atividade antinociceptiva (Koster *et al.*, 1959). Para a realização deste, foi feita a administração intraperitoneal (i.p.) de 0,01 ml/g de peso do animal, de solução de ácido acético na concentração de 0,8% (v/v), 60 minutos após a administração por via oral de solução salina, veículo, morfina e o composto JO-04. Imediatamente após a administração de ácido acético, os animais foram colocados em uma caixa de vidro, para que fossem contados os números de contorções dentro de um período de 30 minutos. O padrão de contorção abdominal estabelecido para contagem é o aparecimento de fortes contrações abdominais, alongamento de todo o corpo do animal, seguido pelo alongamento dos membros posteriores e contato do abdômen com o assoalho do recipiente em que o animal se encontra. A resposta nociceptiva é aferida a partir do total de contorções contadas nesse período de tempo.

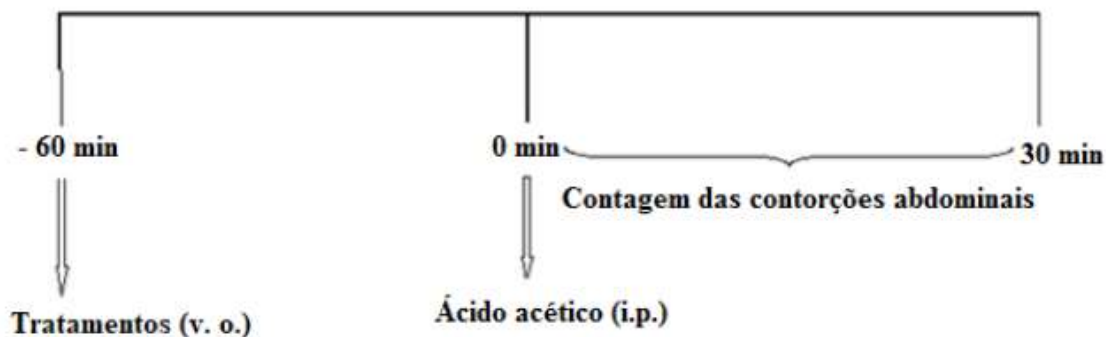


Figura 25 - Protocolo experimental do modelo de contorção abdominal induzido por ácido acético.

Fonte: GONÇALVES, G. M. Avaliação farmacológica das atividades antinociceptiva e anti-inflamatória do composto (\pm) - (2,4,6-cis) - 4- cloro -6- (Naftaleno-1-il) -tetrahidro- 2H- pirano- 2 -il metanol. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, p. 60. 2016.

4.4.2 Modelo da formalina

Este modelo é utilizado para avaliação da dor inflamatória e não-inflamatória (Hunskar e Hole, 1987). Solução salina, veículo, morfina, ácido acetilsalicílico e o composto JO-04 foram administrados por via oral. Injeta-se, sob a pele da superfície plantar de uma das patas traseiras, 0,02 ml de uma solução de formalina a 2,5%. Posteriormente, foi medido o tempo (em segundos) que o animal permaneceu lambendo a pata em que foi administrada a solução. A

medida do tempo foi feita em duas fases: a primeira chamada neurogênica, entre 0 e 5 minutos após a injeção da formalina, e a segunda fase chamada inflamatória, entre 15 e 30 minutos após a injeção.

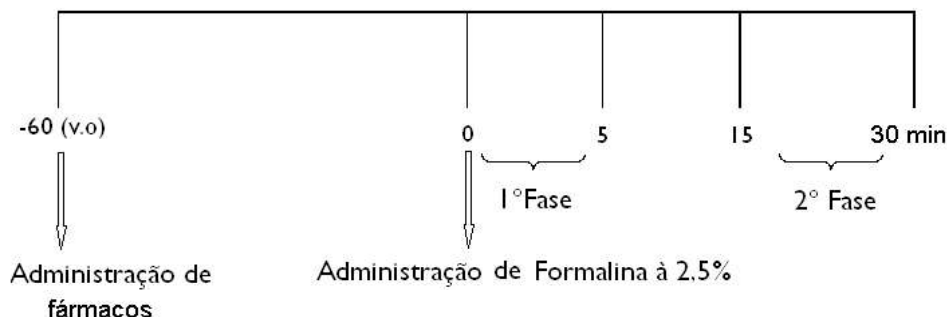


Figura 26 - Protocolo experimental do modelo de formalina.

Fonte: GONÇALVES, G, M. *Avaliação farmacológica das atividades antinociceptiva e anti-inflamatória do composto (±) - (2,4,6-cis) - 4- cloro -6- (Naftaleno-1-il) -tetrahydro- 2H- pirano- 2 -il metanol*. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, p. 60. 2016.

4.4.3 Modelo de imersão da cauda em água quente

Este modelo é utilizado para avaliação da atividade antinociceptiva não inflamatória (Ben-Bassat *et al.*, 1959). Os animais foram tratados com solução salina, veículo, morfina e o composto JO-04 por via oral. Neste modelo, o animal foi imobilizado dentro de um recipiente cilíndrico e a cauda foi imersa (aproximadamente 2 cm) em banho-maria com água aquecida a uma temperatura de $50 \pm 1^\circ\text{C}$. Mediu-se o tempo (em segundos) em que o animal demorou a retirar a cauda de dentro da água, tempo este chamado de “tempo de latência”. Foram feitas oito medidas dos tempos de latência com intervalos de 20 minutos entre cada uma delas. As primeiras duas medidas foram realizadas antes da administração dos fármacos (e foram chamadas de medidas controle). A média das medidas controle foi denominada “linha de base”. Para se evitar danos teciduais causados pela temperatura na cauda dos animais, calculamos um “cut-off” de 3 vezes o valor da linha de base. O resultado foi expresso como tempo de reatividade em segundos.

Na tentativa de elucidação do mecanismo de ação do composto JO-04, grupos experimentais receberam antagonistas (atropina, naloxona, ioimbina, mecamilamina, ondansetrona, glibenclamida), inibidores (L-NAME, ODQ) e precursor (L-Arginina), por via intraperitoneal, 15 minutos antes da administração oral do composto.

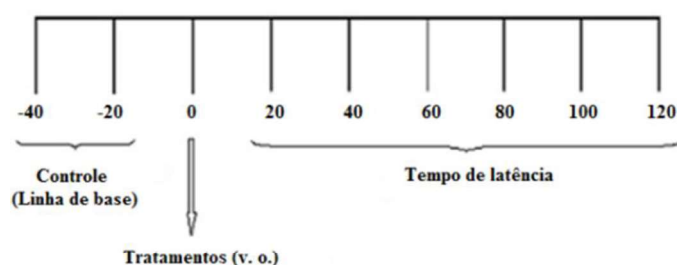


Figura 27 - Protocolo experimental do modelo de imersão da cauda em água quente.

Fonte: GONÇALVES, G. M. Avaliação farmacológica das atividades antinociceptiva e anti-inflamatória do composto (\pm) - (2,4,6-cis) - 4- cloro -6- (Naftaleno-1-il) -tetrahydro- 2H- pirano- 2 -il metanol. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, p. 60. 2016.

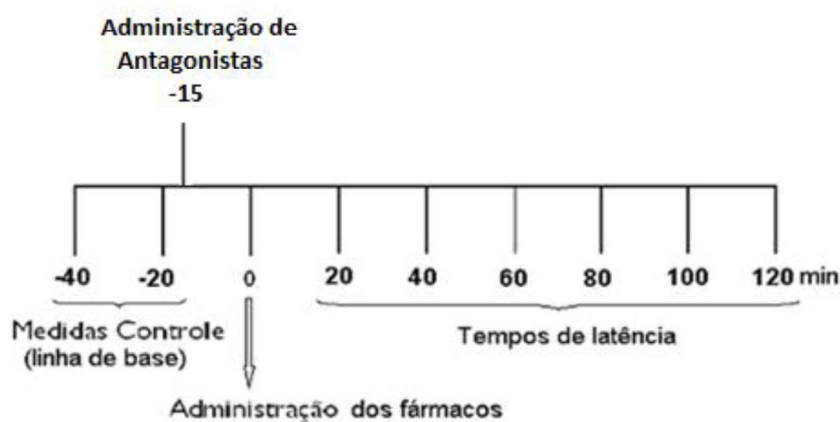


Figura 28 - Protocolo experimental do modelo de imersão da cauda em água quente com administração prévia de antagonistas e inibidores.

Fonte: GONÇALVES, G. M. Avaliação farmacológica das atividades antinociceptiva e anti-inflamatória do composto (\pm) - (2,4,6-cis) - 4- cloro -6- (Naftaleno-1-il) -tetrahydro- 2H- pirano- 2 -il metanol. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, p. 60. 2016

4.4.4. Modelo de campo aberto

Para avaliar a interferência sobre a mobilidade dos animais após o tratamento com o composto JO-04, os animais foram submetidos ao modelo do campo aberto. Neste modelo, 5 dias antes do início do experimento os animais foram treinados na arena em que é realizada o experimento. O procedimento foi similar ao descrito por Barros *et al*, 1991.

Os camundongos receberam solução salina, veículo, diazepam e o composto JO-04 por via oral e foram colocados individualmente na arena (60 minutos após administração oral), cujo assoalho foi dividido em quadrados (5 x 5 cm). A atividade espontânea foi quantificada pelo número de quadrados percorridos durante o intervalo de 5 minutos.

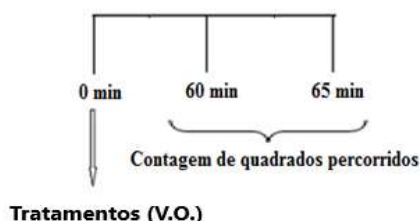


Figura 29 - Protocolo experimental do modelo de campo aberto.

Fonte: GONÇALVES, G. M. Avaliação farmacológica das atividades antinociceptiva e anti-inflamatória do composto (\pm) - (2,4,6-cis) - 4- cloro -6- (Naftaleno-1-il) -tetrahidro- 2H- pirano- 2 -il metanol. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, p.60. 2016.

4.5 Modelos de Avaliação da Atividade Anti-inflamatória

4.5.1 Modelo de edema de pata

Este modelo de avaliação edematogênica utiliza a técnica de pletismografia (Ferreira, 1979), que consiste na utilização do pletismômetro, um equipamento capaz de registrar pequenas variações no volume de líquido deslocado pela inserção da pata, até a articulação tíbio-társica. Solução salina, veículo e o composto JO-04 foram administrados por via oral, e a dexametasona foi administrada por via subcutânea. Sessenta minutos após a administração do fármaco e das substâncias, o edema foi induzido pela injeção intraplantar de 0,1 mL de carragenina (1%, p/v) na pata traseira esquerda do animal. Na pata traseira direita foi injetado o mesmo volume de solução salina. O edema foi avaliado pela diferença de volume entre as duas patas aferidas, nos tempos de 1, 2, 3 e 4 horas após a injeção da carragenina. Na administração de histamina, bradicinina e serotonina o edema foi avaliado 1 hora após a administração de ambas.

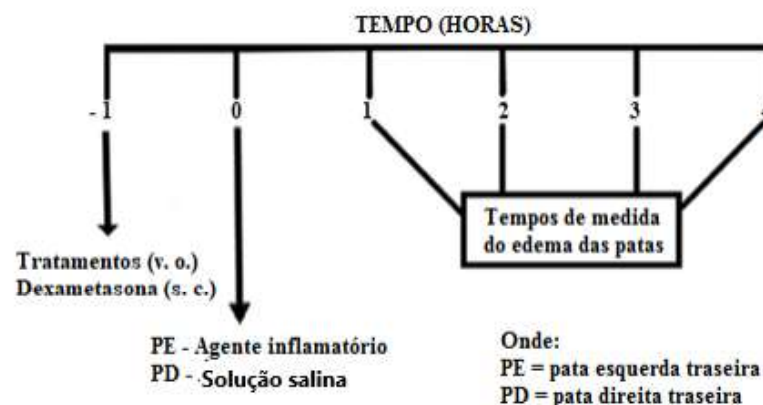


Figura 30 - Protocolo experimental do modelo de edema de pata induzido por carragenina.

Fonte: GONÇALVES, G. M. Avaliação farmacológica das atividades antinociceptiva e anti-inflamatória do composto (\pm) - (2,4,6-cis) - 4- cloro -6- (Naftaleno-1-il) -tetrahydro- 2H- pirano- 2 -il metanol. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, p.60. 2016.

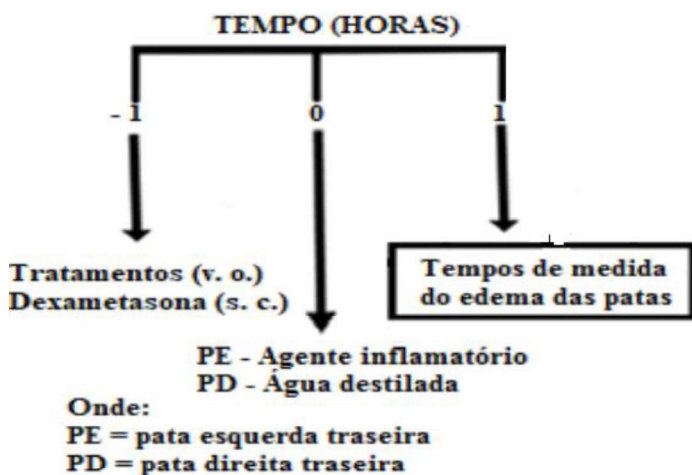


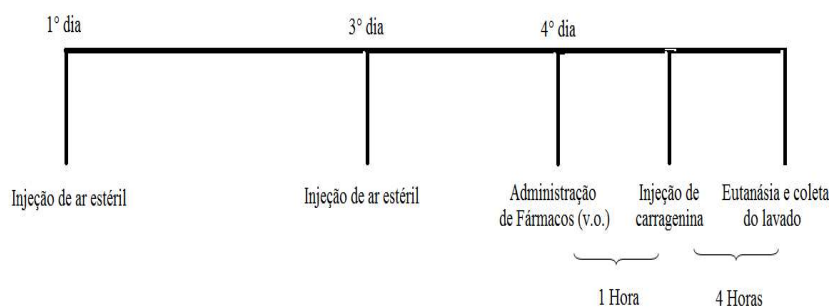
Figura 31 - Protocolo experimental do modelo de edema de pata induzido por histamina, serotonina e bradicinina.

Fonte: GONÇALVES, G. M. Avaliação farmacológica das atividades antinociceptiva e anti-inflamatória do composto (\pm) - (2,4,6-cis) - 4- cloro -6- (Naftaleno-1-il) -tetrahydro- 2H- pirano- 2 -il metanol. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, p. 60. 2016.

4.5.2 Modelo da bolsa de ar subcutâneo (air pouch)

Solução salina, veículo e o composto JO-04 foram administrados por via oral, e a dexametasona foi administrada por via subcutânea. Uma área do dorso dos animais (3cm x 2,5

Os animais foram então fixados em uma mesa cirúrgica e uma incisão na pele foi feita para perfurar a bolsa de ar. A cavidade subcutânea foi lavada com 1 ml de tampão fosfato salina estéril (pH 7,6 contendo NaCl (130 mM), Na₂PO₄ (5 mM) e KH₂PO₄ (1 mM) e heparina (20 UI/mL) em água destilada, sendo as amostras de lavado subcutâneo coletadas.



Fonte: GONÇALVES, G. M. **Avaliação farmacológica das atividades antinociceptiva e anti-inflamatória do composto (\pm) - (2,4,6-cis) - 4- cloro -6- (Naftaleno-1-il) -tetrahidro- 2H- pirano- 2 -il metanol.** Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, p. 60. 2016.

Uma alíquota de 20µL do lavado subcutâneo, obtida a partir do modelo de bolsa de ar subcutânea estéril, de cada animal foi coletada e transferida para um Eppendorf® contendo 380µL de líquido de Türk (utilizado para coloração de leucócitos) e, em seguida, foi feita a contagem das células em câmara de Neubauer, sob microscopia óptica.

Objetivando quantificar as citocinas IL-1 β , TNF- α e IL-6 presentes nos exsudatos, estes foram centrifugados a 170 x g por 10 min à 4° C, os sobrenadantes foram coletados 4 horas após a realização do modelo de bolsa de ar subcutâneo. Se procedeu então a determinação da concentração destas citocinas em alíquotas (50 μ L) do lavado subcutâneo. Para isto, foram

utilizados kit's de imunoenensaio enzimático (ELISA Kit Mouse, Cayman Chemical®), os quais mensuraram as concentrações de IL-1 β , TNF- α e IL-6 na amostra através do método de ELISA, semelhante ao estudo de Raman *et al.*, 2007.

4.6 Avaliação toxicológica aguda

Para avaliação toxicológica aguda foi calculado o DL 50. Assim, uma dose única do composto JO-04 (300 mg/kg) foi administrada e os animais foram colocados em câmara de observação. A dose foi estabelecida com base nas diretrizes da Organização de Cooperação e Desenvolvimento Econômico para testes de produtos químicos (OCDE, 2001).

4.7 Análise estatística

Todos os grupos experimentais foram constituídos de 6 animais. Os resultados estão expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). A significância estatística entre os grupos foi realizada pela aplicação de análise de variância (ANOVA) de uma via seguida pelo teste de Bonferroni para os modelos de contorções abdominais induzidas por ácido acético, formalina, quantificação de leucócitos e citocinas, campo aberto e de ANOVA de duas vias acompanhada pelo teste de Bonferroni para os modelos de imersão de cauda em água quente e edema de pata. Os valores de *p* menores que 0,05; 0,01 e 0,001 foram considerados estatisticamente significantes.

5 RESULTADOS

5.1 Modelo de contorções abdominais induzidos por ácido acético

A administração intraperitoneal (i.p.) de ácido acético (0,8%) produziu em um intervalo de 30 minutos $72,2 \pm 7,3$ contorções (no grupo controle) (Tabela 5). A administração oral do JO-04 nas doses de 5 e 10 mg/kg e morfina (3 mg/kg) foi capaz de inibir o número de contorções abdominais em relação ao grupo experimental controle, indicando atividade antinociceptiva deste composto, como pode ser observado na Figura 33. Os percentuais de inibição do número de contorções abdominais obtidos foram: 38% e 80,9%, respectivamente para as doses de 5 e 10 mg/kg. A administração oral de morfina inibiu o número de contorções abdominais em 55% quando comparada ao grupo controle. Logo, é possível inferir que o composto JO-04 apresenta

efeito antinociceptivo dose-dependente, assim como o demonstrado pela morfina, um analgésico opioide reconhecido por sua atividade analgésica.

Através da curva Log dose-resposta do composto JO-04 e de suas moléculas originais triclosan e cetoprofeno, foi calculado a DI_{50} , onde pode se observar que o composto JO-04 apresentou DI_{50} (1,695 mg/kg) superior ao de suas moléculas originais, evidenciando uma perda de potência em relação a sua atividade antinociceptiva no modelo de contorções abdominais induzidos por ácido acético (Figura 34).

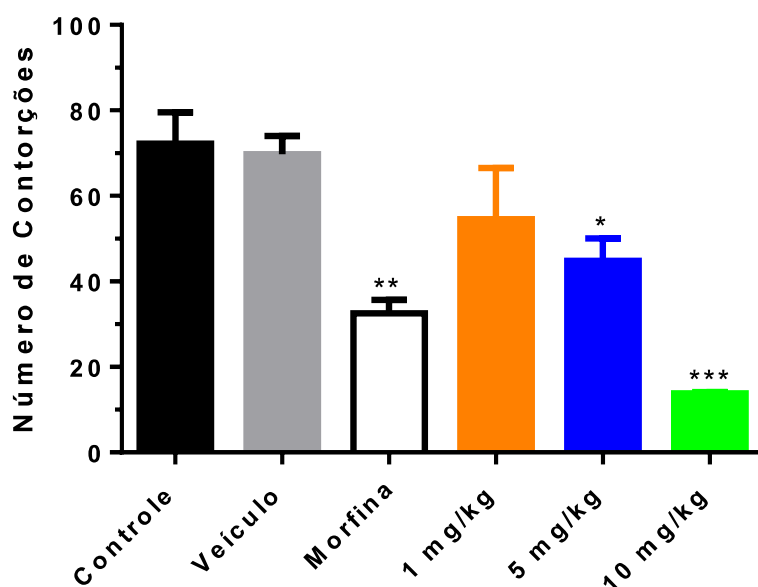


Figura 33 - Efeito antinociceptivo do composto JO-04 no modelo de contorções abdominais. A significância estatística (** $p < 0,01$) e (***) $p < 0,001$) foi por ANOVA acompanhado pelo teste de Bonferroni calculada entre o grupo controle e os grupos tratados com veículo, morfina (3 mg/kg) e o composto (1, 5 e 10 mg/kg).

Tabela 5 - Modelo de contorções abdominais induzidas por ácido acético

Tratamentos	Número de contorções (Média \pm EPM)	Inibição (%)
Controle	72,2 \pm 7,3	---
Veículo	69,8 \pm 4,2	3,3%
Morfina	32,5 \pm 3,2**	55,0%

JO04 1 mg/kg	54,5 ± 12,0	24,5%
JO04 5 mg/kg	44,8 ± 5,2*	38,0%
JO04 10 mg/kg	13,8 ± 0,3***	80,9%

*p < 0,05; **p < 0,01 e ***p < 0,001 entre o grupo controle e os grupos tratados com veículo, morfina e doses crescentes do composto, por One-Way ANOVA acompanhado pelo teste de Bonferroni.

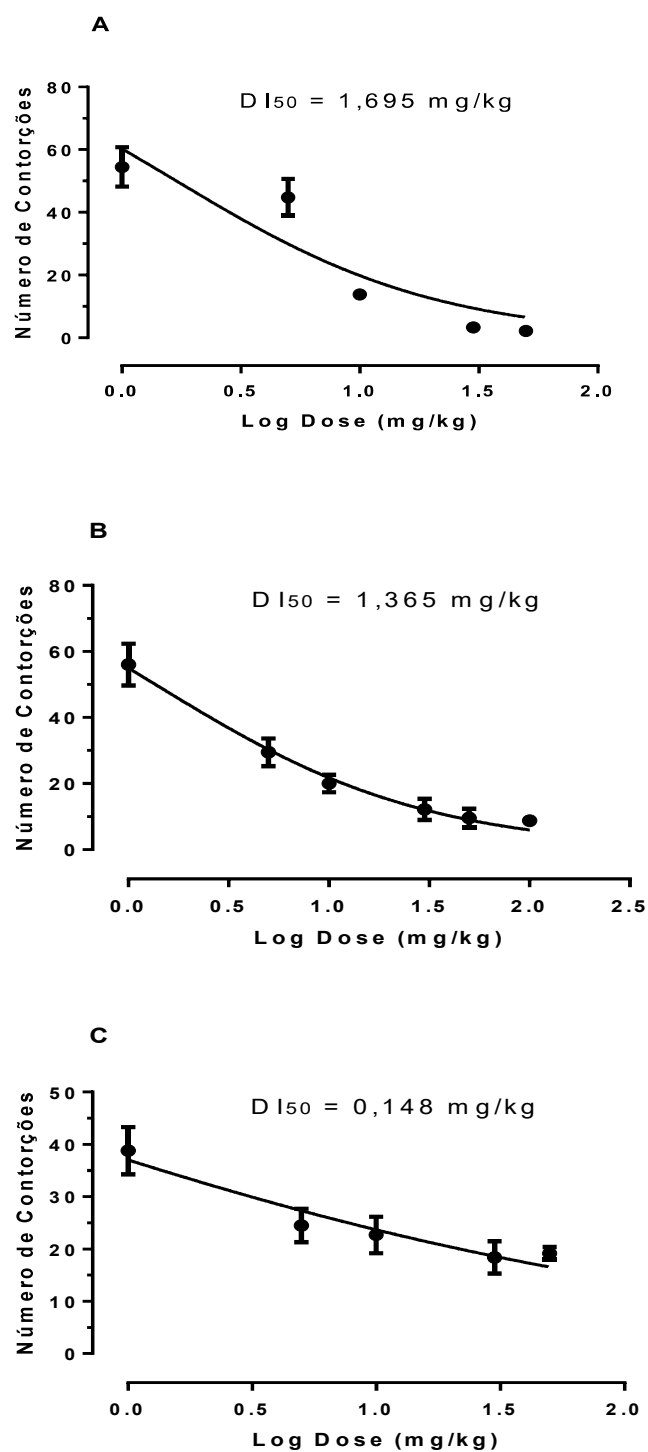


Figura 34 - Curvas Log dose-resposta do composto JO-04 (A) e suas moléculas originais triclosan (B) e cetoprofeno (C) no modelo de contorções abdominais induzidas por ácido acético. A DI50 foi calculada através do método de regressão não-linear.

5.2 Modelo da formalina

Os animais foram tratados com JO-04 nas doses de 1, 5 e 10 mg/kg. Como controle positivo foi utilizado a morfina (3mg/kg) e AAS (100 mg/kg). O grupo controle apresentou na 1º fase o tempo de lambertura de $76,4 \pm 26,5$ segundos e na 2º fase foi de $180,1 \pm 10,1$ segundos (Tabela 6). A morfina apresentou percentual de inibição de 47,4% em relação ao tempo de lambertura na 1º fase e de 59,9% na 2º fase. Já o AAS apresentou uma inibição de 52,6%, somente na segunda fase. O tratamento com JO-04 reduziu o tempo em que os animais permaneceram lambendo as patas após a injeção de formalina nas duas fases. Na 1º fase, o efeito inibitório somente foi observado nas doses de 5 e 10 mg/kg, diminuindo 27,1% e 31,7%, respectivamente. Na 2º fase, o efeito inibitório também só foi observado das doses de 5 e 10 mg/kg, obtendo uma redução de 22% e 15%, respectivamente. Os resultados estão apresentados na Figura 35 e na Tabela 6.

Ressalta-se que o composto JO-04 apresentou atividade antinociceptiva nas duas fases, porém na primeira fase, nas doses 5 e 10 mg/kg, a redução do tempo de lambertura, foi mais significativa do que na segunda fase. Portanto, o composto JO-04 por meio da sua habilidade de diminuir o tempo de lambertura quando comparado ao grupo controle, demonstrou atividade antinociceptiva, nas 2 fases, demonstrando ação neurogênica, podendo haver ação sobre os componentes inflamatórios da dor.

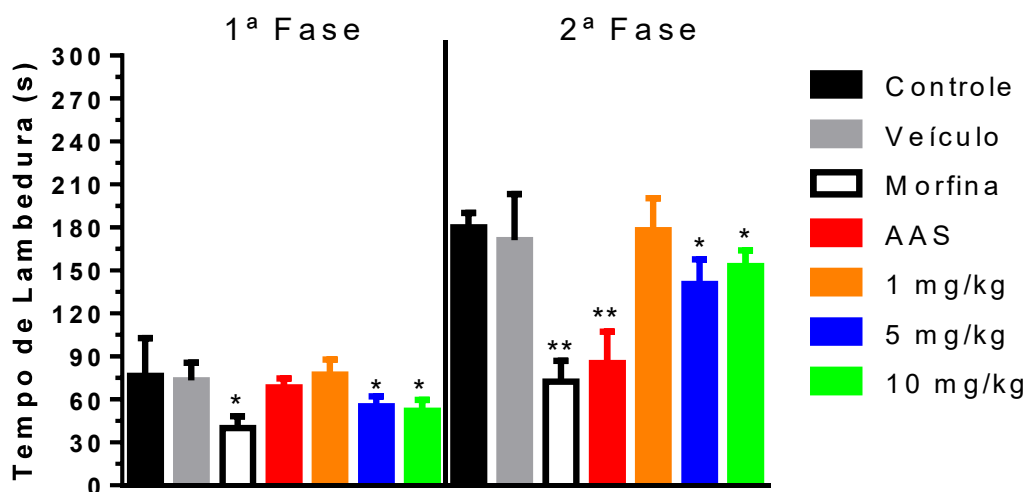


Figura 35 - Efeito antinociceptivo do composto JO-04 no modelo de formalina. A significância estatística (* $p < 0,05$) e (** $p < 0,01$) foi calculada por ANOVA acompanhado pelo teste de Bonferroni entre o grupo controle e os grupos tratados com veículo, morfina (3 mg/kg), ácido acetilsalicílico (AAS – 100 mg/kg) e o composto JO-04 (1, 5 e 10 mg/kg).

Tabela 6 - Tempos de lambedura, em segundos, no modelo de formalina.

Tratamentos	Tempo de Lambedura (segundos – Média \pm EPM)			
	1º Fase		2º Fase	
	Tempo (s)	%	Tempo (s)	%
Controle	76,4 \pm 26,5	---	180,1 \pm 10,1	---
Veículo	73,4 \pm 12,3	---	171,2 \pm 32,1	---
Morfina	40,2 \pm 8,2*	47,4	72,3 \pm 14,5**	59,9
Ácido acetilsalicílico	68,3 \pm 6,3	10,6	85,3 \pm 22,1**	52,6
JO04 1 mg/kg	77,4 \pm 10,5	1,3	178,2 \pm 22,1	1,0
JO04 5 mg/kg	55,7 \pm 7,1*	27,1	140,5 \pm 17,4*	22,0
JO04 10 mg/kg	52,2 \pm 7,3*	31,7	153,0 \pm 11,2*	15,0

* $p < 0,05$ e $p < 0,01$ entre o grupo controle e os grupos tratados com veículo, morfina, ácido acetilsalicílico e doses crescentes do composto, por One-Way ANOVA acompanhado pelo teste de Bonferroni.

5.3 Modelo de imersão de cauda em água quente

O teste de imersão de cauda foi realizado para comprovar o efeito antinociceptivo neurogênico do composto JO-04 em modelo envolvendo arco reflexo espinal. O composto JO-04 nas maiores doses (5 e 10 mg/kg), induziu aumento no tempo de latência a partir de 60 minutos, enquanto a morfina apresentou efeito mais tardio, iniciando no tempo de 80 minutos após a sua administração (Figura 36 A) (Tabela 7). O composto na dose de 10 mg/kg produziu um aumento no tempo de latência máximo de 91% no tempo de 80 minutos, enquanto a morfina

apresentou 52% no tempo de 100 minutos. No cálculo da área sob a curva observou-se diferença significativa nos grupos tratados com o composto nas doses de 5 e 10 mg/kg e morfina, em relação ao grupo controle (Figura 36 B).

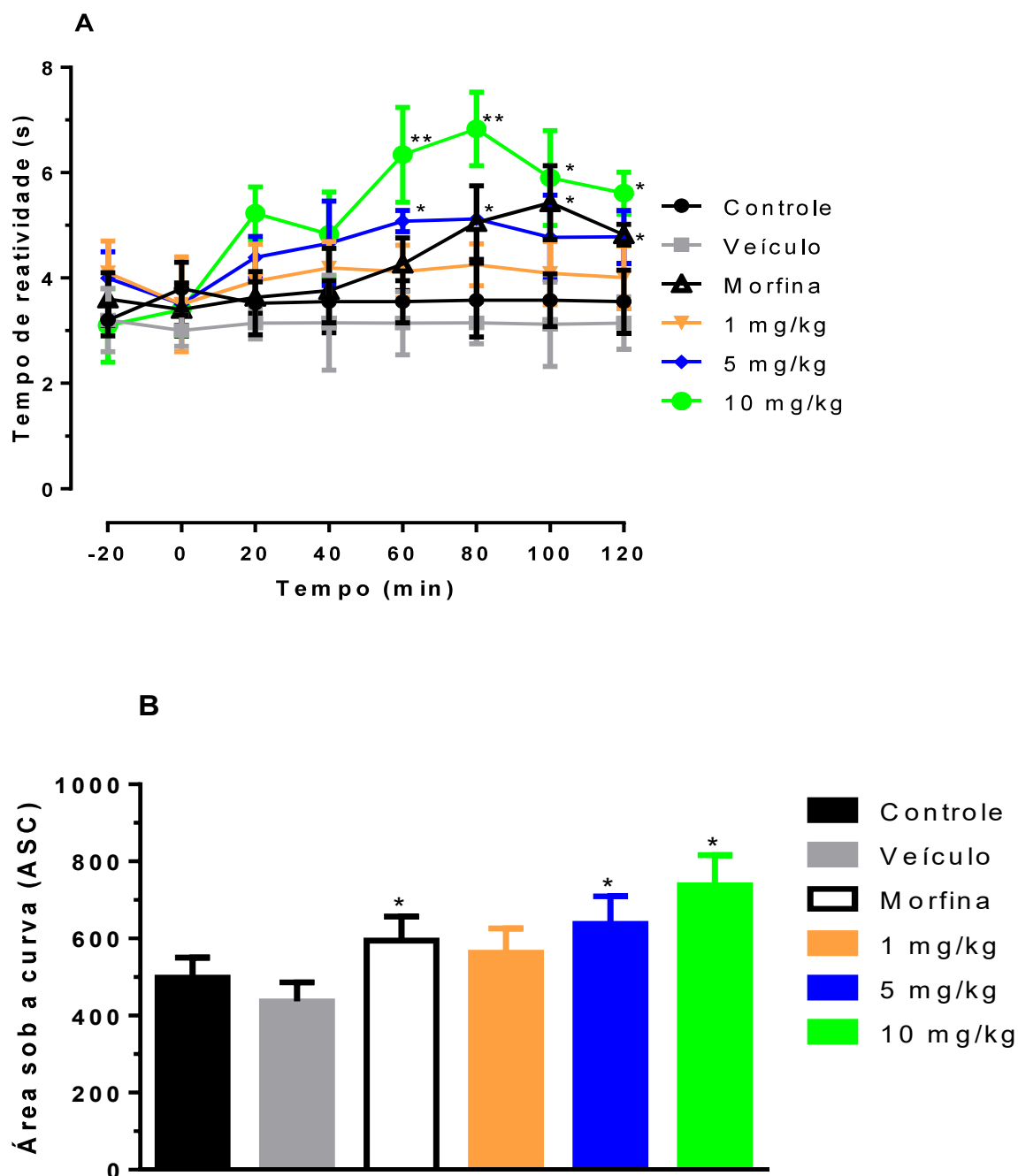


Figura 36 - Efeito antinociceptivo do composto JO-04 no modelo de imersão da cauda (A) e representação do cálculo da área sob a curva (B). A significância estatística (* $p < 0,05$), (** $p < 0,01$) e (***) $p < 0,001$) foi

calculada por ANOVA acompanhado pelo teste de Bonferroni entre o grupo controle e os grupos tratados com veículo e o composto (1, 5 e 10 mg/kg).

Tabela 7 - Tempos de latência, em segundos, no modelo de retirada de cauda.

Tratamentos	Tempo de Latência (segundos – Média \pm EPM)						
	Linha de Base	20 min	40 min	60 min	80 min	100 min	120 min
Controle	3,60 \pm 0,4	3,52 \pm 0,6	3,55 \pm 0,4	3,55 \pm 0,4	3,58 \pm 0,7	3,58 \pm 0,5	3,55 \pm 0,6
Veículo	3,10 \pm 0,5	3,14 \pm 0,3	3,15 \pm 0,9	3,14 \pm 0,6	3,15 \pm 0,4	3,12 \pm 0,8	3,14 \pm 0,5
Morfina	3,50 \pm 0,5	3,63 \pm 0,3	3,76 \pm 0,8	4,26 \pm 0,5	5,05 \pm 0,7*	5,43 \pm 0,7*	4,82 \pm 0,2*
JO04 1 mg/kg	3,80 \pm 0,8	3,94 \pm 0,7	4,19 \pm 0,5	4,12 \pm 0,5	4,25 \pm 0,4	4,09 \pm 0,6	4,01 \pm 0,6
JO04 5 mg/kg	3,80 \pm 0,5	4,39 \pm 0,4	4,66 \pm 0,8	5,08 \pm 0,2*	5,12 \pm 0,1*	4,77 \pm 0,8*	4,78 \pm 0,5*
JO04 10 mg/kg	3,30 \pm 0,6	5,23 \pm 0,5	4,83 \pm 0,8	6,34 \pm 0,9**	6,83 \pm 0,7**	5,90 \pm 0,9*	5,61 \pm 0,4*

*p < 0,05 e ** p < 0,01 entre o grupo controle e os grupos tratados com veículo, morfina e doses crescentes do composto, por Two-Way ANOVA acompanhado pelo teste de Bonferroni.

5.3.1 Avaliação do sistema opioide sobre o efeito antinociceptivo do composto JO-04 no modelo de imersão de cauda em água quente.

Para avaliar a participação do sistema opioide sobre o efeito antinociceptivo do composto, foi administrado naloxona (5 mg/kg, i.p.; antagonista não seletivo de receptores opioide) previamente a administração de JO-04 na dose de 10 mg/kg. Como podemos observar na Figura 37 A e na Tabela 8, a naloxona não foi capaz de reduzir o efeito antinociceptivo do JO-04, demonstrando assim que a via opioide não está envolvida no mecanismo de ação do composto.

5.3.2 Avaliação do sistema nitrérgico sobre o efeito antinociceptivo do composto JO-04 no modelo de imersão de cauda em água quente.

Para avaliar a participação da via nitrérgica sobre o efeito antinociceptivo do composto, os animais foram pré-tratados com N-nitro-arginina-L-metil éster (L-NAME 5 mg/kg i.p.;

inibidor de óxido nítrico sintase), e depois com JO-04 na dose de 10 mg/kg, como demonstrado na Figura 37 A e na Tabela 8. Os resultados demonstram que a inibição na síntese de óxido nítrico foi capaz de interferir na atividade do composto, demonstrando assim o envolvimento da via nitrérgica no mecanismo de ação do composto.

5.3.3 Avaliação do sistema colinérgico muscarínico sobre o efeito antinociceptivo do composto JO-04 no modelo de imersão de cauda em água quente.

Para avaliar a participação do sistema colinérgico muscarínico sobre o efeito antinociceptivo do composto, foi administrado atropina (3 mg/kg, i.p.; antagonista de receptores muscarínicos) previamente a administração de JO-04 na dose de 10 mg/kg. Como podemos observar na Figura 37 A e C, e na Tabela 8, a atropina nos tempos de 60 e 80 minutos foi capaz de reduzir o efeito antinociceptivo do JO-04, demonstrando assim o envolvimento da via colinérgica no mecanismo de ação do composto.

5.3.4 Avaliação do sistema serotoninérgico, adrenérgico, canais de potássios regulados por ATP, nitrérgico via guanilato ciclase e colinérgico sobre o efeito antinociceptivo do composto JO-04 no modelo de imersão de cauda em água quente.

Para avaliar a participação do sistema serotoninérgico, adrenérgico, canais de potássios regulados por ATP, nitrérgico via guanilato ciclase e colinérgico sobre o efeito antinociceptivo do composto, foi administrado ondansetrona (0,5 mg/kg, i.p.; antagonista seletivo de receptores serotoninérgico do tipo 5-HT₃), ioimbina (0,15 mg/kg, i.p.; antagonista adrenérgico α -2), glibenclamida (3 mg/kg i.p.; bloqueador de canais de potássio sensíveis a ATP), ODQ (0,5 mg/kg, i.p.; inibidor seletivo da guanilato ciclase sensível ao óxido nítrico) e mecamilamina (1,5 mg/kg, i.p.; antagonista não seletivo de receptor colinérgico nicotínico) previamente a administração de JO-04 na dose de 10 mg/kg. Como podemos observar nas Figuras 37 B e C, bem como da Tabela 8, todos esses compostos não foram capazes de reduzir o efeito antinociceptivo do JO-04, demonstrando assim o não envolvimento das vias serotoninérgica, adrenérgica, nitrérgica via guanilato ciclase, colinérgica e dos canais de potássios regulados por ATP no mecanismo de ação do composto.

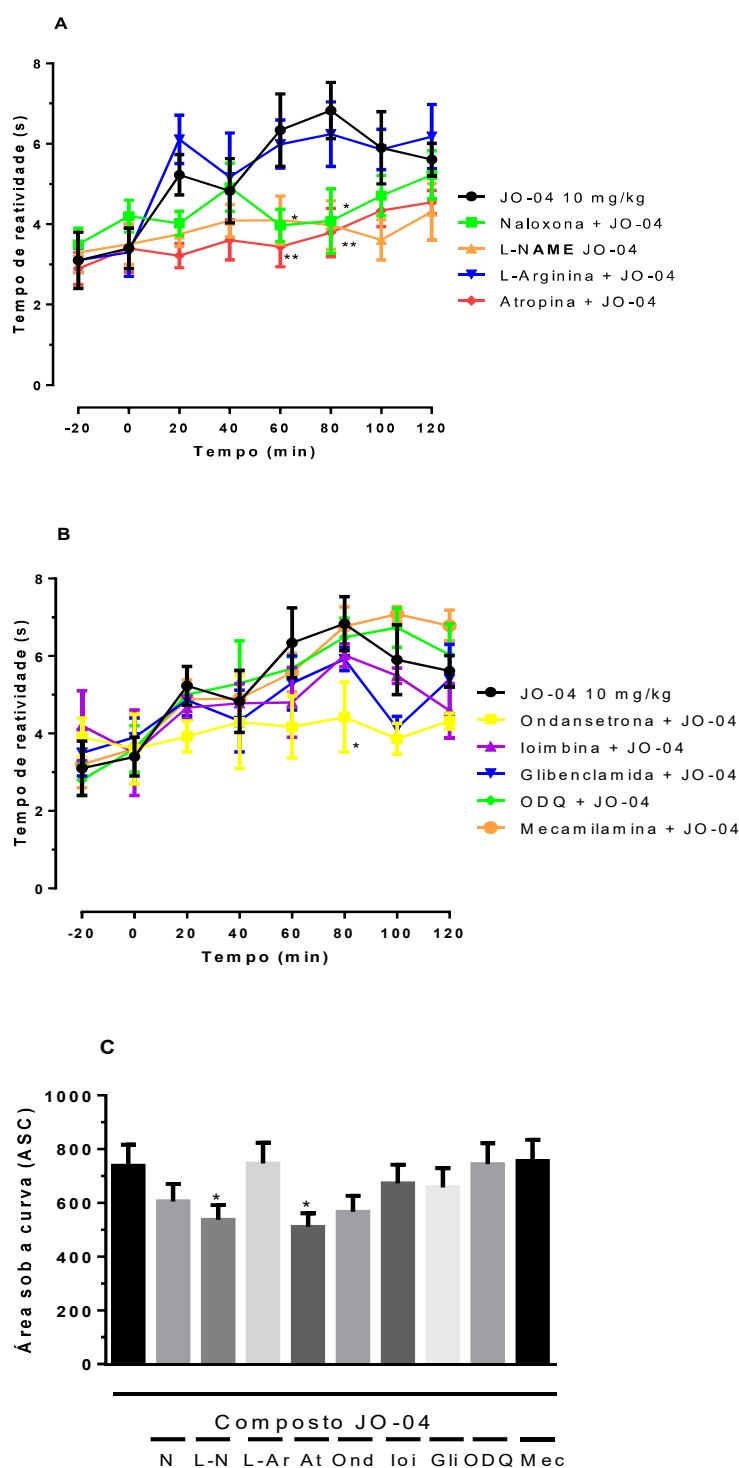


Figura 37 - Avaliação da administração prévia de Naloxona (N – 5 mg/kg), L-NAME (L-N - 5 mg/kg), L-Arginina (L-Ar – 3 mg/kg) e Atropina (At – 3 mg/kg) sobre o efeito antinociceptivo do composto JO-04 no modelo de imersão de cauda em água quente (A). Avaliação da administração prévia de Ondansetrona (Ond – 0,5 mg/kg), Ioimbina (Ioi – 0,15 mg/kg), 1H-[1,2,4] Oxadiazol[4,3-a]quinoxalina-1-ona (ODQ – 0,5 mg/kg), Mecamilamina (Mec – 1,5mg/kg) e Glibenclamida (Gli – 3 mg/kg) (B). Representação do cálculo da área sob a curva (C). A significância estatística (* $p < 0,05$) e (** $p < 0,01$) foi calculada por ANOVA acompanhado pelo teste de Bonferroni entre o grupo administrado com o composto isoladamente e os grupos previamente tratados com naloxona, L-NAME, atropina, L-arginina, ondansetrona, mecamilamina, ODQ, ioimbina e glibenclamida associados ao composto.

Tabela 8 - Avaliação da influência da administração prévia de Naloxona, L-NAME, L-arginina, Atropina, Ondansetrona, Ioimbina, Glibenclamida, ODQ e Mecamilamina sobre os tempos de latência induzidos pelo JO-04 no modelo de imersão de cauda em água quente.

Tratamentos	Tempo de Latência (segundos - Média \pm EPM)						
	Linha de Base	20 min	40 min	60 min	80 min	100 min	120 min
JO04	3,30 \pm 0,6	5,23 \pm 0,5	4,83 \pm 0,8	6,34 \pm 0,9	6,83 \pm 0,7	5,90 \pm 0,9	5,61 \pm 0,4
JO04 + Naloxona	3,90 \pm 0,4	4,02 \pm 0,3	4,92 \pm 0,6	3,97 \pm 0,4*	4,08 \pm 0,8*	4,71 \pm 0,5	5,23 \pm 0,6
JO04 + L-NAME	3,40 \pm 0,5	3,75 \pm 0,3	4,09 \pm 0,4	4,10 \pm 0,6*	3,98 \pm 0,6*	3,61 \pm 0,5	4,31 \pm 0,7
JO04 + L-arginina	3,20 \pm 0,5	6,11 \pm 0,6	5,17 \pm 1,1	5,99 \pm 0,6	6,24 \pm 0,8	5,86 \pm 0,5	6,18 \pm 0,8
JO04 + Atropina	3,15 \pm 0,5	3,22 \pm 0,3	3,61 \pm 0,5	3,44 \pm 0,5**	3,79 \pm 0,6**	4,34 \pm 0,4	4,54 \pm 0,3
JO04 + Ondansetrona	3,80 \pm 0,7	3,92 \pm 0,4	4,29 \pm 1,2	4,17 \pm 0,8	4,42 \pm 0,9*	3,86 \pm 0,4	4,32 \pm 0,2
JO04 + Ioimbina	3,85 \pm 1,0	4,66 \pm 0,3	4,78 \pm 0,5	4,80 \pm 0,9	6,02 \pm 0,3	5,49 \pm 0,2	4,59 \pm 0,7
JO04 + Glibenclamida	3,70 \pm 0,6	4,86 \pm 0,4	4,32 \pm 0,8	5,30 \pm 0,7	5,92 \pm 0,3	4,14 \pm 0,3	5,40 \pm 0,9
JO04 + ODQ	3,20 \pm 0,5	5,00 \pm 0,2	5,29 \pm 1,1	5,68 \pm 0,3	6,48 \pm 0,5	6,73 \pm 0,5	6,03 \pm 0,8
JO04 + Mecamilamina	3,40 \pm 0,8	4,88 \pm 0,5	4,90 \pm 0,7	5,57 \pm 0,5	6,76 \pm 0,5	7,08 \pm 0,2	6,78 \pm 0,4

* $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$ entre o composto isolado e o composto associado a naloxona, L-NAME e L-arginina, atropina, ondansetrona, ioimbina, glibenclamida, ODQ e mecamilamina por Two-Way ANOVA acompanhado pelo teste de Bonferroni.

5.4 Modelo de campo aberto

Neste modelo, os animais foram tratados por via oral com JO-04 na dose de 10 mg/kg, solução salina, veículo e diazepam (3mg/kg). Como podemos observar na Figura 38 e Tabela 9, o composto não apresentou diferença significativa em relação ao grupo controle, confirmando que o JO-04 não induz déficit motor, e que o efeito antinociceptivo demonstrado pelo composto não é influenciado por nenhum comprometimento motor e assim confirmando os efeitos encontrados nos modelos algesimétricos. O diazepam apresentou uma redução da atividade motora espontânea dos animais, em 49,1% o número de quadrados percorridos

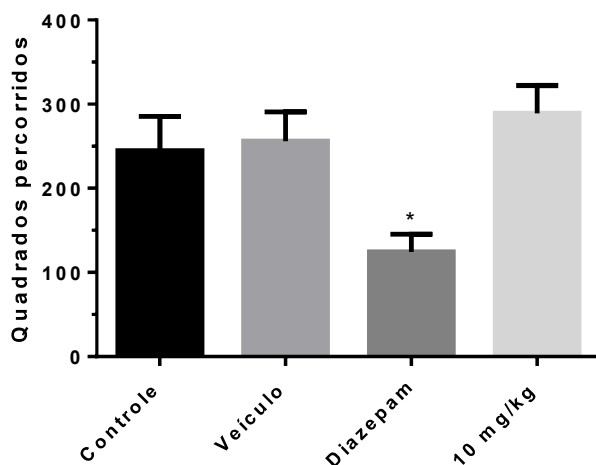


Figura 38 - Avaliação do déficit motor do composto JO-04 no modelo de campo aberto em camundongos. Os tratamentos foram realizados por via oral. A significância estatística (*p < 0,05) foi calculada por ANOVA acompanhado pelo teste de Bonferroni entre o grupo controle e os grupos tratados com veículo, diazepam (3 mg/kg) e o composto JO-04 (10 mg/kg).

Tabela 9 - Avaliação no modelo de campo aberto

Tratamentos	Número de quadrados percorridos (Média ± EPM)	(%)
Controle	244,5 ± 41,1	---
Veículo	256,3 ± 34,5	↑4,8%
Diazepam	124,5 ± 21,2*	↓49,1%
JO04 10 mg/kg	289,3 ± 33,3	↑18,3%

*p < 0,05 entre os grupos veículo, diazepam e composto com o grupo controle, por One-Way ANOVA acompanhado pelo teste de Bonferroni.

5.5 Modelos de avaliação da atividade anti-inflamatória

5.5.1 Modelo de edema de pata induzido por carragenina

No modelo de edema de pata induzido por carragenina, somente a dexametasona inibiu a formação do edema em todos os tempos, enquanto o composto JO-04, somente na dose de 10 mg/kg, foi capaz de inibir nos tempos de 2 e 3h após a injeção de carragenina (44,5% e 62% de redução, respectivamente) (Figura 39 A) (Tabela 10). No cálculo da área sob a curva observou-

se redução para a dexametasona e o composto JO-04 na maior dose, em relação ao grupo controle (Figura 39 B). Portanto o composto JO-04, na sua maior dose, 10 mg/kg, diminuiu o edema de pata induzido pela carragenina, indicando dessa maneira, uma provável inibição sobre os mediadores inflamatórios, ressaltando assim sua ação antiedematogênica.

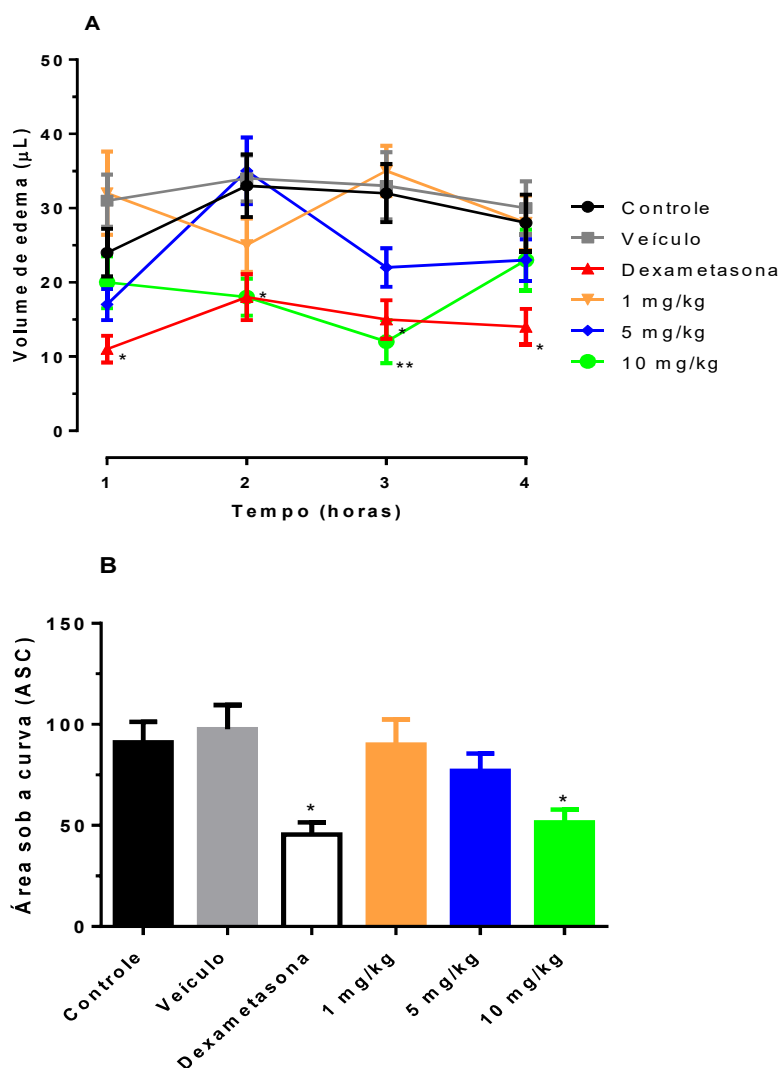


Figura 39 - Efeito antiedematogênico do composto JO-04 no modelo de edema de pata induzido por carragenina em camundongos (A) e Representação do cálculo da área sob a curva (B). A significância estatística (* $p < 0,05$) e ($p < 0,01$) foi calculada por ANOVA acompanhado pelo teste de Bonferroni entre o grupo controle e os grupos veículo, dexametasona (2,25 mg/kg; s.c.) e o composto (1, 5 e 10 mg/kg).**

Tabela 10 - Avaliação no modelo de edema de pata induzido por carragenina

Tratamentos	Volume de edema (µL)			
	1 Hora	2 Horas	3 Horas	4 Horas
Controle	24,5 ± 3,9	33,7 ± 4,1	32,4 ± 4,5	28,8 ± 4,4
Veículo	31,2 ± 4,0	34,5 ± 3,5	33,5 ± 5,4	30,7 ± 4,1
Dexametasona	11,2 ± 2,2*	18,8 ± 3,2*	15,7 ± 3,0*	28,7 ± 3,2*
JO04 1 mg/kg	32,8 ± 6,6	25,8 ± 4,0	35,4 ± 3,4	28,4 ± 4,3
JO04 5 mg/kg	17,8 ± 2,2	35,7 ± 5,2	22,3 ± 3,8	23,3 ± 3,6
JO04 10 mg/kg	20,3 ± 4,3	18,7 ± 3,1*	12,3 ± 3,5**	23,9 ± 4,4

*p < 0,05 e **p < 0,01 entre os grupos veículo, dexametasona e doses crescentes do composto com o grupo controle, por Two-Way ANOVA acompanhado pelo teste de Bonferroni.

5.5.2 Modelo de edema de pata induzido por histamina

O composto nas maiores doses (5 e 10 mg/kg) e a prometazina reduziram a formação do edema induzido por histamina em 41%, 58% e 61% em comparação ao grupo controle, respectivamente (Figura 40) (Tabela 11). O resultado mostra a capacidade do composto em inibir a ação edematogênica da histamina.

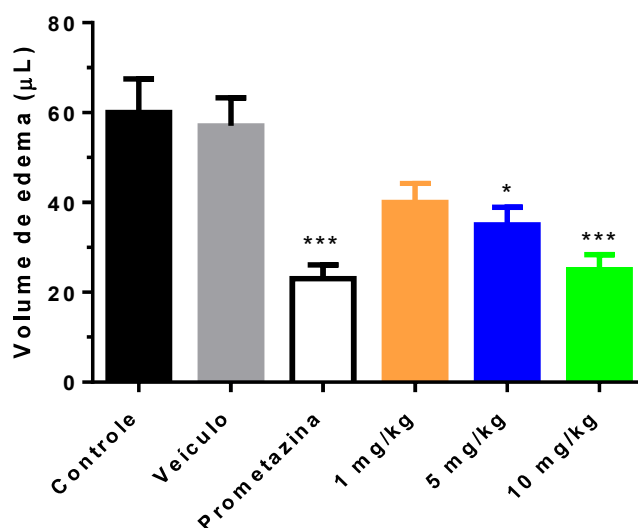


Figura 40 - Efeito antiedematogênico do composto JO-04 no modelo de edema de pata induzido por histamina em camundongos. A significância estatística (* $p<0,05$), (** $p<0,01$) e (***) $p<0,001$) foi calculada por ANOVA acompanhado pelo teste de Bonferroni entre o grupo controle e os grupos veículo, prometazina (5 mg/kg; s.c.) e o composto (1, 5 e 10 mg/kg).

5.5.3 Modelo de edema de pata induzido por serotonina

O composto JO-04 em todas as doses testadas 1, 5 e 10 mg/kg e a dexametasona reduziram a formação de edema induzido por serotonina em 51%, 53%, 46% e 51% em comparação ao grupo controle, respectivamente (Figura 41) (Tabela 11). O composto JO-04 foi capaz de inibir a atividade edematogênica da serotonina igualmente em todas as doses avaliadas.

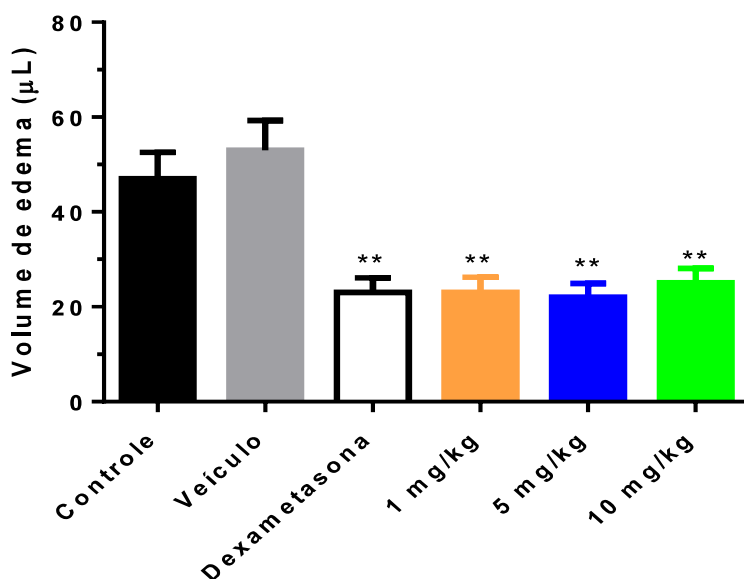


Figura 41 - Efeito antiedematogênico do composto JO-04 no modelo de edema de pata induzido por serotonina em camundongos. A significância estatística (** $p<0,01$) foi calculada por ANOVA acompanhado pelo teste de Bonferroni entre o grupo controle e os grupos veículo, dexametasona (2,25 mg/kg; s.c.) e o composto (1, 5 e 10 mg/kg).

5.5.4 Modelo de edema de pata induzido por bradicinina

O composto JO-04 em todas as doses testadas 1, 5 e 10 mg/kg e a dexametasona reduziram a formação de edema induzido por bradicinina em 75%, 68%, 63% e 64%% em comparação ao grupo controle, respectivamente (Figura 42) (Tabela 11). Foi observado que o composto JO-04 reduziu a ação da bradicinina em sua atividade edematogênica, não havendo diferença significativa entre as doses avaliadas.

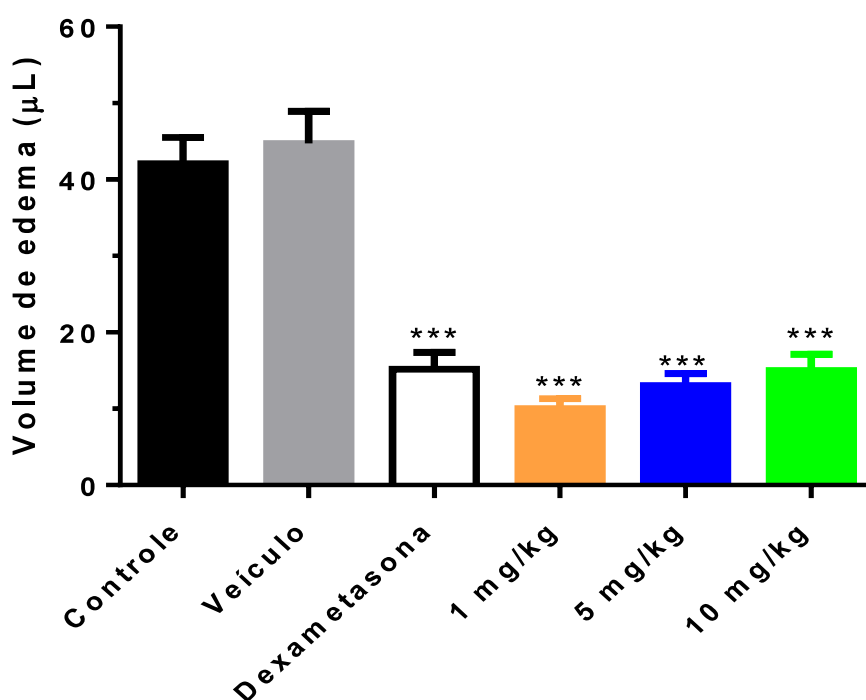


Figura 42 - Efeito antiedematogênico do composto JO-04 no modelo de edema de pata induzido por bradicinina em camundongos. A significância estatística (***) $p < 0,001$ foi calculada por ANOVA acompanhado pelo teste de Bonferroni entre o grupo controle e os grupos veículo, dexametasona (2,25 mg/kg; s.c.) e o composto (1, 5 e 10 mg/kg).

Tabela 11 - Avaliação no modelo de edema de pata induzido por histamina, serotonina e bradicinina.

Tratamentos	Volume de edema (μ L) no tempo de 1 Hora		
	Histamina	Serotonina	Bradicinina
Controle	60,5 \pm 8,9	47,8 \pm 6,2	42,1 \pm 3,4
Veículo	57,8 \pm 6,2	53,5 \pm 6,6	44,7 \pm 4,2
Dexametasona	---	23,5 \pm 3,6**	15,2 \pm 2,2***
Prometazina	23,4 \pm 3,6***	---	---
JO04 1 mg/kg	40,7 \pm 4,4	23,4 \pm 3,6**	10,4 \pm 1,7***
JO04 5 mg/kg	35,6 \pm 4,2*	22,5 \pm 3,2**	13,3 \pm 2,8***
JO04 10 mg/kg	25,3 \pm 3,0***	25,9 \pm 3,8**	15,6 \pm 2,5***

*p < 0,05; **p < 0,01 e ***p < 0,001 entre os grupos veículo, dexametasona, prometazina e doses crescentes do composto com o grupo controle, por Two-Way ANOVA acompanhado pelo teste de Bonferroni.

5.6 Modelo da bolsa de ar subcutâneo

5.6.1 Contagem de leucócitos totais na cavidade de ar subcutânea estéril

Observamos que houve uma diminuição na quantidade de leucócitos totais nos grupos tratados com JO-04 nas doses de 5 e 10 mg/kg, e também com o grupo tratado com a dexametasona, na ordem de 66,2%, 64,9% e 77,9% respectivamente, indicando que o composto JO-04 e a dexametasona foram capazes de reduzir a migração leucocitária induzida pela carragenina presente na bolsa de ar subcutâneo (Figura 43 A) (Tabela 12).

5.6.2 Quantificação de mediadores inflamatórios

Na determinação da produção de TNF- α e IL-1 β , observamos que a administração do composto JO-04 foi capaz de inibir a produção destas citocinas com a dose de 10 mg/kg em 64,7% e 66,3%, respectivamente (Figura 43 B e 43 C). Com relação a IL-6, observou-se que a dose de 10 mg/kg apresentou redução significativa de 75,3%, enquanto a dose de 5mg/kg diminuiu 37,3% (Figura 43 D). A administração subcutânea de dexametasona reduziu a concentração das seguintes citocinas pró-inflamatórias: TNF- α – 65,8%, IL-1 β – 60,4% e IL-6 – 71,7% (Figura 43) (Tabela 12).

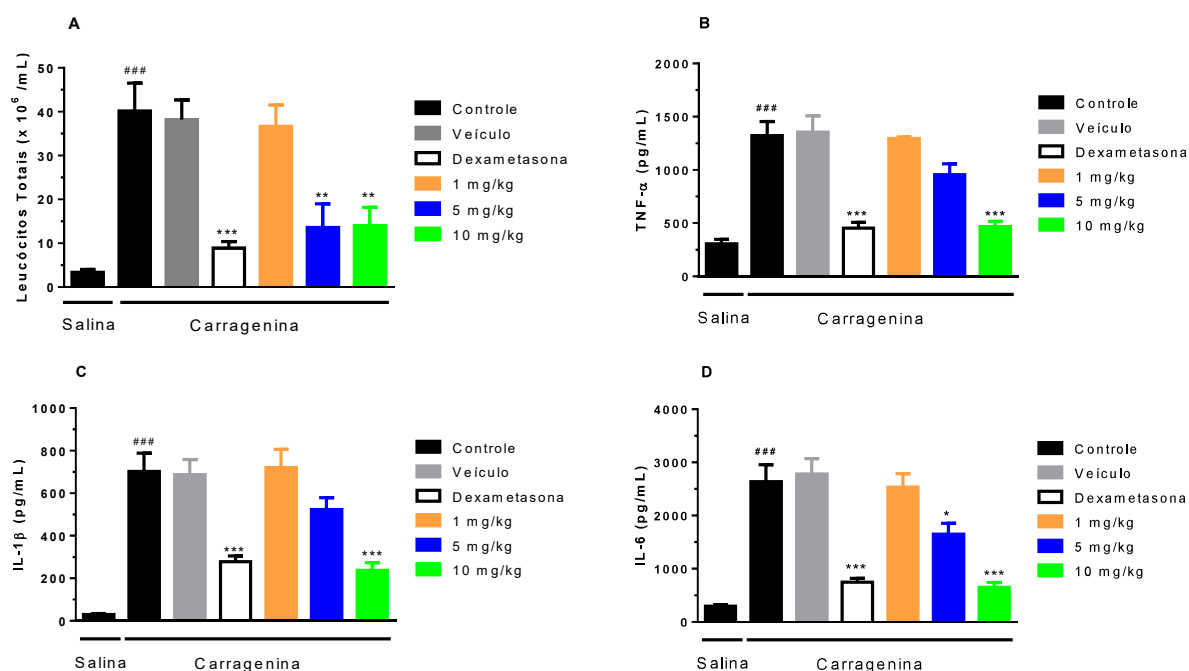


Figura 43 - Efeito do composto JO-04 na quantificação de leucócitos totais (A), e de citocinas (B- TNF- α , C- IL-1 β e D-IL-6) a partir do teste bolsa de ar subcutâneo. Os animais foram pré-tratados com solução salina, veículo, dexametasona (2,25 mg/kg; s.c.) e o JO-04 (1, 5 e 10 mg/kg). Na bolsa de ar subcutâneo foram aplicadas solução salina e carragenina. Os resultados são expressos como média \pm E.P.M. (n = 6) da concentração de leucócitos ou de citocinas. A significância estatística (*p < 0,05; **p < 0,01 e *p < 0,001) foi calculada entre o grupo controle que recebeu solução carragenina por via subcutânea e os grupos tratados com veículo, dexametasona e doses crescentes do composto e a significância estatística (####p < 0,001) foi calculada entre o grupo que recebeu solução salina e o grupo controle que recebeu solução carragenina por via subcutânea, por One-Way ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni.**

Tabela 12 - Quantificação de citocinas no modelo de bolha de ar subcutâneo.

Tratamentos	Número de leucócitos totais (x 10⁶/mL) (Média ± EPM)	IL-1β (pg/mL) (Média ± EPM)	TNF-α (pg/mL) (Média ± EPM)	IL-6 (pg/mL) (Média ± EPM)
Controle solução salina	3,4 ± 0,6	30,1 ± 4,2	306,4 ± 42,2	298,2 ± 26,3
Controle solução carragenina	40,2 ± 6,3####	702,3 ± 85,2####	1322,5 ± 132,2####	2635,0 ± 321,0####
Veículo	38,2 ± 4,5	687,9 ± 71,2	1356,4 ± 152,0	2785,0 ± 284,4
Dexametasona	8,9 ± 1,5***	278,2 ± 26,3***	452,4 ± 54,2***	745,2 ± 74,2***
JO04 1 mg/kg	36,7 ± 4,8	721,3 ± 85,2	1296,0 ± 15,2	2536,1 ± 253,2
JO04 5 mg/kg	13,6 ± 5,4**	523,6 ± 55,2	956,3 ± 102,3	1652,1 ± 202,3*
JO04 10 mg/kg	14,1 ± 4,3**	236,9 ± 36,9***	466,7 ± 48,5***	652,3 ± 89,4***

*p < 0,05, **p < 0,01 e ***p < 0,001 entre os grupos veículo, dexametasona e doses crescentes do composto com o grupo controle solução carragenina, por One-Way ANOVA acompanhado pelo teste de Bonferroni. ####p < 0,001 entre os grupos controle solução salina e o grupo controle carragenina, por One-Way ANOVA acompanhado pelo teste de Bonferroni.

5.7 Avaliação toxicológica aguda

O composto JO-04 foi avaliado quanto à toxicidade aguda em camundongos. O valor de DL 50 > 300 mg/kg foi encontrado, pois até a administração de 300 mg/kg (30x maior que a maior dose usada nos modelos) não foram observados sintomas de intoxicação (convulsão, hiperatividade, perda do reflexo de endireitamento, alteração da frequência respiratória e sedação) e mortes nos animais.

6 DISCUSSÃO

Com a finalidade de alcançar os objetivos propostos por este estudo, foram utilizados, diversos modelos de nocicepção e inflamação. Os modelos apresentados se diferem mediante suas características próprias tais como sensibilidade e especificidade. As atividades antinociceptivas e anti-inflamatórias do composto 5-cloro-2-(2,4-diclorofenoxi) fenil propanoato de 2-(3benzil fenila), nomeado JO-04, foram testadas nos respectivos modelos em camundongos, neste trabalho.

A fim de começar o estudo sobre a atividade antinociceptiva foi realizado, primeiramente, o modelo de contorções abdominais induzidas por ácido acético. Visto que este modelo vem sendo usado, classicamente para analisar o potencial antinociceptivo de novos agentes analgésicos (Mohamad *et al.*, 2010). Sendo frequentemente aplicado como triagem na avaliação de nocicepção em camundongo a partir de um estímulo químico, ou seja, é um modelo simples e rápido geralmente utilizado como screening de drogas. Ele é usado para analisar fármacos ou compostos com potenciais antinociceptivos, com uma alta sensibilidade, onde diversos mediadores inflamatórios são liberados, por meio da dor característica deste processo, que estimula os nociceptores, receptores sensoriais periféricos. Estes receptores têm participação na sensibilidade do organismo aos AINEs e narcóticos (Batista *et al.*, 2016).

O ácido acético gera um efeito algésico, desencadeado por uma reação inflamatória aguda. Esta está envolvida com a liberação de mediadores inflamatórios como serotonina, histamina, bradicinina, prostaglandinas e leucotrienos (Verma *et al.*, 2005; Bahamonde *et al.*, 2013), induzido pelas enzimas envolvidas no processo inflamatório como as lipooxigenases (LOX) e as ciclooxygenases (COX) (Ikeda *et al.*, 2001).

Ademais, observa-se que a reação nociceptiva própria desse modelo, pode ser explicada pela ação de diversos mediadores inflamatórios e da ação do ácido acético sobre os macrófagos e basófilos existentes na cavidade intraperitoneal, provocando liberação de citocinas como TNF- α , IL-1 β e IL-8, que estimulam neurônios aferentes primários, este estímulo aumenta a liberação de glutamato e aspartato, no fluido cérebro-espinhal (Feng *et al.*, 2003). Ressaltam-se as ações de permeabilidade vascular e vasodilatação desencadeadas pelo ácido acético (Verri *et al.*, 2006; Parveen *et al.*, 2007). Por isso, enfatiza-se que o teste de contorções abdominais é relevante, porque possibilita a comparação dos demais grupos com o grupo controle, como mostra a Figura 33, sendo justificável salientar a existência de vias de ações inflamatórias e algésicas.

O composto JO-04, por meio de sua habilidade de diminuir o número de contorções abdominais quando comparado ao grupo controle, demonstrou atividade antinociceptiva, principalmente na maior dose. Todavia esse modelo experimental, não contribui para o esclarecimento do mecanismo de ação responsável por esse efeito antinociceptivo.

O modelo de formalina foi aplicado com a finalidade de melhor caracterizar a atividade antinociceptiva do composto, pois trata-se de um modelo mais específico, que discrimina a ação antinociceptiva sobre a dor não inflamatória e inflamatória. Na 1ª fase deste modelo, que começa logo após a administração da formalina, o mecanismo incumbido do efeito nociceptivo, ocorre devido a estimulação de forma direta das fibras C sensoriais mediante os receptores TRPA1 (McNamara *et al.*, 2007). Alega-se também que mediadores tais quais bradicinina e SP estejam envolvidos neste mecanismo neurogênico (Parada *et al.*, 2001). Nesta fase neurogênica da nocicepção, fármacos que agem no SNC, como os opioides, representam os agentes atuantes mais importantes (Ferreira *et al.*, 2006). Entre 15-30 minutos, que corresponde a 2ª fase deste modelo, são liberados em consequência da administração de formalina, mediadores inflamatórios como bradicinina, interleucinas, serotonina, histamina, PGs, TNF- α e aminas simpatomiméticas (Milano *et al.*, 2008). Fármacos que agem na periferia inibem apenas a 2ª fase, enquanto que fármacos que agem, sobretudo, no SNC, inibem as duas fases (Fischer *et al.*, 2008).

Os resultados apresentados sugerem que as maiores doses do composto JO-04 (5 e 10mg/kg), da mesma forma que a morfina (um fármaco que atua a nível central), apresentaram atividade sobre as duas fases do modelo, sugerindo atividade antinociceptiva neurogênica. Entretanto, o ácido acetilsalicílico apresentou atividade apenas na 2ª fase, sugerindo atividade antinociceptiva periférica-inflamatória.

O modelo de imersão da cauda em água quente foi executado usando doses crescentes do composto JO-04, na tentativa de comprovar a atividade antinociceptiva central, demonstrada do modelo de formalina. Este modelo analisa os mecanismos espinais que participam da antinocicepção, por meio de estímulo térmico, que desencadeia uma reação, nos animais, de retirada de cauda, mediante um movimento reflexo de origem espinal vigoroso e rápido (Camarata e Yaksh, 1985). Sendo apontado como um reflexo espinal, assim como consegue abranger estruturas superiores neuronais e, por conseguinte, detecta especialmente analgésicos que atuam no SNC (Le Bars *et al.*, 2001).

O composto JO-04 produziu atividade antinociceptiva no modelo imersão da cauda em água quente com as maiores doses administradas (5 e 10 mg/kg), aumentando o tempo de latência, assim como a morfina. Esta apresentou uma ação mais tardia, com diferença

significativa somente em 60 min após a administração do composto. Esta ação tardia deve-se ao efeito de primeira passagem, também denominado por efeito de primeira passagem hepático, que diminui 75%, aproximadamente, da biodisponibilidade da morfina, administrada por via oral (Brunton, 2018), como também devido a sua absorção intestinal irregular (Baltieri *et al.*, 2004). Este resultado sugere que no efeito do composto JO-04, existe o envolvimento de mecanismos neurogênicos.

Na tentativa de se investigar por quais vias o composto JO-04 está exercendo seus efeitos, realizamos o uso de antagonistas, inibidores e precursor ainda neste modelo. Sendo assim, procuramos analisar o envolvimento direto de receptores opioides, por meio da administração de naloxona, um antagonista não seletivo de receptores opioides. Tanto de maneira estimulatória quanto inibitória, a via descendente da dor, pode ser modulada por diversos sistemas que regulam a nocicepção. No fenômeno de transmissão, a ativação de regiões encefálicas tais quais a periventricular e periaqueductal, promove a liberação de substâncias neuromoduladoras, por exemplo, os peptídeos opioides. Estes exercem efeito analgésico agindo por intermédios de receptores específicos (μ , κ e δ). Todavia, esta via não demonstrou influenciar na ação do composto JO-04, pois a naloxona não foi capaz de inibir os efeitos do composto no modelo utilizado.

Apurou-se também a participação da via nitrérgica (NO) na antinocicepção induzida pelo composto JO-04 na dose de 10 mg/kg, no modelo de imersão de cauda em água quente, com a administração prévia de L-NAME (inibidor não seletivo da óxido nítrico sintase), L-arginina (precursor de óxido nítrico) e ODQ (inibidor seletivo da guanilato ciclase sensível ao óxido nítrico). Em virtude desta via desempenhar uma função relevante na regulação da nocicepção e diversas pesquisas farmacológicas indicarem o envolvimento do óxido nítrico no fenômeno de nocicepção (Haley *et al.*, 1992). A estimulação da enzima guanilato ciclase solúvel é de responsabilidade do NO, como também por consequência deste fato, a elevação dos níveis de GMPc intracelular, atuando como segundo mensageiro em muitas células. A participação do NO na sensação dolorosa é complexa. Menciona-se ocorrer inibição na hipernocicepção provocada por PGE₂, quando se administra doadores de NO, tal qual L-NAME, um inibidor da enzima óxido nítrico sintase, responsável pela síntese de NO, ademais variadas pesquisas já evidenciaram o envolvimento desta via na ação analgésica dos opioides (Dickenson, 1995).

Um estudo demonstrou, por meio de ensaios *in vivo* e *in vitro*, que a ativação da via do NO, pela morfina e de agonista de receptores opioides do tipo κ , é dependente da estimulação

da via $PI_3K\gamma/AKT$. Uma vez sintetizado, o NO é capaz de estimular a enzima guanilato ciclase a catalisar a conversão do trifosfato de guanosina (GTP) em GMPc (Cunha *et al.*, 2010).

Vários estudos experimentais demonstram que a síntese de GMPc pelo NO, promove a abertura de canais para potássio sensíveis à ATP (KATP) (Soares e Duarte, 2001). O GMPc é capaz de modular, direta ou indiretamente (via ativação da proteína quinase G, PKG), a atividade destes canais, favorecendo o efluxo de íons potássio e a hiperpolarização da célula neuronal, resultando em antinocicepção (Han *et al.*, 2001). A PKG é uma proteína quinase que é estimulada seletivamente, mas não exclusivamente, pelo GMPc. Uma vez estimulada, a PKG induz a inibição da atividade da fosfolipase C, do 1, 4, 5-inositol trifosfato e de canais de Ca^{2+} , além de estimular a atividade da Ca^{2+} ATPase e de canais de K^+ ATP (Sachs *et al.*, 2004).

Com o intuito de se investigar a participação de canais de K^+ ATP, na ação antinociceptiva do composto JO-04, foi administrado previamente, glibenclamida, um bloqueador de canais de K^+ ATP. Várias pesquisas mostram a participação destes canais no fenômeno de dor. Menciona-se que a estimulação dos mesmos reduz a concentração de Ca^{+2} intracelular, através da hiperpolarização celular, diminuindo a liberação de neurotransmissores, colaborando para redução da neurotransmissão e, conseqüentemente promovendo antinocicepção. Dependendo da região em que estão situados, esses canais conseguem atuar de maneira indireta ou direta na via de sinalização da dor (Asano *et al.*, 2000; Ocana *et al.*, 2004). No SNC, a abertura de canais K^+ ATP, aparenta realizar uma ação na antinocicepção impelida por morfina e encefalinas, como dito anteriormente, estas são opioides endógenos, visto que a ação antinociceptiva destes opioides é antagonizadas por bloqueadores de canais de K^+ ATP, como a glibenclamida (Reis, 2006).

Em nosso experimento a dose testada de L-NAME foi capaz de inibir o efeito do composto JO-04, no modelo de retirada de cauda, enquanto que a L-arginina, ODQ e glibenclamida, não influenciaram no efeito do composto, como observado na Figura 37, demonstrando assim que a via nitrérgica participa do mecanismo de ação do composto, mediante inibição não seletiva da óxido nítrico sintase. No entanto, não havendo envolvimento da via inibitória da guanilato ciclase e de canais K^+ ATP.

Dando sequência a investigação do mecanismo de ação do composto JO-04, averiguamos o envolvimento da via colinérgica no efeito do composto, por meio da administração prévia de atropina (antagonista não-seletivo de receptor colinérgico muscarínico) e mecamilamina (antagonista não seletivo de receptor colinérgico nicotínico). A via colinérgica possui um papel que não está bem esclarecido na antinocicepção. Segundo Millan (2002), a acetilcolina (ACh) pode atuar na dor das seguintes maneiras: na ativação de vias descendentes

não-colinérgicas como mediador da via inibitória; na mediação dessa via de forma direta, ou sua própria liberação a partir de interneurônios localizados no corno dorsal da medula espinhal. A ACh modula a nocicepção também, através de efeitos complexos mediados através de várias classes de receptores muscarínicos e nicotínicos. Além disso, os inibidores da acetilcolinesterase (enzima responsável pela inibição da acetilcolina) tem tido um papel de potencializar a antinocicepção (Millan, 2002). Os efeitos de inibição da nocicepção da ACh no corno dorsal da medula espinhal, se dá predominantemente através de mecanismos envolvendo receptores muscarínicos.

Sabe-se que agonistas de receptores nicotínicos neuronais produzem efeito antinociceptivo predominantemente pela ativação de via inibitória descendente a partir da ativação de diferentes núcleos supraespinais incluindo tálamo, núcleo magno da rafe e núcleo tegumental pedunculopontino (Bitner *et al.*, 1998; Jurna *et al.*, 1993). A grande distribuição de diferentes subtipos de receptores nicotínicos neuronais pode ser responsável por mais de um mecanismo relacionado ao efeito antinociceptivo atribuído à ativação desses receptores (Picciotto *et al.*, 2000; Roberts *et al.*, 1995; Zoli *et al.*, 1995).

A atropina foi capaz de inibir o efeito do composto JO-04, no modelo de imersão da cauda em água quente, demonstrando dessa forma que os receptores muscarínicos participam do mecanismo de ação do composto. Enquanto que a mecamilamina não foi capaz de reduzir o efeito do composto, demonstrando assim que os receptores nicotínicos não participam do mecanismo de ação do composto.

Ainda no imersão da cauda em água quente, com intuito de prosseguir na investigação do mecanismo de ação do composto, utilizamos a ondansetrona, antagonista seletivo de receptores serotoninérgicos do tipo 5-HT₃. O sistema serotoninérgico é uma das vias que tem um papel relevante na modulação da nocicepção, por isso também foi avaliada sua participação na atividade antinociceptiva do JO-04. A serotonina tem sido associada com o processamento e modulação da dor tanto no SNC quanto no SNP. É liberada das plaquetas e mastócitos após lesão, sendo o efeito algésico ou analgésico dependente do sítio de ação e do subtipo de receptor ativado. Existem vários receptores para serotonina e estudos mostram que os receptores 5HT_{1A}, 5HT₂ e 5HT₃ estão presentes nas fibras aferentes do tipo C. A serotonina atua em combinação com outros mediadores inflamatórios e pode estimular e sensibilizar as fibras aferentes, contribuindo para uma sensibilização periférica e hiperalgesia inflamatória (Sommer, 2004). Os receptores 5-HT₃, estão envolvidos nas vias nociceptivas, desempenhando um papel pró-nociceptivo e mediando os controles excitatórios descendentes que permitem aos neurônios medulares codificar totalmente os estímulos periféricos (Barann, 1993). A ondansetrona

diminui a dor neuropática benigna crônica, esse efeito parece ser produzido por uma ação sobre os neurônios medulares que codificam e transmitem estímulos nociceptivos periféricos. A capacidade da ondansetrona de bloquear os canais de sódio e o receptor 5-HT₃ aventou a hipótese de que ela tenha propriedades antinociceptivas, provavelmente de modo semelhante aos anestésicos locais. Apesar de os anestésicos locais terem estruturas hidrofílicas e hidrofóbicas separadas por uma ligação intermediária amida ou éster, uma estrutura que ondansetrona não tem (Ye, 1997; McCleance, 2003). Todavia a ondansetrona não foi capaz de inibir os efeitos do composto JO-04 no modelo de imersão da cauda em água quente, sugerindo que os receptores serotoninérgicos 5-HT₃ não participem do mecanismo de ação do composto.

Com intuito de prosseguir na investigação do mecanismo de ação do composto, utilizamos a ioimbina, antagonista adrenérgico α_2 , visto que a via adrenérgica descendente inibitória da dor é muito relevante. As projeções de neurônios adrenérgicos ao corno dorsal, desempenham ações diversas, pró ou antinociceptivas, através da ação da NA sobre seus receptores, conforme o tipo de receptor ativado e sua localização. A ativação dos receptores inibitórios α_2 pós-sinápticos no corno dorsal provoca uma redução moderada da estimulação dos neurônios de projeção pelas fibras aferentes primárias, e também uma redução na liberação de transmissores pró- nociceptivos, como a substância P e o glutamato, a partir de seus terminais (Millan *et al.*, 1999). Desta forma, a ativação espinhal destes receptores constitui uma importante estratégia terapêutica, e agonistas seletivos α_2 têm sido amplamente utilizados na clínica (Eisenach, 1995). Todavia, a ioimbina não foi capaz de influenciar no efeito do composto, demonstrando assim que a via adrenérgica não participa do mecanismo de ação do JO-04.

Com o propósito de se analisar uma possível interferência de comprometimento motor nos resultados alcançados, realizamos o modelo de campo aberto. Pesquisas relatam que a ação miorrelaxante não específica e a sedação do SNC podem diminuir a coordenação motora, a saber, a movimentação de retirada de cauda no modelo de imersão da cauda em água quente, como também a lambertura da pata no modelo da formalina (Soja *et al.*, 2002). Os modelos de contorções abdominais, retirada de cauda e formalina, utilizados para avaliar a atividade antinociceptiva, demandam dos animais, respostas motoras, podendo gerar resultados falso-positivos, se acontecesse, por sedação e/ou relaxamento muscular, perda da coordenação motora dos camundongos. No entanto, neste modelo não houve alteração significativa na atividade locomotora dos animais pelo uso do composto JO-04, demonstrando assim que os efeitos antinociceptivos observados do composto não sofreram interferência da função motora.

Mediante o resultado do modelo da formalina na 2ª fase, com as doses de 5 e 10 mg/kg de JO-04, revelando uma possível atividade anti-inflamatória, fizemos a investigação do seu potencial anti-inflamatório. Sendo assim, o composto foi avaliado no modelo de edema de pata induzido por carragenina, que é um modelo experimental usado para triagem de substâncias de caráter anti-inflamatório e tem sido frequentemente utilizado para avaliar o efeito antiedematogênico, exibindo um elevado grau de reprodutibilidade (Thomazzi *et al.*, 2010). A carragenina ao ser administrada por via intraplantar, desencadeia acentuada vasodilatação, bem como extravasamento plasmático, através da liberação de mediadores que favorecem, a migração intensa, ao sítio da inflamação, pelas células. Assim se estabelece como um modelo atrativo para triagem de novas moléculas anti-inflamatórias (Henriques *et al.*, 1987). A carragenina induz uma inflamação designada por bifásica, visto que nas 2 primeiras horas após a injeção, a primeira fase, acontece a liberação de mediadores inflamatórios, tais quais serotonina e histamina. Enquanto a segunda fase, nas duas últimas horas, é intermediada por produtos da COX 1 e 2, como prostaglandinas, seguidamente pela atuação das cininas (Chyad *et al.*, 2016).

O composto em estudo, somente na sua maior dose, 10 mg/kg, diminuiu o edema de pata induzido pela carragenina, nos tempos de 2 e 3h após a injeção da mesma, indicando dessa maneira, uma provável ação de inibição sobre os mediadores inflamatórios, ressaltando assim sua ação anti-inflamatória e antiedematogênica, paralelamente, apenas a dexametasona inibiu a formação do edema em todos os tempos.

Com o objetivo de caracterizar melhor o envolvimento do composto JO-04 em inibir o edema de pata e sua influência sobre os mediadores histamina, serotonina e bradicinina, na mediação de seu efeito anti-inflamatório, avaliamos o efeito do JO-04 nos edemas de pata induzidos pela injeção intraplantar de histamina, serotonina e bradicinina. Visto que a serotonina, histamina e bradicinina agem em curto prazo na dinâmica da inflamação aguda (Kumar *et al.*, 2010; Rang e Dale, 2012) nossas análises foram concentradas na primeira hora após a administração destas substâncias.

A histamina é uma amina vasoativa, como já dito anteriormente, que executa uma função essencial na dinâmica da inflamação devido ao fato de elevar a permeabilidade vascular, iniciando assim uma vasodilatação promovida pela ligação dela a seus receptores H₁ encontrados nas células do endotélio. A mesma atua, sobretudo, nas vênulas pós capilares, cuja a abertura das junções do endotélio promoveriam ao extravasamento elevado de proteínas plasmáticas, com consecutiva contração e separação das células do endotélio, possibilitando, assim a diapedese dos leucócitos (Amann *et al.*, 1995). Nos mastócitos, nos grânulos

citoplasmáticos e, nos basófilos na corrente sanguínea, são os principais locais de armazenamento da histamina nos tecidos (Kumar *et al.*, 2010). Ademais, a histamina exerce uma ação ativadora sobre a fosfolipase A₂, enzima partícipe da síntese de prostaglandinas e leucotrienos a partir dos fosfolípidos de membrana e, por conseguinte, envolvida na síntese final de PGs (Grosser *et al.*, 2010). O composto nas maiores doses (5 e 10 mg/kg) e a prometazina, classificada como inibidora de receptores H₁, reduziram a formação do edema induzido por histamina. Portanto, pode-se inferir que o mecanismo pelo qual o composto exerça seu efeito anti-inflamatório parece ser capaz de afetar a resposta desencadeada pela histamina. Assim, pode-se sugerir que o mesmo pode inibir a formação e/ou ação da histamina, impedindo consequentemente seu efeito sobre a mobilização do ácido araquidônico precursor das prostaglandinas e leucotrienos dois importantes mediadores inflamatórios lipídicos que realizam a vasodilatação com aumento da permeabilidade vascular e formação do exsudato.

A 5-HT foi administrada nos animais i.p., para induzir o edema de pata. Ela é encontrada, de forma abundante, nas células enterocromafins do trato gastrointestinal. No entanto, já foram relatadas reservas desse mediador em plaquetas, células do sistema nervoso central e mastócitos (murinos) (Nagata *et al.*, 2001). Quando liberada por células inflamatórias, a 5-HT atua em diversos estágios do processo inflamatório, como nas alterações vasculares, com aumento da permeabilidade e promove direta ou indiretamente o recrutamento de leucócitos. Os receptores serotoninérgicos, tais como 5-HT₁ e 5-HT₃, foram descritos por estarem associados com a modulação da degranulação de mastócitos (Shajib e Khan, 2015; Theoharides *et al.*, 2012). Dessa forma, este mediador está atuando na fase inicial do processo inflamatório.

O composto em todas as doses testadas 1, 5 e 10 mg/kg reduziu o edema de pata induzido pela serotonina, semelhantemente a redução promovida pela dexametasona, um anti-inflamatório esteroide (AIEs). Portanto, pode-se inferir que o mecanismo pelo qual o composto exerça seu efeito anti-inflamatório parece ser capaz de afetar a resposta desencadeada pela 5-HT. Assim, pode-se sugerir que o mesmo inibe a formação e/ou ação da 5-HT, impedindo consequentemente seu efeito sobre a mobilização do ácido araquidônico precursor das prostaglandinas e leucotrienos, dois importantes mediadores inflamatórios lipídicos que realizam a vasodilatação com aumento da permeabilidade vascular e formação do exsudato.

A bradicinina (BK) induz sensibilização do nociceptor direta e indiretamente. O efeito indireto é dependente da produção de mediadores de ação direta, tais como as PGs e as aminas simpáticas, que sensibilizam os nociceptores (Cunha *et al.*, 2008). Tais mediadores agem preferencialmente nos receptores metabotrópicos da membrana neuronal das fibras C e dos

nociceptores silenciosos e são responsáveis por reduzir o limiar do nociceptor e aumentar a excitabilidade da membrana neuronal, gerando sensibilização central e facilitando a liberação de neuropeptídeos relacionados à dor (Verri *et al.*, 2006; Rahbardar *et al.*, 2017). A BK é uma proteína presente no sistema das cininas, que tem ação pró-inflamatória, promove a vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular, alterações celulares e hiperalgesia (Campos e Calixto, 1995; Maurer *et al.*, 2011). A BK também atua conduzindo ações intrínsecas ao processo inflamatório, estimulando neurônios que liberam neuropeptídeos, como a substância P, provocando a algesia (Calixto, 2004). Ademais, a BK ativa a fosfolipase A2 liberando ácido araquidônico, a síntese de citocinas como IL-1 β e TNF α em células inflamatórias. Pesquisas demonstram que receptores do tipo B1, que são ativados ao interagirem com a BK, estão sendo apontados como envolvidos na formação e na manutenção dos sinais cardinais da inflamação aguda (Campos e Calixto, 1995).

Neste trabalho, o composto JO-04, reduziu a formação de edema induzido pela BK, em todas as doses testadas, 1, 5 e 10 mg/kg, semelhantemente a dexametasona, um anti-inflamatório esteroideal (AIEs). Assim, pode-se sugerir que o mesmo inibe a formação e/ou ação da BK, impedindo, conseqüentemente, seu efeito sobre a mobilização do ácido araquidônico precursor das prostaglandinas e leucotrienos dois importantes mediadores inflamatórios lipídicos que realizam a vasodilatação com aumento da permeabilidade vascular e formação do exsudato.

Desse modo, a capacidade do composto JO-04 em reduzir a formação do edema de pata induzido por histamina, serotonina e bradicinina sugere que ele seja capaz de interferir no estabelecimento inicial do processo inflamatório, uma vez que estes mediadores são os mais importantes nesta fase do processo inflamatório agudo.

Realizamos o modelo de bolsa de ar subcutâneo, com a finalidade de melhor caracterizar o efeito anti-inflamatório do composto JO-04, demonstrado no modelo de edema de pata. A bolsa de ar subcutânea é um modelo usado para estudar a inflamação crônica e aguda, sendo realizado através de injeção subcutânea, no dorso do animal, de ar estéril. Linhagens de células, inicialmente fibroblastos e macrófagos, formam o tecido da bolsa, de forma semelhante à cavidade sinovial. Mediante este modelo, é possível quantificar a resposta inflamatória a partir da análise do volume e composição do exsudato, visto que pode ser injetada diversas substâncias designadas irritantes para desencadear inflamação nesta área (Duarte *et al.*, 2005).

Quando administramos na bolsa de ar, como já dito anteriormente, a carragenina produz no local uma reação inflamatória não imunológica, caracterizada pela síntese abundante de mediadores inflamatórios, dentre estes prostaglandinas, leucotrienos e citocinas, assim como

influxo expressivo de leucócitos, sobretudo neutrófilos. Estes parâmetros podem ser quantificados e utilizados para determinar o grau de inflamação, a resolução da inflamação ou a atividade anti-inflamatória de fármacos (Jain *et al.*, 2011). A chegada de leucócitos vindo do sangue para a região da inflamação representa um evento muito importante da resposta inflamatória. Inicialmente, reações inflamatórias, são qualificadas por um influxo de neutrófilos para a área inflamada, e mais tarde, verifica-se um intenso fluxo de eosinófilos e células mononucleares.

A migração leucocitária induzida pela carragenina foi reduzida pela administração prévia do composto JO-04, nas doses de 5 e 10 mg/kg, quando comparado ao grupo controle. O exsudato inflamatório foi coletado para quantificação de citocinas inflamatórias. O composto, na dose de 10 mg/kg foi capaz de reduzir a produção/liberação das citocinas TNF- α e IL-1 β (inibição de 64,7% e 66,3%, respectivamente; *** $p < 0,001$). Enquanto que nas doses de 5 e 10 mg/kg, o JO-04 reduziu a produção/liberação de citocina IL-6, (inibição de 37,3% e 75,3%, respectivamente; *** $p < 0,001$).

As citocinas IL-1 β e TNF- α estão entre as mais fundamentais citocinas envolvidas na dor inflamatória e na inflamação, na fase aguda. Seus principais efeitos são estimulação das células do endotélio, dos leucócitos e incitação de reações sistêmicas de fase aguda. O TNF- α faz parte da cascata de inflamação, ocupando uma posição de destaque no topo da mesma, sendo incumbido de estimular os linfócitos, estimular a liberação de enzimas proteolíticas pelos macrófagos, como também a síntese de outras citocinas inflamatórias. Além de executar outros efeitos, tais quais estimular a coagulação, ativar a expressão ou liberação de moléculas de adesão, PGE₂, PAF, glicocorticoides e eicosanóides, e influenciar a apoptose celular (Cruvinel, 2010). A IL-1 β age na inflamação sistêmica por intermédio da ativação da COX-2, com a formação de PGE₂ no hipotálamo anterior, provocando febre. Além disso desencadeia o aumento de SP, NO (por causa da estimulação da enzima óxido nítrico sintetase) e moléculas de adesão do endotélio, tendo relevante papel no desenvolvimento e na permanência da dor (Zhang, 2007).

Nossos resultados revelam que o composto JO-04 inibiu a síntese de citocinas pró-inflamatórias, por isso podemos sugerir que no mecanismo de ação anti-inflamatório do mesmo, o sistema de citocinas esteja envolvido.

O JO-04 é formado pela união de duas moléculas originais, o cetoprofeno e o triclosan (TCS), como já mencionado. O cetoprofeno é um anti-inflamatório não esteroideal sendo sua principal aplicação clínica como anti-inflamatório, utilizado no tratamento de distúrbios dos músculos e

Articulações, tais como osteoartrite, artrite reumatóide e em doenças peri-articulares, tais como tendinite e bursite, porém requer administração freqüente para manutenção da concentração terapêutica no plasma devido sua curta meia-vida biológica (Vergote *et al.*, 2002). Em geral, os AINEs proporcionam apenas alívio sintomático da dor e da inflamação associados à doença e não interrompem a progressão da lesão patológica do tecido (Hardman *et al.*, 2003). Há pesquisa que evidencia que a associação de morfina com cetoprofeno, permite a diminuição da dose deste opioide em 10% na farmacoterapia para dor severa (Mercadante e Giarratano, 2013). Existem estudos demonstrando que a cafeína potencializa a atividade antinociceptiva do cetoprofeno. Tais conhecimentos possibilita para os humanos, a seleção da combinação de fármacos mais eficazes, administrando as menores doses de cada analgésico (Díaz-Reval *et al.*, 2001). Enfim, as propriedades analgésicas e anti-inflamatórias do cetoprofeno estão bem sedimentadas na literatura. Enquanto que o TCS possui um amplo espectro, sendo encontrado em produtos de higiene pessoal. Este composto é utilizado, sobretudo em sabonetes e pasta de dentes, além de diversos outros produtos como fármacos, xampus e desodorantes devido a sua ação biocida atuando no combate de bactérias e fungos sendo usado principalmente como conservante (USEPA, 2006; Vingskes, 2018). No Brasil, ele é liberado para ser usado em produtos de higiene pessoal sem exceder a concentração de 0,30 % (Resolução 79/2000) (Brasil, 2000).

Os resultados apresentados nesta dissertação mostram o potencial antinociceptivo e anti-inflamatório do composto molecular híbrido JO-04, nos modelos experimentais utilizados, corroborando com os efeitos terapêuticos benéficos das moléculas originais, apesar da sua DI₅₀, quando calculada no modelo de contorções abdominais induzidas por ácido acético, ter sido maior do que das suas moléculas originais, ou seja, a molécula híbrida ter sido menos potente no seu efeito antinociceptivo, quando comparada as moléculas originais, o composto JO-04 apresentou amplo envolvimento de sistemas e mediadores participantes de mecanismos analgésicos (sistema nitrérgico e colinérgico) e anti-inflamatórios (citocinas pró-inflamatórias, mediadores como bradicinina, serotonina e histamina). Além disso, esses efeitos são desprovidos de toxicidade aguda. De acordo com os resultados obtidos no modelo de toxicidade, o composto JO-04 demonstrou DL₅₀ > 300 mg/kg (dose 30x superior a maior dose usada nos modelos experimentais *in vitro*), com ausência de alterações comportamentais. Porém, mais estudos são necessários para o aprofundamento dos mecanismos moleculares envolvidos na ação do composto.

7 CONCLUSÕES

Mediante aos resultados obtidos, pontuamos as seguintes conclusões:

- O composto JO-04 possui atividade na nocicepção aguda, demonstrado através do modelo de contorção abdominal induzida por ácido acético.
- O composto JO-04 possui uma menor potência na atividade antinociceptiva, quando comparado as suas moléculas originais no modelo de contorções abdominais induzido por ácido acético.
- O composto JO-04 demonstrou atividade sobre a dor neurogênica e inflamatória, diminuindo o tempo de lambertura em ambas as fases do modelo da formalina nas maiores doses de 5 e 10 mg/kg. A atividade antinociceptiva neurogênica foi confirmada através do modelo de imersão de cauda em água quente.
- Os sistemas colinérgicos muscarínico e nitrérgico parecem estar envolvidos no mecanismo de ação do composto JO-04.
- Ausência na participação dos sistemas opioide, serotoninérgico, colinérgico nicotínico, adrenérgico e da via guanilato ciclase/ K^+ ATP sensível ao óxido nítrico.
- Ausência de prejuízo motor ocasionado pelo composto JO-04, confirmando não haver influência motora sobre a resposta nos modelos algesimétricos.
- Efeito antiedematogênico do composto JO-04 induzido pela inibição da liberação e/ou ação de histamina, serotonina e bradicinina.
- Atividade anti-inflamatória do composto JO-04 demonstrada pela capacidade em inibir a migração leucocitária e inibir os níveis das citocinas pró-inflamatórias TNF- α , IL-1 β e IL-6 no exsudato inflamatório do modelo da bolsa de ar subcutânea. Essa ação pode estar relacionada com a atuação do sistema colinérgico via receptor muscarínico.
- O JO-04 demonstrou ser um composto seguro para os camundongos, haja vista seu DL50 > 300 mg/kg com a administração de uma única dose, não mostrando alterações comportamentais.

8 REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H. **Imunologia Celular e Molecular**. 6ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 1250, 2003.
- ABBAS, A. K.; PILAAI, S.; LICHTMAN, A. H. **Imunologia Celular e Molecular**. 9º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.565, 2016.
- ABDELLAOUI, A.; AL-KHAFFAT, H. **C-reactive protein (CRP) as a marker in peripheral vascular disease**. European journal of vascular and endovascular surgery, v. 34, n. 1, p. 18-22, 2007.
- AMANN, R.; *et al.* **Histamine-induced edema in the rat paw—effect of capsaicin denervation and a CGRP receptor antagonist**. European journal of pharmacology, v. 279, n. 2-3, p. 227-231, 1995.
- ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução da diretoria colegiada- **RDC Nº 79**, de 28 de agosto de 2000. Disponível em: <www.anvisa.gov.br/legis>. Acessado em: 19 de out. 2023.
- ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Relatório de atividades 2017/2018**. 2019. Disponível em: <portal.anvisa.gov.br/documents>. Acesso em: 19 de out. 2023.
- AHRENS, J. M. **Nas montanhas do México, a lei do ópio impera**. El País. 27 de maio de 2016. Acessado em: 19 out. 2023.
- AKDIS, C. A.; SIMONS, F. E. **Histamine receptors are hot in immuno pharmacology**. European journal of pharmacology, v. 533, n. 1-3, p. 69-76, 2006.
- AKIL, H.; OWENS, C.; GUTSTEIN, H.; TAYLOR, L.; CURRAN, E.; WATSON, S. **Endogenous opioids: overview and current issues**. Drug alcohol depend, v. 51, n. 1-2, p. 127-40, 1998.
- ALESSANDRI, A. L.; SOUSA, L. P.; LUCAS, C. D.; *et al.* **Resolution of inflammation: mechanisms and opportunity for drug development**. Pharmacology & therapeutics, v. 139, n. 2, p. 189-212, 2013.
- AMARAL, A. T.; MONTANARI, C. A. **Química medicinal: 25 anos de planejamento racional de fármacos**. Química Nova, v. 25, p. 39-44, 2002.
- AMARAL, J. B.; CALASANS, M. T. A.; ALBUQUERQUE, K. A.; MORAES, E. B. **As dimensões da dor na pessoa em cuidados paliativos**. São Paulo: Martinari, p. 134-152, 2019.
- ANTONOW, D. R.; MONTEIRO, G. A.; ARAUJO, M. C. S. **Glicocorticoides: uma meta-análise**. Disciplinarum Scientia Saúde, v. 8, n. 1, p. 51-68, 2007.

- ASANO, T.; DOHI, S.; IIDA, H. **Antinociceptive action of epidural K⁺ ATP channel openers via interaction with morphine and an α 2-adrenergic agonist in rats.** *Anesthesia & Analgesia*, v. 90, n. 5, p. 1146-1151, 2000.
- AULER, J. R.; JOSÉ, O. C.; CARMONA, M. J. C.; TORRES, M. L. A.; SAITO, A. **Anestesiologia básica: manual de anestesiologia, dor e terapia intensiva.** 1. ed. Barueri, SP: Manole, 2011. Acessado em: 18 out. 2023.
- ÁZARA, P. O. **Dicionário de substâncias farmacêuticas comerciais.** 5. ed. Associação Brasileira de Indústria Farmoquímica (ABIQUIF): Rio de Janeiro, 2013. p. 724.
- BAHAMONDE, S. M. A.; *et al.* **Antinociceptive and anti-inflammatory activities of an aqueous extract of *Chiliotrichum diffusum*.** *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 23, n. 4, p. 699-705, 2013.
- BALTIERI, D. A.; *et al.* **Brazilian guideline for the treatment of patients with opioids dependence syndrome.** *Brazilian Journal of Psychiatry*, v. 26, p. 259-269, 2004.
- BANNON A.W.; MALMBERG A. B. **Models of Nociception: Hot-Plate, Tail-Flick, and Formalin Tests in Rodents.** *Current Protocols in Neuroscience*. (2007).
- BARANN, M.; *et al.* **Inhibition by anaesthetics of 14 C-guanidinium flux through the voltage-gated sodium channel and the cation channel of the 5-HT 3 receptor of N1E-115 neuroblastoma cells.** *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, v. 347, p. 125-132, 1993.
- BARBOSA, M. L. C. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v 44. p. 3612. 2009.
- BARON, R.; BINDER, A.; WASNER, G. **Neuropathic pain: diagnosis, pathophysiological mechanisms, and treatment.** *The Lancet Neurology*, v. 9, n. 8, p. 807-819, 2010.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M.; MIRANDA, A. L. P.; RODRIGUES, C. R. **Química Nova**, v. 25, p. 129, 2002.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M.; **Química Medicinal: As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos**, 2^a ed., Artmed, 2008.
- BARROS, H. M.; TANNHAUSER, M. A.; TANNHAUSER, S. L.; TANNHAUSER, M. **Enhanced detection of hyperactivity after drug withdrawal with a simple modification of the open-field apparatus.** *J Pharmacol Methods*. p. 269-275, 1991.
- BASBAUM, A. I.; JESSEL, T. M. **Dor: Princípios de Neurociências.** 5. ed. Porto Alegre: AMGH, 2014. p. 462–482. E-book.
- BATISTA, E.; *et al.* **Atividades antinociceptiva e anti-inflamatória do extrato etanólico de *Luehea divaricata*.** *Revista brasileira de plantas medicinais*, v. 18, n. 2, p. 433-441, 2016.
- BAVARESCO, L.; BERNARDI, A.; BATTASTINI, A. M.O. **Glicocorticóides: Usos clássicos**

e emprego no tratamento do câncer. Infarma, v. 17, n. 7, p. 9, 2005.

BAYLIS, C.; VALLANCE, P. **Measurement of nitrite and nitrate levels in plasma and urine _ what does this measure tell us about the activity of endogenous nitric oxide system? Circulation and hemodynamics.** p. 59-62, 1998.

BEAR, M. F.; CONNORS, B. W.; PARADISO, M. A. **Neurociências: Desvendando o sistema nervoso.** 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

BECKMAN, B. **Anesthesia and pain management for small animals.** Vet. Clin. Small. Anim., v. 43, p. 669-688, 2013.

BEE, L. A.; DICKENSON, A. H. **Rostral ventromedial medulla control of spinal sensory processing in normal and pathophysiological states.** *Neuroscience*, v. 147, p. 786-793, 2007.

BEN-BASSAT, J.; PERETZ, E.; SULMAN, F. G. **Analgesimetry and ranking of analgesic drugs by the receptacle method.** Archs. Int. Pharmacodyn. Ther. (1959) 122, 434-447.

BERNARDINI, N.; REEH, P.W. **Muscarinic receptor subtypes mediating central and peripheral antinociception studied with muscarinic receptor knockout mice: a review.** Life Sci. 72: 2047-2054, 2003.

BERRY, S. H. **Analgesia in the perioperative period.** Vet. Clin. Small Anim., v. 45, p. 1013-1027, 2015.

BEVERLY, A.; *et al.* **Essential elements of multimodal analgesia in enhanced recovery after surgery (ERAS) guidelines.** Anesthesiology clinics. 2017; 35(2): e115-e143.

BITNER, R. S.; *et al.* **Role of the nucleus raphe magnus in antinociception produced by ABT-594: immediate early gene responses possibly linked to neuronal nicotinic acetylcholine receptors on serotonergic neurons.** Journal of Neuroscience, v. 18, n. 14, p. 5426-5432, 1998.

BLANCHER, M.; *et al.* **Intranasal sufentanil versus intravenous morphine for acute severe trauma pain: A double-blind randomized non-inferiority study.** PLoS medicine, v. 16, n. 7, p. e1002849, 2019.

BORRO, M.; NEGRINI, S.; LONG, A.; CHINTHRAJAH, S.; MURDACA, G. **H2-antagonist IgE-mediated Type I hypersensitivity reactions: What literature says so far?** Clin Mal Allergy. 2021. Apr 13; 19 (1): 4. doi:10.1186/s12948-021- 00143-y.

BOWERS, K. J.; *et al.* **Ketamine as an adjunct to opioids for acute pain in the emergency department: a randomized controlled trial.** Academic Emergency Medicine, v. 24, n. 6, p. 676-685, 2017.

BRACK, A.; *et al.* **Control of inflammatory pain by chemokine-mediated recruitment of opioid-containing polymorphonuclear cells.** Pain, v. 112, n. 3, p. 229-238, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer. **Cuidados paliativos oncológicos: controle da dor**. Rio de Janeiro: INCA, 2001.

BRASIL. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas de dor crônica**. Edição revisada 2012.

BRUNTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KNOLLMANN, B. C. **As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman e Gilman-13**. Artmed Editora, 2018.

BUHLER, A. V. K.; *et al.* **nNOS immunoreactivity co-localizes with GABAergic and cholinergic neurons, and associates with β -endorphinergic and met-enkephalinergic opioidergic fibers in rostral ventromedial medulla and A5 of the mouse**. Brain Research, v. 1698, p. 170–178, 2018.

CALIXTO, J. B.; *et al.* **Kinin B1 receptors: key G-protein-coupled receptors and their role in inflammatory and painful processes**. British journal of pharmacology, v. 143, n. 7, p. 803-818, 2004.

CAMARATA, P. J.; YAKSH, T. L. **Characterization of the spinal adrenergic receptors mediating the spinal effects produced by the microinjection of morphine into the periaqueductal gray**. Brain Research, v. 336, n. 1, p. 133-142, 1985.

CAMPOS, M. M.; CALIXTO, J. B. **Involvement of B1 and B2 receptors in bradykinin-induced rat paw oedema**. British journal of pharmacology, v. 114, n. 5, p. 1005-1013, 1995.

CARSTENS, E.; WILSON, C. **Rat tail flick reflex: magnitude measurement of stimulus-response function, suppression by morphine and habituation**. Journal of neurophysiology, v. 70, n. 2, p. 630-639, 1993.

CHANG, F. R.; *et al.* **Two new 7-dehydroaporphine alkaloids and antiplatelet action aporphines from the leaves of Annona purpurea**. Phytochemistry, v. 49, n. 7, p. 2015–2018, 1998.

CHARLES, A.; JANEWAY, J. A. R. M.; MEDZHITOV, R. **Innate immune recognition**. Annu Rev Immunol, v. 20, n. 1, p. 197-216, 2002.

CHEN, C. Y.; *et al.* **Ent-Kaurane diterpenoids from Annona glabra**. Journal of Natural Products, v. 63, n. 7, p. 1000–1003, 2000.

CHENG, Y.; *et al.* **Catechin protects against ketoprofen-induced oxidative damage of the gastric mucosa by up-regulating Nrf2 in vitro and in vivo**. The Journal of nutritional biochemistry, v. 24, n. 2, p. 475-483, 2013.

CHOI, S. R.; ROH, D. H.; YOON, S.Y.; CHOI, H. S.; KANG, S. Y.; HAN, H. J.; BEITZ, A. J.; LEE, J. H. **Astrocyte D-serine modulates the activation of neuronal NOS leading to the development of mechanical allodynia in peripheral neuropathy**. Mol Pain. 2019 Jan-Dec; 15:1744806919843046. doi: 10.1177/1744806919843046.

CHUNG, E.; BURKE, B.; BIEBER, A. J.; DOSS, J. C.; OHGAMI, Y.; QUOCK, R. M. **Dynorphinmediated antinociceptive effects of L-arginine and SIN-1 (an NO donor) in mice.** Brain Res. Bull. 70: 245–250, 2006.

CHYAD, A. H.; OMAR S. I.; AHMMED H. **Study the analgesic and anti-inflammatory activity of Zingiber officinale rhizome extract comparison with ibuprofen in male mice.** Kufa Journal for Veterinary Medical Sciences, v. 7, n. 1, 2016.

CLAPHAM, D. E. **TRP channels as cellular sensors** Nature. 4; 426(6966): 517-24. 2003.

CLAPHAM, D. E. **TRP channels as cellular sensors.** Nature, v. 288, p. 169-170, 2003.

Clinical & Experimental Allergy, v. 39, n. 12, p. 1786-800, 2009.

COHEN, M.; QUINTNER, J.; VAN, RYSEWYKM, S. **Reconsidering the International Association for the Study of Pain definition of pain.** Pain. v.3, n. 2, p. 634, 2018.

CONCEIÇÃO, D. F. **Idonilton et al. Interação da Serotonina (5-hidroxitriptamina-5-HT) na Doença Diverticulite.** Revista JRG de Estudos Acadêmicos, v. 5, n. 11, p. 579-589, 2022.

CONCEIÇÃO, S. F.; *et al.* **The immune system throws its traps: cells and their extracellular traps in disease and protection.** Cells, v. 10, n. 8, p. 1891, 2021.

CORBETT, A. D.; HENDERSON, G.; MCKNIGHT, A. T.; PATERSON, S. J. **75 years of opioid research: the exciting but vain search for the holy grail.** Br. J. Pharmacol. 2006; 147: S153–S162. (Revisão histórica abrangente sobre a pesquisa dos opioides)

COSTA, D.; MOUTINHO, L.; LIMA, J. L. F. C.; FERNANDES, E. **Antioxidant Activity and Inhibition of Human Neutrophil Oxidative Burst Mediated by Arylpropionic Acid Non-steroidal Antiinflammatory Drugs.** Biol Pharm Bull. p. 1659-1670, 2006.

COSTANTINO, C. M.; GOMES, I.; STOCKTON, S. D.; LIM, M. P.; DEVI, L. A. **Opioid receptor heteromers in analgesia.** Expert Rev Mol Med, v. 14, p. e9, 2012.

COSTIGAN, M.; BEFORT, K.; KARCHEWSKI, L.; GRIFFIN, R. S.; D'URSO, D.; ALLCHORNE, A.; SITARSKI, J.; MANNION, J. W.; PRATT, R. E.; WOOLF, C. J. **Replicate high-density rat genome oligonucleotide microarrays reveal hundreds of regulated genes in the dorsal root ganglion after peripheral nerve injury.** BMC Neurosci v. 3, p.16, 2002

COSTIGAN, M.; SCHOLZ, J.; WOOLF, C. J. **Neuropathic pain: a maladaptive response of nervous system to damage.** The Annual Review of Neuroscience, v. 32, p. 1-32, 2009.

COUTURE, R.; *et al.* **Kinin receptors in pain and inflammation.** European journal of pharmacology, v.429, n. 1-3, p. 161-176, 2001.

CRIADO, P. R.; *et al.* **Histamina, receptores de histamina e antihistamínicos: novos conceitos.** Review. An Bras Dermatol. São Paulo, v. 85, n. 2, p. 195-210, 2010.

CRUVINEL, W. M.; JÚNIOR, D. M.; ARAÚJO, J. A. P.; CATELAN, T. T. T.; SOUZA, A.W.

S.; SILVA, N. P.; ANDRADE, L. E. C. **Sistema Imunitário – Parte I Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória**. Revista Brasileira de Reumatologia. v.50, n. 4, p. 434-61, 2010

CUNHA, T. M.; *et al.* **Crucial role of neutrophils in the development of mechanical inflammatory hypernociception**. Journal of Leucocyte Biology, v. 83, n. 4, p. 824-832, 2008.

CUNHA, T. M.; *et al.* **Morphine peripheral analgesia depends on activation of the PI3K γ /AKT/nNOS/NO/KATP signaling pathway**. Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 107, n. 9, p. 4442-4447, 2010.

CURY, Y.; *et al.* **Pain and analgesia: The dual effect of nitric oxide in the nociceptive system**. Nitric Oxide, v. 25, n. 3, p. 243–254, 30 out. 2011.

CURY, Y.; PICOLO, G.; GUTIERREZ, V. P.; FERREIRA, S. H. **Pain and analgesia: The dual effect of nitric oxide in the nociceptive system**. Nitric Oxide 25: 243–254, 2011.

DANN, A. B.; HONTELA, A. **Triclosan: Environmental exposure, toxicity and mechanisms of action**. Journal of Applied Toxicology, v. 31, n. 4, p. 285–311, 2011.

DE ESCH, I. J. P.; *et al.* **The histamine H4 receptor as a new therapeutic target for inflammation**. Trends in pharmacological sciences, v. 26, n. 9, p. 462-469, 2005.

DE SANTANA, J. M.; *et al.* **Definição de dor revisada após quatro décadas**. Associação Internacional para Estudo da Dor. São Paulo, 2020. p. 197-98. Disponível em: <<https://sbed.org.br>> Acessado em: 05 de out. 2023.

DELVES, P.; *et al.* **Roitt, Fundamentos da Imunologia**. 12 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2013.

DIAMOND, A.; CONIAM, A. W. **Controlo da dor crónica**. 1 ed. Lisboa: Climepsi. 1999.

DÍAZ-REVAL, M. I.; VENTURA-MARTÍNEZ, R.; HERNÁNDEZ-DELGADILLO, G. P.; DOMÍNGUEZ-RAMÍREZ, A. M.; LÓPEZ-MUNÓZ, F. J. **Effect of Caffeine on Antinociceptive Action of Ketoprofen in Rats**. Arch Med Res. 2001; 32(1): 3-20.

DICKENSON, A. H. **Spinal cord pharmacology of pain**. British Journal of Anaesthesia, v. 75, n. 2, p. 193-200, 1995.

DIREÇÃO-GERAL DA SAÚDE. **Plano Nacional de Luta Contra a Dor**. Direção geral da saúde, ed. 2001. 1- 60 p. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos>>. Acessado em: 22 de set. 2023.

DUARTE, I. D. G.; LORENZETTI, B. B.; FERREIRA, S. H. **Peripheral analgesia and activation of the nitric oxide-cyclic GMP pathway**. European Journal of Pharmacology, v. 186, n. 2-3, p. 289-293, 1990.

- DUARTE, D. F.; DANILO, F. **Uma Breve História do Ópio e dos Opióides**. Revista Brasileira Anestesiologia, v. 55, n.1, p. 135-146, 2005.
- FARMACOPEIA BRASILEIRA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Anvisa, Brasília, v. 2, p. 1265-1269, 2010.
- EISENACH, J. C. **Epidural clonidine analgesia for intractable cancer pain**. Pain, v. 61, p. 391-399, 1995.
- ESMAILI, S.; *et al.* **Core liver homeostatic co-expression networks are preserved but respond to perturbations in an organism-and disease-specific manner**. Cell Systems, v. 12, n. 5, p. 432-445. e7, 2021.
- FARZIN, D.; ASGHARI, L.; NOWROUZI, M. **Rodent antinociception following acute treatment with different histamine receptor agonists and antagonists**. Pharmacology Biochemistry and Behavior. Iran, v. 72, n.3, p. 751-760, 2002.
- FARZIN, D.; NOSRATI, F. **Modification of formalin-induced nociception by different histamine receptor agonists and antagonists**. European neuropsychopharmacology. Iran, v. 17, n. 2, p. 122-128, 2007.
- FEIN, A.; *et al.* **Nociceptores: As células que sentem dor**. Ribeirão Preto – SP: Dor online; 106 p. 2011. Disponível em: <http://www.dol.inf.br/nociceptores>. Acessado em: 28 de out. 2023.
- FELIPINI, R. C.; Vídeo de Inflamação Aguda. Araçatuba: Unesp, 2013. Son., color. Disponível em: <<http://www.youtube.com/watch?v=gqCIIpHIfqw>>. Acesso em: 29 jan. 2023.
- FENG, Y. I.; *et al.* **Gabapentin markedly reduces acetic acid–induced visceral nociception**. Anesthesiology, v. 98, n. 3, p. 729-733, 2003.
- FERREIRA, F. S.; BRITO, S.V.; SARAIVA, R. A.; ARARUNA, M. K. A.; MENEZES, I. R. A.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M.; ALMEIDA, W. O.; ALVES, R. R. N. **Topical anti-inflammatory activity of body fat from the lizard Tupinambis merianae**. J. Ethnopharmacol. v.130, n. 514–520. 2010.
- FERREIRA, S. H.; NAKAMURA, M. II-Prostaglandin hyperalgesia: the peripheral analgesic activity of morphine, enkephalins and opioid antagonists. **Prostaglandins**, v. 18, n. 2, p. 191-200, 1979.
- FERREIRA, W. S. **Utilização da piperina como protótipo na síntese de novos antichagásicos da classe das 1, 3, 4-tiadiazolio-2-fenilaminas**. Dissertação de Mestrado apresentado ao Instituto de Ciências Exatas - UFRRJ, p. 1- 197, 2006.
- VAN ARMAN, C. G. **The edema and increased vascular permeability**. In: Anti-Inflammatory Drugs. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1979. p. 75-91.

FIELDS, H. **State-dependent opioid control of pain.** Nature Reviews Neuroscience, v. 5, n. 7, p. 565-575, 2004.

FIELDS, H. L.; BASBAUM, A. I. Central nervous system mechanisms of pain modulation. **Wall and Melzack's textbook of pain**, p. 125-142, 2005.

FIGUEIREDO, L. M. F.; ALVES, T. C. A. **Uso dos anti-inflamatórios não esteróides no controle da dor aguda: revisão sistemática.** Revista de Neurociência, v. 23, p.463-67, 2015.

FINNERUP, N. B. **Nonnarcotic methods of pain management.** New England Journal of Medicine, v. 380, n. 25, p. 2440-2448, 2019.

FINNERUP, N. B.; KUNER, R.; JENSEN, T. S. **Neuropathic Pain: From Mechanisms to Treatment.** Physiological Reviews, v. 101, n. 1, p. 259–301, 2021.

FIORUCCI, S.; *et al.* **Dual inhibitors of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase. A new avenue in anti-inflammatory therapy?** Biochemical pharmacology, v. 62, n. 11, p. 1433-1438, 2001.

FISCHER, L. G.; *et al.* **Further antinociceptive properties of extracts and phenolic compounds from *Plinia glomerata* (Myrtaceae) leaves.** Biological and Pharmaceutical Bulletin, v. 31, n. 2, p. 235–239, 2008.

FISCHER, M.; *et al.* **The interphase of the formalin test.** Pain, v. 155, n. 3, p. 511–521, 2014.

FITZGERALD, G. A.; RICCIOTTI, E. **Prostaglandins and Inflammation.** Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology, v. 31, n. 5, p. 986-1000, 2011.

FLORA FILHO, R.; ZILBERSTEIN, B. **Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade. Metabolismo, síntese e funções.** Revista da Associação Médica Brasileira, v. 46, n. 3, p. 265–271, set. 2000.

FÖRSTERMANN, U.; SESSA, W. C. **Nitric oxide synthases: regulation and function.** European Heart Journal 33, 829–837, 2012.

FRANCISCHETTI, I.; MORENO, J. B.; SCHOLZ, M.; YOSHIDA, W. B. **Os leucócitos e a resposta inflamatória na lesão de isquemia-reperfusão.** Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery, v. 25, p. 575-584, 2010.

FRANCISCO, G.; HERNÁNDEZ, C.; SIMÓ, R. Serum markers of vascular inflammation in dyslipemia. **Clinica chimica acta**, v. 369, n. 1, p. 1-16, 2006.

GABAY, C.; KUSHNER, I. **Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation.** New England journal of medicine, v. 340, n. 6, p. 448-454, 1999.

GALILI, S. F.; NIKOLAJSEN, L.; PAPADOMANOLAKIS-PAKIS, N. **Subanaesthetic single-dose ketamine as an adjunct to opioid analgesics for acute pain management in the emergency department: a systematic review and meta-analysis.** BMJ open, v. 13, n. 3, p. e066444, 2023.

GARCIA, A. J. C. **Metodologia analítica para determinação de triclosan e clorofenóis por Cromatografia a Líquido de Alta Eficiência (HPLC) e Cromatografia por Injeção Sequencial (SIC) com uso de coluna monolítica e empacotada.** Tese (Doutorado)-UFSC/USP. São Carlos, 2011.

GARCIA, J. B. S.; CARDOSO, M. G. M.; DOS-SANTOS, M. C. **Opioids and the immune system: clinical relevance.** Revista brasileira de anestesiologia, v. 62, p. 713-718, 2012.

GHAMARI, N.; *et al.* **Histamine H3 receptor antagonists/inverse agonists: Where do they go?.** Pharmacology & Therapeutics, v. 200, p. 69-84, 2019.

GEMKOW, M. J.; *et al.* **The histamine H3 receptor as a therapeutic drug target for CNS disorders.** Drug discovery today, v. 14, n. 9-10, p. 509-515, 2009.

GOLAN, D.; *et al.* **Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia.** 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 952 p. 2009.

GOLAN, D.; *et al.* **Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia.** 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 972 p. 2014

GONÇALVES, G. M.; CAPIM, S. L.; VASCONCELLOS, M. L. A. A.; MARINHO, B. G. **Antihyperalgesic effect of [(±) - (2,4,6-cis)-4-chloro-6-(naphthalen-1-yl)-tetrahydro-2H-pyran-2-yl] methanol: participation of the NO/cGMP/KATP pathway and κ-opioid receptor.** Behavioural Pharmacology, v. 27, n. 6, p. 506-515, 2016.

GOZZANI, J. L. **Opióides e antagonistas.** Rev Bras Anesthesiol, v. 44, n. 1, p. 65-73, 1994.

GREGORY, K. M.; *et al.* **Targeting inflammation in emerging therapies for genetic retinal disease.** International Journal of Inflammation, v. 2013, 2013.

GRISHAM, M. B.; YAMADA, T. **Neutrophils, nitrogen oxides, and inflammatory bowel disease.** Annals of the New York Academy of Sciences, v. 664, p. 103-115, 1992.

GROSSER, T.; YU, Y.; FITZGERALD, G. A. **Emotion recollected in tranquility: lessons learned from the COX-2 saga.** Annual review of medicine, v. 61, p. 17-33, 2010.

GUILHERME, B. C.; URQUIZA, H. M. P. **Aplicações clínicas atuais da proteína C reativa.** Rev Med Minas Gerais, v. 16, n. 4, p. 227-233, 2006.

GUGINSKI, G.; *et al.* **Mechanisms involved in the antinociception caused by ethanolic extract obtained from the leaves of *Melissa officinalis* (lemon balm) in mice.** Pharmacology biochemistry and behavior, v. 93, n. 1, p. 10-16, 2009.

GUTIERREZ, V.; ZAMBELLI, V.; PICOLO, G.; CHACUR, M.; SAMPAIO, S.; BRIGATTE, P.; CURY, Y. **The peripheral L-arginine-nitric oxide-cGMP pathway and ATP-sensitive K⁺ channels are involved in the antinociceptive effect of crotalphine on neuropathic pain in rats.** Behavioural pharmacology, v. 23, n. 1, p. 14-24, 2012.

GUTSTEIN, H. B. **Opioid Analgesics**. Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 10. ed. New York: McGraw-Hill. p. 569-619, 2001.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 12. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. xxi, 1151 p.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 973 p.

GWILT, C. R.; DONNELLY, L. E.; ROGERS, D. F. The non-neuronal cholinergic system in the airways: an unappreciated regulatory role in pulmonary inflammation?. **Pharmacology & therapeutics**, v. 115, n. 2, p. 208-222, 2007.

HAAS, P. J.; VAN STRIJP, J. **Anaphylatoxins: their role in bacterial infection and inflammation**. Immunologic research, v. 37, p. 161-175, 2007.

HALEY, J. E.; DICKENSON, A. H.; SCHACHTER, M. **Electrophysiological evidence for a role of nitric oxide in prolonged chemical nociception in the rat**. Neuropharmacology, v. 31, n. 3, p. 251-258, 1992.

HAMMER, G. D.; MCPHEE, S. J. Fisiopatologia da doença: uma introdução a medicina clínica. 7. ed. Porto Alegre: Amgh, 2014.

HAMRICK, K. L.; *et al.* **Multimodal analgesia and opioid use in critically ill trauma patients**. Journal of the American College of Surgeons, v. 228, n. 5, p. 769-775. e1, 2019.

HAN, J.; *et al.* **Modulation of ATP-sensitive potassium channels by cGMP-dependent protein kinase in rabbit ventricular myocytes**. Journal of Biological Chemistry, v. 276, n. 25, p. 22140-22147, 2001.

HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E.; GILMAN, A. G., eds. **Goodman & Gilman as bases farmacológicas da terapêutica**. 10. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, p. A 85-550, 2003.

HARIZI, H.; *et al.* **Arachidonic-acid-derived eicosanoids: roles in biology and immunopathology**. Trends in molecular medicine, v. 14, n. 10, p. 461-469, 2008.

HEERDINK, E. R.; *et al.* **NSAIDs associated with increased risk of congestive heart failure in elderly patients taking diuretics**. Archives of Internal Medicine, v. 158, n. 10, p. 1108-1112, 1998.

HEINZAMNN, B. M.; BARROS, F. M. C. **Potencial das plantas nativas brasileiras para o desenvolvimento de fitomedicamentos tendo como exemplo Lippia alba (Mill.) NE Brown (Verbenaceae)**. Saúde (Santa Maria), v. 33, n. 1, p. 43-48, 2007.

HELLEBREKERS, L. J. **Dor em Animais**. 1. ed. São Paulo: Manole Saúde, p.172, 2002.

TRANQUILLI, W. J.; THURMON, J. C.; GRIMM, K. A. **Veterinary anesthesia and analgesia**. 4. ed. Iowa: Blackwell Publishing, p.31-57, 2007.

HENRIQUES, M. G.; *et al.* **Mouse paw edema. A new model for inflammation?** Brazilian journal of medical and biological research= Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas, v. 20, n. 2, p. 243-249, 1987.

HERMANUSSEN, S.; MYHONG, D.; CABOT, P. J. **Reduction of β -endorphin-containing immune cells in inflamed paw tissue corresponds with a reduction in immune-derived antinociception: reversible by donor activated lymphocytes.** Anesthesia & Analgesia, v. 98, n. 3, p. 723-729, 2004.

HERVERA, A.; LEANEZ, S.; NEGRETE, R.; POL, O. **The peripheral administration of a nitric oxide donor potentiates the local antinociceptive effects of a DOR agonist during chronic inflammatory pain in mice.** Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology, v. 380, p. 345-352, 2009.

HOLLT, V. **Opioid peptide processing and receptor selectivity.** Annual review of pharmacology and toxicology, v. 26, n. 1, p. 59-77, 1986.

HUNSKAAR, S.; HOLE, K. **The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain.** Pain, v. 30, n. 1, p. 103-114, 1987.

HUSTON, J. M.; TRACEY, K. J. **The pulse of inflammation: Heart rate variability, the cholinergic anti-inflammatory pathway and implications for therapy.** Journal of internal medicine, v. 269, n. 1, p. 45-53, 2011.

IKEDA, Y.; UENO, A.; NARABA, H.; OH-ISHI, S. **Involvement of vanilloid receptor VR1 and prostanoids in the acid-induced writhing responses of mice.** Life Science, v. 69, p. 2911- 2919, 2001.

INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR STUDY OF PAIN. **Guia para o Tratamento da Dor em Contextos de Poucos Recursos.** Seattle: IASP Press, 2010. Disponível em: <<http://www.iasp-pain.org/guide>>. Acesso em: 22 de set. 2023.

INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR STUDY OF PAIN. **Definition of pain: concepts, challenges, and compromises.** Seattle: IASP Pain, 2020. <<https://doi.org/10.1097/j.pain>>. Acesso em: 22 de set. de 2023.

INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR STUDY OF PAIN. Seattle: IASP Taxonomy, 2012. **The ACTION-American Pain Society Pain Taxonomy (AAPT): an evidence-based and multidimensional approach to classifying chronic pain conditions.** Disponível em: <<http://www.iasp-pain.org/taxonomy>>. Acesso em: 25 de set. 2023.

JAIN, V.; MURUGANANTHANA, G.; DEEPAK, M.; VISWANATHA, G. L.; MANOHARA, D. **Isolation and standardization of various phytochemical constituents from methanolic extracts of fruit rinds of Punica granatum.** Chinese Journal of Natural

Medicines, v. 9, p. 414–420, 2011.

JANEIRO, I. M. I.; *et al.* **Fisiologia da dor**. 2017. Dissertação de Mestrado.

JAVANMARDI, K. M.; PARVIZ, S. S.; SADR, M.; KESHAVARZ, B. M.; DEHPOUR, A. R. **Involvement of N-methyl-D-aspartate receptors and nitric oxide in the rostral ventromedial medulla in modulating morphine pain-inhibitory signals from the periaqueductal grey matter in rats**. Clinical and experimental pharmacology and physiology, v. 32, n. 7, p. 585-589, 2005.

JONES, S. L.; GEBHART, G. F. **Inhibition of spinal nociceptive transmission from the midbrain, pons and medulla in the rat: activation of descending inhibition by morphine, glutamate and electrical stimulation**. Brain research, v. 460, n. 2, p. 281-296, 1988.

JONES, T. A.; LEE, C. **Effects of several therapeutic agents on mammalian vestibular function: meclizine, diazepam, and JNJ7777120**. Journal of the Association for Research in Otolaryngology, v. 22, n. 5, p. 527-549, 2021.

JONGE, W. J.; ULLOA, L. **The $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor as a pharmacological target for inflammation**. British journal of pharmacology, v. 151, n. 7, p. 915-929, 2007.

JÜRGENS, A.; WEBBER, A. C.; GOTTSBERGER, G. **Floral scent compounds of Amazonian Annonaceae species pollinated by small beetles and thrips**. Phytochemistry, v. 55, n. 6, p. 551–558, 2000.

JURNA, I.; KRAUSS, P.; BALDAUF, J. **Depression by nicotine of pain-related nociceptive activity in the rat thalamus and spinal cord**. The clinical investigator, v. 72, p. 65-73, 1993.

JUTEL, M.; AKDIS, M.; AKDIS, C. A. **Histamine, histamine receptors and their role in immune pathology**. Clinical & Experimental Allergy, v. 39, n. 12, p. 1786-1800, 2009.

KANTOR, T. G. **Ketoprofen: a review of its pharmacologic and clinical properties**. Pharmacotherapy, v. 6, p. 93-103, 1986.

KARLOW, N.; *et al.* **A systematic review and meta-analysis of ketamine as an alternative to opioids for acute pain in the emergency department**. Academic Emergency Medicine, v. 25, n. 10, p. 1086-1097, 2018.

KATZUNG, B. G.; *et al.* **Farmacologia Básica e Clínica**. 13. ed. Porto Alegre: McGraw-Hill, 2017, 1202 p.

KAWASHIMA, K.; FUJII, T. **The lymphocytic cholinergic system and its contribution to the regulation of immune activity**. Life sciences, v. 74, n. 6, p. 675-696, 2003.

KAY-MUGFORD, P.; BENN, S. H.; LAMARRE, J. **In vitro effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on cyclooxygenase activity in dogs.** American Journal of Veterinary Research, v. 61, n. 7, p. 802-810, 2000.

Kim, K.W.; Kim, B. M.; Lee, K. A.; Lee, S. H.; Firestein, G. S.; Kim, H. R. **Histamine and histamine H4 receptor promotes osteoclastogenesis in rheumatoid arthritis.** Scientific reports, v. 7, n. 1, p. 1197, 2017.

KLAUMANN, P. R.; WOUK, A. F. P. F.; SILLAS, T. **Patofisiologia da dor.** Archives of Veterinary Science, v. 13, n. 1, p. 1–12, 2008.

KOROLKOVAS, A.; BURCKHALTER, J. H. **Química farmacêutica.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988, p. 575-593.

KOROLKOVAS, A.; FRANCISCO, F. A. C. F. **Dicionário terapêutico guanabara.** In: Dicionário terapêutico guanabara. 2006. p. 300 - 300.

KOSTER, R.; ANDERSON, M.; DE BEER, E. J. **Acetic acid for analgesic screening.** Federation Proceedings, v. 18, p. 412, 1959.

KOSTERLITZ, H. W.; LORD, J.A.; PATERSON, S. J. **Effects of changes in the structure of enkephalins and of narcotic analgesic drugs on their interactions with μ - and δ -receptors.** British Journal of Pharmacology, v. 68, n. 2, p. 333-342, 1980.

KRAYCHETE, D. C. **Publicação da Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor.** Jornal Dor, v. 28, 2º Trimestre, n. 74, p. 8-11, 2020.

KUMAR, V.; ABBAS, A.; ASTER, J. **Robbins & Cotran Patologia: Bases Patológicas.** 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. 1480 p.

KUMAR, V.; ABBAS, A.; ASTER, J. **Robbins & Cotran Patologia: Bases Patológicas.** 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016. 1421 p.

KUMAR, P.; *et al.* **An overview of methods of fine and ultrafine particle collection for physicochemical characterisation and toxicity assessments.** Science of the total environment, v. 756, p. 143553, 2021.

KUMMER, C. L.; COELHO, T. C. R. B. **Antiinflamatórios não esteróides inibidores da ciclooxigenase-2 (COX-2): aspectos atuais.** Revista Brasileira de Anestesiologia, v. 52, p. 498-512, 2002.

KURAISHI, Y.; *et al.* **Separate involvement of the spinal noradrenergic and serotonergic systems in morphine analgesia: the differences in mechanical and thermal algesic tests.** Brain Research, v. 273, n. 2, p. 245–252, 1983.

KUNER, R. **Central mechanisms of pathological pain.** Nature medicine, v. 16, n. 11, p. 1258-1266, 2010.

KWAK, J.Y.; JUNG, J.Y.; HWANG, S.W.; LEE, W.T. **A capsaicina-receptor antagonista capsazepine, reduces inflammation-induced hyperalgesic responses in the rat: evidence for na endogenous capsaicina-loke substance.** Neuroscience, v. 86, n. 2, p. 619-626, 1998.

LAFERRIERE, C. A.; PANG, D. S. J. **Review of intraperitoneal injection of sodium pentobarbital as a method of euthanasia in laboratory rodents.** Journal of the American Association for Laboratory Animal Science, v. 59, n. 3, p. 254-263, 2020.

LAMONT, L. A. **Adjunctive analgesic therapy in veterinary medicine.** Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, v. 38, n. 6, p. 1187-1203, 2008.

LAMONT, L. A. **Multimodal pain management in veterinary medicine: the physiologic basis of pharmacologic therapies.** Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, v. 38, n. 6, p. 1173-1186, 2008.

LE BARS, D.; GOZARIU, M.; CADDEN, S. **Animal models of nociception.** Pharmacological Reviews, v. 53, p. 628–651, 2001.

LESCH, K. P.; WAIDER, J. **Serotonin in the modulation of neural plasticity and networks: implications for neurodevelopmental disorders.** Neuron, v. 76, n. 1, p. 175-191, 2012.

LEVOIN, N.; BLONDEAUA, C.; GUILLAUMEA, C.; GRANDCOLAS, L.; CHRETIENB, F.; JOUZEUAU, J. Y.; BENOIT, E.; CHAPLEUR, Y.; NETTER, P.; LAPICQUEA, F. **Elucidation of the mechanism of inhibition of cyclooxygenases by acyl-coenzyme A and acylglucuronic conjugates of ketoprofen.** Biochem Pharmacol, v. 68, n. 10, p. 1957-1969, 2004.

LIMA, L. M. **Química medicinal moderna: desafios e contribuição brasileira.** Química Nova, v. 30, p. 1456-1468, 2007.

LORKE, D. **A new approach to practical acute toxicity testing.** Archives of toxicology, v. 54, p. 275-287, 1983.

LOZANO-CUENCA, J.; CASTANEDA-HERNANDEZ, G.; GRANADOS-SOTO, V. **Peripheral and spinal mechanisms of antinociceptive action of lumiracoxib.** European journal of pharmacology, v. 513, n. 1-2, p. 81-91, 2005.

LUENGO, M. B. **Uma revisão histórica dos principais acontecimentos da imunologia e da farmacologia na busca do entendimento e tratamento das doenças inflamatórias.** Revista Eletrônica de Farmácia, v. 2, n. 2, p. 64-72, 2005.

LUNA, S. P. L.; ANGELI, A. L.; FERREIRA, C. L.; LETTRY, V.; SCOGNAMILLO-SZABÓ, M. **Comparison of pharmacopuncture, aquapuncture and acepromazine for sedation of horses.** Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, Oxford, v. 5, p. 267-272, 2006.

MAAS, P. J. M.; WESTRA, L. Y. T. **Studies in Annonaceae. II. A monographs of the genus Anaxagorea A. St. Hil. Part 2.** Mededelingen van het Botanisch Museum en Herbarium van de Rijksuniversiteit te Utrecht, v. 105, p. 145–204, 1985.

MACHADO, Y.; COELHO, N. J.; LORDEIRO, R. A.; SILVA, M. F.; PICCIN, E. **Profile of new psychoactive substances (NPS) and other synthetic drugs in seized materials analysed in a Brazilian forensic laboratory.** Forensic Toxicology, v. 37, n. 1, p. 265-271, 2019.

MATTOS, R.W.; SILVEIRA, D.; FERREIRA, V. M.; CALIXTO, J. B.; SANTOS, A. R. **Mechanisms involved in the antinociception caused by ethanolic extract obtained from the leaves of *Melissa officinalis* (lemon balm) in mice.** Pharmacology biochemistry and behavior, v. 93, n. 1, p. 10-16, 2009.

MACHELSKA, H.; MOUSA, S. A.; BRACK, A. *et al.* **Opioid control of inflammatory pain regulated by intercellular adhesion molecule-1.** Journal of Neuroscience, v. 22, n. 13, p. 5588-5596, 2002.

MACHELSKA, H.; STEIN, C. **Immune mechanisms in pain control.** Anesthesia & Analgesia, v. 95, n. 4, p. 1002-1008, 2002.

MAJIDINEJAD, S.; ESMAILIAN, M.; EMADI, M. **Comparison of intravenous ketamine with morphine in pain relief of long bones fractures: a double blind randomized clinical trial.** Emergency, v. 2, n. 2, p. 77, 2014.

Mantyh, P. W.; Koltzenburg, M.; Mendell, L. M.; Tive, L.; Shelton, D. L. **Antagonism of nerve growth factor-TrkA signaling and the relief of pain.** The Journal of the American Society of Anesthesiologists, v. 115, n. 1, p. 189-204, 2011.

MANWORREN, R. C. B. Multimodal pain management and the future of a personalized medicine approach to pain. **AORN journal**, v. 101, n. 3, p. 307-318, 2015.

MARINHO, B. G.; MIRANDA, L. S. M.; MEIRELES, B. A.; VASCONCELLOS, M. L. A.; MATHEUS, M. E.; PEREIRA, V. L. P.; FERNANDES, P. D. **Antinociceptive activity of (-) - (2S,6S) - (6-ethyl-tetrahydropyran-2-yl)-formic acid on acute pain in mice.** Behavioural Pharmacology, v. 22, n. 5 and 6, p. 564-572, 2011.

MARINHO, B. G.; MIRANDA, L. S. M.; COSTA, J. S.; LEITÃO, S. G.; VASCONCELLOS, M. L. A. A.; PEREIRA, V. L. P.; FERNANDES, P. D. **The antinociceptive properties of the novel compound (±)-trans-4-hydroxy-6-propyl-1-oxocyclohexan-2-one in acute pain in mice.** Behavioural Pharmacology, v. 24, n.1, p.10-19, 2013.

MARMITT, D. J.; *et al.* **Plantas medicinais da RENISUS com potencial anti-inflamatório: revisão sistemática em três bases de dados científicas.** Revista Fitos, v. 9, n. 2, p. 129–144, 2015.

- MARQUES, I.; *et al.* **Detection of traces of triclosan in water.** Applied Surface Science, v. 421, p. 142-147, 2017.
- MARSHALL, J. C.; *et al.* **Measures, markers, and mediators: toward a staging system for clinical sepsis.** A report of the Fifth Toronto Sepsis Roundtable, Toronto, Ontario, Canada, October 25–26, 2000. Critical care medicine, v. 31, n. 5, p. 1560-1567, 2003.
- MARTIN, W. R. **Pharmacology of opioids.** Pharmacological reviews, v. 35, n. 4, p. 283-323, 1983.
- MARTINEZ, A. R.; MARIN, J. R. **Role of vascular nitric oxide in physiological and pathological conditions.** Pharmacology & therapeutics, v. 75, n. 2, p. 111-134, 1997.
- MATTINEZ, J. E.; GRASSI, D. C.; MARQUES, L. G. Análise da aplicabilidade de três instrumentos de avaliação de dor em distintas unidades de atendimento: ambulatório, enfermaria e urgência. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 51, p. 304-308, 2011.
- MARTINEZ, J. E.; MACEDO, A. C.; PINHEIRO, D. F. C. Perfil clínico e demográfico dos pacientes com dor músculo-esquelética crônica acompanhados nos três níveis de atendimento de saúde de Sorocaba. **Acta Fisiatrica**, v. 11, p. 67-71, 2004.
- MATHEWS, K.; KRONEN, P. W.; LASCELLES, D.; NOLAN, A.; ROBERTSON, S.; STEAGALL, P.; WRIGHT, B.; YAMASHITA, K. **Guidelines for recognition, assessment and treatment of pain.** Journal of Small Animal Practice, v. 55, p. E10-E68, 2014.
- MAURER, M.; *et al.* **New topics in bradykinin research.** European Journal of Allergy and Clinical Immunology. v. 66, n. 11, p. 1397-1406. 2011.
- MÁZAK, K.; HOSZTAFI, S.; RÁCZ, Á.; NOSZÁL, B. **Structural and physicochemical profiling of morphine and related compounds of therapeutic interest.** Mini Reviews in Medicinal Chemistry, v. 9, n. 8, p. 984-995, 2009.
- MAZZONI, A.; YOUNG, H.; SPITZER, J.; VISINTIN, A.; SEGAL, D. **Histamine regulates cytokine production in maturing dendritic cells, resulting in altered T cell polarization.** The Journal of clinical investigation, v. 108, n. 12, p. 1865-1873, 2001.
- MCCLEANE, G. J.; SUZUKI, R.; DICKENSON, A. H. **Does a single intravenous injection of the 5HT3 receptor antagonist ondansetron have an analgesic effect in neuropathic pain? A double-blinded, placebo-controlled cross-over study.** Anesthesia & Analgesia, v. 97, n. 5, p. 1474-1478, 2003.
- MCNAMARA, C. R.; *et al.* **TRPA1 mediates formalin-induced pain.** Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 104, n. 33, p. 13525-13530, 2007.
- MCINTYRE, P. **The VR1 antagonist capsazepine reverses mechanical hyperalgesia in models of inflammatory and neuropathic pain.** Journal of pharmacology and experimental

therapeutics, v. 304, n. 1, p. 56-62, 2003.

MEDZHITOV, R. **Origin and physiological roles of inflammation.** Nature, v. 454, n. 7203, p. 428-435, 2008.

MEHTA, P.; MISZTA, P.; RZODKIEWIEZ, O.; KRZEEZRÍSKI, P.; FILIPEK, S. **Enigmatic histamine receptor H4 for potential treatment of multiple inflammatory, autoimmune, and related diseases.** Life, v. 10, n. 4, p. 50, 2020.

MEILER, F.; ZUMKEHR, J.; KLUNKER, S.; RUCHERT, B.; AKDIS, C. A.; AKDIS, M. **In vivo switch to IL-10-secreting T regulatory cells in high dose allergen exposure.** The Journal of experimental medicine, v. 205, n. 12, p. 2887-2898, 2008.

MENDES, R. T.; STANCZYK, C. P.; SORDI, R.; OTUKI, M. F.; SANTOS, F. A.; FERNANDES, D. **Selective inhibition of cyclooxygenase-2: risks and benefits.** Revista Brasileira de Reumatologia, v. 52, n. 5, p. 767-782, 2012.

MERCADANTE, S.; GIARRATANO, A. **The long and winding road of non steroidal antiinflammatory drugs and paracetamol in cancer pain management: a critical review.** Critical Reviews in Oncology/Hematology, v. 87, n. 2, p. 140-145, 2013.

MERICKEL, A.; EDWARDS, R. H. **Transport of histamine by vesicular monoamine transporter-2.** Neuropharmacology, v. 34, n. 11, p. 1543-1547, 1995.

MESSLINGER, K.; *et al.* **Effects of the 5-HT₁ receptor agonists sumatriptan and CP 93,129 on dural arterial flow in the rat.** European journal of pharmacology, v. 332, n. 2, p. 173-181, 1997.

MICLESCU, A.; GORDH, T. **Nitric oxide and pain: "Something old, something new".** Acta Anaesthesiologica Scandinavica, v. 53, n. 9, p. 1107-1120, 2009.

MILANO, J.; *et al.* **Antinociceptive effect of novel trihalomethyl-substituted pyrazoline methyl esters in formalin and hot-plate tests in mice.** European Journal of pharmacology, v. 581, n. 1-2, p. 86-96, 2008.

MILLAN, M. J. **Descending control of pain.** Progress in neurobiology, v. 66, n. 6, p. 355-474, 2002.

MILLAN, M. J. **The induction of pain: An integrative review.** Progress in neurobiology, v. 57, n. 1, p. 1-164, 1999.

MILLAN, M. J. **The role of descending noradrenergic and serotonergic pathways in the modulation of nociception: focus on receptor multiplicity.** In: The pharmacology of pain. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1997. p. 385-446.

MILLAN, M. J. **Descending control of pain.** Progress in neurobiology, v. 66, n. 6, p. 355-474, 2002.

- MIZUSHIMA, T. **Molecular mechanism for various pharmacological activities of NSAIDS.** Pharmaceuticals, v. 3, n. 5, p. 1614-1636, 2010.
- MOALEM, G.; TRACEY, D. J. **Immune and inflammatory mechanisms in neuropathic pain.** Brain research reviews, v. 51, n. 2, p. 240-264, 2006.
- MOALEM, G.; TRACEY, D. J. **Immune and inflammatory mechanisms in neuropathic pain.** Brain Research Review, v. 52, n. 3, p. 240-264, 2006.
- MOFFAT, R.; RAE, C. P. Anatomy, physiology and pharmacology of pain. **Anaesthesia & intensive care medicine**, v. 12, n. 1, p. 12-15, 2011.
- MOHAMAD, A. S.; AKHTAR, M. N.; ZAKARIA, Z. A.; PERIMAL, E. K.; KHALID, S.; MOHD, P. A.; KHALID, M. H.; ISRAF, D. A.; LAJIS, N. H.; SULAIMAN, M. R. **Antinociceptive activity of a synthetic chalcone, flavokawin B on chemical and thermal models of nociception in mice.** European Journal of Pharmacology. v. 647, n. 1 – 3, p. 103 – 109, 2010.
- MOMMERT, S.; *et al.* **Expression of histamine receptors H2R and H4R are predominantly regulated via the IL-4/IL-13 receptor type II on human M2 macrophages.** Allergy, v. 76, n. 9, p. 2886-2890, 2021.
- MONTANARI, C. A. **A química medicinal na próxima década.** Química Nova, v. 23, p. 134-137, 2000.
- MONTFORT, W. R.; WALES, J. A.; WEICHSEL, A. **Structure and activation of soluble guanylyl cyclase, the nitric oxide sensor.** Antioxidants & redox signaling, v. 26, n. 3, p. 107-121, 2017.
- MORAES, C. A. P.; MOREIRA, M. A. L.; ARAUJO, M. C. R. **Toxicidade de triclosan em desodorantes.** InterfacEHS, v. 10, n. 2, 2015.
- MOREIRA, A. S.; LEITE, C. T.; MENTA, S. A. **Adaptações para prevenir seqüelas em pacientes hospitalizados com queimaduras nos membros superiores, pescoço e tronco sob o ponto de vista da terapia ocupacional.** Revista Multitemas, v. 3, n. 23, p. 113-120, 2001.
- MOULIN, P.; *et al.* **Identification and subcellular localization of the Na⁺/H⁺ exchanger and a novel related protein in the endocrine pancreas and adrenal medulla.** Journal of molecular endocrinology, v. 38, n. 3, p. 409-422, 2007.
- MWOBOBIA, R. M.; KANUI, T. I.; ABELSON, K. S. P. **The effects of clonidine and yohimbine in the tail flick and hot plate tests in the naked mole rat (*Heterocephalus glaber*).** BMC Research Notes, v. 14, p. 1-5, 2021.
- NAPIMOGA, C. J. T.; PELLEGRINI-DA-SILVA, A.; FERREIRA, V. H.; NAPIMOGA, M. H.; PARADA, C. A.; TAMBELI, C. H. **Gonadal hormones decrease temporomandibular**

joint kappa-mediated antinociception through a down-regulation in the expression of kappa opioid receptors in the trigeminal ganglia. European journal of pharmacology, v. 617, n. 1-3, p. 41-47, 2009.

NEPALI, K.; SHARMA, S.; SHARMA, M.; BEDI, P. M. S.; DHAR, K. L. **Rational approaches, design strategies, structure activity relationship and mechanistic insights for anticancer hybrids.** European journal of medicinal chemistry, v. 77, p. 422-487, 2014.

NILIUS, B.; *et al.* **Transient receptor potential cation channels in disease.** Physiological reviews, v. 87, n. 1, p. 165-217, 2007.

NICOUD, M. B.; FORMOSO, K.; MEDINA, V. A. **Pathophysiological role of histamine H4 receptor in cancer: therapeutic implications.** Frontiers in pharmacology, v. 10, p. 556, 2019.

NUUTINEN, S.; PANULA, P. **Histamine in neurotransmission and brain diseases.** Histamine in Inflammation, p. 95-107, 2010.

OCAÑA, M.; *et al.* **Potassium channels and pain: present realities and future opportunities.** European journal of pharmacology, v. 500, n. 1-3, p. 203-219, 2004.

ODA, T.; MORIKAWA, N.; SAITO, Y. **Molecular cloning and characterization of a novel type of histamine receptor preferentially expressed in leukocytes.** Journal of Biological Chemistry, v. 275, n. 47, p. 36781-36786, 2000.

OLIVEIRA, M. C.; *et al.* **O uso crônico de anti-inflamatórios não-esteroidais e seus efeitos adversos.** Cadernos da Medicina-UNIFESO, v. 2, n. 2, 2019.

OLIVEIRA, B. H.; SANT'ANA, A. E. G.; BASTOS, D. Z. L. **Determination of the diterpenoid, kaurenoic acid, in Annona glabra by HPLC.** Phytochemical Analysis, v. 13, n. 6, p. 368-371, 2002.

OLIVEIRA, C. M. B.; *et al.* **Citocinas y dolor.** Revista Brasileira de Anestesiologia, v. 61, p. 260-265, 2011.

OLIVEIRA, F. T. **Avaliação das vias colinérgica e nitrérgica no efeito antinociceptivo da corrente interferencial em modelo animal de dor inflamatória.** Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas), Universidade Federal de Sergipe. Sergipe, p.72. 2019.

OLIVEIRA, R. B.; *et al.* **Antinociceptive effect of the ethanolic extract of Amburana cearensis (Allemão) AC Sm., Fabaceae, in rodents.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 19, p. 672-676, 2009.

OSSIPOV, M. H.; DUSSOR, G. O.; PORRECA, F. **Central modulation of pain.** The Journal of clinical investigation, v. 120, n. 11, p. 3779-3787, 2010.

- PANULA, P.; CHAZOT, P.; COWART, M. **International union of basic and clinical pharmacology. XCVIII. Histamine receptors.** Pharmacological reviews, v. 67, n. 3, p. 601-655, 2015.
- PARADA, C. A.; *et al.* **The major role of peripheral release of histamine and 5-hydroxytryptamine in formalin-induced nociception.** Neuroscience, v. 102, n. 4, p. 937-944, 2001.
- PARRISH, W.; ROSAS-BALLINA, M. **Modulation of TNF release by choline requires $\alpha 7$ subunit nicotinic acetylcholine receptor-mediated signaling.** Molecular medicine, v. 14, n. 9, p. 567-574, 2008.
- PARVEEN, Z.; DENG, Y.; SAEED, M. K.; DAI, R.; AHAMAD, W.; YU, Y. H. **Antiinflammatory and analgesic activities of Thesium chinese Turcz extracts and its major flavonoids, kaempferol and kaempferol-3-O-glucoside.** Yakugaku Zasshi, v. 127, p. 1275-1279, 2007.
- PASSANI, M. B.; LINS, J. S.; HANCOCK, A. **The histamine H3 receptor as a novel therapeutic target for cognitive and sleep disorders.** Trends in pharmacological sciences, v. 25, n. 12, p. 618-625, 2004.
- PAVLOV, V. A.; TRACEY, K. J. **The cholinergic anti-inflammatory pathway.** Brain, behavior, and immunity, v. 19, n. 6, p. 493-499, 2005.
- PEDERSEN, S. F.; OWSIANIK, G.; NILIUS, B. **TRP channels: an overview.** Cell calcium, v. 38, n. 3-4, p. 233-252, 2005.
- PEIXOTO, R. F.; *et al.* **Controle da dor pós-operatória em cirurgia oral: revisão de literatura.** Revista Brasileira de Ciências da Saúde, v. 15, n. 4, p. 465-470, 2011.
- PICCIOTTO, M. R.; *et al.* **Nicotinic receptors in the brain: links between molecular biology and behavior.** Neuropsychopharmacology, v. 22, n. 5, p. 451-465, 2000.
- PIMENTA, C. A. M.; TEIXEIRA, M. J. **Dor no idoso: atendimento domiciliar um enfoque gerontológico.** São Paulo: Atheneu, p.373-87, 2000.
- PORTH, C. M.; GROSSMAN, S. P. **Fisiopatologia.** 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.1672, 2015.
- PRADO, M. A. M.; REIS, R. A. M.; PRADO, V. F.; MELLO, M. C.; GOMEZ, M. V.; MELLO, F. G. **Regulation of acetylcholine synthesis and storage.** Neurochemistry international, v. 41, n. 5, p. 291-299, 2002.
- RAJA, S. N.; *et al.* **The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises.** Pain, v. 161, n. 9, p. 1976-1982, 2020.
- RAHBARDAR, M. G.; AMIN, B.; MEHRI, S.; MIRNAJAFI-ZADEH, S. J.;

HOSSEINZADEH, H. **Anti-inflammatory effects of ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis* L. and rosmarinic acid in a rat model of neuropathic pain.** Biomedicine & Pharmacotherapy, v. 86, p. 441-449, 2017.

RAMAN, M.; CHEN, W.; COBB, M. H. **Differential regulation and properties of MAPKs.** Oncogene, v. 26, n. 22, p. 3100-3112, 2007.

RANG, H. P.; RITTER, J. M.; DALE, M. M. *Farmacologia*. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.p.703.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M; MOORE, P. K. **Rang & Dale farmacologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. p. 609.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M; MOORE, P. K. **Rang & Dale farmacologia**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. p. 808.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M; MOORE, P. K. **Rang & Dale farmacologia**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016. p. 760.

REGÖS, J.; *et al.* **Antimicrobial spectrum of triclosan, a broad-spectrum antimicrobial agent for topical application: ii. comparison with some other antimicrobial agents.** Dermatology, v. 158, n. 1, p. 72-79, 1979.

REIS, G. M. L.; DUARTE, I. D. G. **Baclofen, an agonist at peripheral GABAB receptors, induces antinociception via activation of TEA-sensitive potassium channels.** British journal of pharmacology, v. 149, n. 6, p. 733-739, 2006.

REISNER, H. **Patologia: uma abordagem por estudos de casos**. Porto Alegre: McGraw Hill, 2015. p. 624.

REN, K.; BAI, G.; DUBNER, R. **Epigenetic regulation of persistent pain.** Translational Research, v. 165, n. 1, p. 177-199, 2015.

REN, S. M.; KHAN, N. **Neurotrophins and neuropathic pain: role in pathobiology.** Molecules, v. 20, n. 6, p. 10657-10688, 2015.

REXRODE, K. M.; PRADHAN, A.; MANSOS, J. E.; BURING, J. E.; RIDKER, P. M. **Relationship of total and abdominal adiposity with CRP and IL-6 in women.** Annals of epidemiology, v. 13, n. 10, p. 674-682, 2003.

RITTNER, H.; LABUZ, D.; MOUSA, S. A.; SCHAFER, M.; STEIN, C.; BRACK, A. **Pain control by CXCR2 ligands through Ca²⁺-regulated release of opioid peptides from polymorphonuclear cells.** The FASEB journal, v. 20, n. 14, p. 2627-2629, 2006.

RITTER, H. L.; LUX, C.; LABUZ, D.; MOUSA, S. A.; SCHAFER, M.; BRACK, A. **Neurokinin-1 receptor antagonists inhibit the recruitment of opioid-containing leukocytes**

and impair peripheral antinociception. The Journal of the American Society of Anesthesiologists, v. 107, n. 6, p. 1009-1017, 2007.

ROBBINS, S.; COTRAN, R. S. **Patologia bases patológicas das doenças.** 8. ed. São Paulo: Livromed Paulista, p. 1592-1592, 2005.

ROBBINS, S.; COTRAN, R. S. **Patologia: Bases patológicas das doenças.** 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 1458, 2010.

ROBERTS, R. G. D.; *et al.* **Nicotinic acetylcholine receptors on capsaicin-sensitive nerves.** Neuroreport, v. 6, n. 11, p. 1578-1582, 1995.

ROCHA, E. M.; PRKACHIN, K. M. **Temperament and pain reactivity predict health behavior seven years later.** Journal of Pediatric Psychology, v. 32, n. 4, p. 393-399, 2007.

ROMERO-REYES, M.; PARDI, V.; AKERMAN, S. **A potent and selective calcitonin gene-related peptide (CGRP) receptor antagonist, MK-8825, inhibits responses to nociceptive trigeminal activation: role of CGRP in orofacial pain.** Experimental neurology, v. 271, p. 95-103, 2015.

ROSAS-BALLINA, M.; OCHANI, M.; PARRISH, W.; OCHANI, K.; HARRIS, Y.; CHAVAN, S.; TRACEY, K. **Splenic nerve is required for cholinergic antiinflammatory pathway control of TNF in endotoxemia.** Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 105, n. 31, p. 11008-11013, 2008.

ROSAS-BALLINA, M.; OLOFSSON, P. S.; OCHANI, M.; VALDES-FERRER, S. I.; LEVINE, Y. A.; REARDON, C.; TUSCHE, M. W.; PAVLOV, V. A.; ANDERSSON, U.; CHAVAN, S.; MAK, T. W.; TRACEY, K. J. **Acetylcholine-synthesizing T cells relay neural signals in a vagus nerve circuit.** Science, v.334, n.6052, p.98-101, 2011.

SACHS, D.; CUNHA, F. Q.; FERREIRA, S. H. **Peripheral analgesic blockade of hypernociception: activation of arginine/NO/cGMP/protein kinase G/ATP-sensitive K⁺ channel pathway.** Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 101, n. 10, p. 3680-3685, 2004.

SAKATA, R.; ISSY, A. **Nomenclatura e classificação da dor.** Guias de Medicina Ambulatorial e Hospitalar/Unifesp–Dor. 2. ed. Barueri, SP: Manole, p. 1-4, 2008.

SANDOVAL, A. C.; *et al.* **O uso indiscriminado dos anti-Inflamatórios não esteroidais (AINES).** Revista Científica FAEMA, v. 8, n. 2, p. 165, 2017.

SANDKÜHLER, J. **Neurobiology of spinal nociception: new concepts.** Progress in Brain Research, v. 110, p. 207-224, 1996.

SANTOS, C. L.; RAFACHO, A.; BOSQUEIRO, J. R. **Efeitos da administração de dexametasona in vivo sobre glicemia, insulinemia e substratos circulantes são dependentes**

do tempo de tratamento. Bioscience Journal, v. 23, p.101-110, 2007.

SAWYNOK, J. **Topical and peripherally acting analgesics.** Pharmacological reviews, v. 55, n. 1, p. 1-20, 2003.

SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA DOR. SBED. **Classificação.** Disponível em: <http://www.sbed.org.br/lermais_materias.php?>. Acessado em: 19 de set. 2023.

SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA DOR. SBED. **Tratado de Dor.** Disponível em: < www.sbed.org.br>. Acessado em 19 de set. 2023.

SCHALLEMBERGER, J. B.; PLETSCH, M. U. **Riscos do uso indiscriminado de anti-inflamatórios não esteroidais (AINES).** Salão do Conhecimento, v. 2, n. 01, 2014.

SCHAIBLE, H. G.; RICHTER, F. **Pathophysiology of pain.** Langenbeck's archives of surgery, v. 389, p. 237-243, 2004.

SCHESTATSKY, P. **Definição, diagnóstico e tratamento da dor neuropática.** Revista HCPA, v. 28, n. 3, p. 177-187, 2008.

SCHMIDTKO, A. **Nitric oxide-mediated pain processing in the spinal cord.** Handbook of Experimental Pharmacology, v. 227, p. 103–117, 2015.

SILVA, J. C.; *et al.* **Modelos experimentais para avaliação da atividade antinociceptiva de produtos naturais: uma revisão.** Revista Brasileira de Farmácia, v. 94, n. 1, p. 18–23, 2013.

SILVA, R. H. M.; *et al.* **Antinociceptive activity of Borreria verticillata: In vivo and in silico studies.** Frontiers in Pharmacology, v. 8, n. 5, p. 283, 2017.

SILVA, R. N. F.; PEREIRA, L. C. G. **O uso de antiinflamatórios esteroidais e não esteroidais no controle da dor e do edema em cirurgia de terceiros molares.** Revista Bahiana de Odontologia, v. 1, n. 7, p.31-9, 2016.

SIMONE, J. L.; *et al.* **Comparative analysis of preemptive analgesic effect of dexamethasone and diclofenac following third molar surgery.** Brazilian oral research, v.27, n. 3, p. 266-271, 2013.

SIQUEIRA, J. T. T. **Porque a Dor é uma questão também de Saúde Pública! Sociedade Brasileira para Estudo da Dor (SBED).** Disponível em < <http://sbed.org.br/duvidas-frequentes-2/dor-no-brasil/>>, acessado em: 19 de set. 2023, v. 22, n. 4, 2019.

SOARES, A. C.; DUARTE, I. D. **Dibutyl- γ -cyclic GMP induces peripheral antinociception via activation of ATP-sensitive K^+ channels in the rat PGE₂-induced hyperalgesic paw.** British journal of pharmacology, v. 134, n. 1, p. 127-131, 2001.

SOARES, A. C.; LEITE, R.; TATSUO, M. A.; DUARTE, I. D. **Activation of ATP-sensitive K^+ channels: mechanism of peripheral antinociceptive action of the nitric oxide donor, sodium nitroprusside.** European journal of pharmacology, v. 400, n. 1, p. 67-71, 2000.

SOJA, P. J.; *et al.* **Transmission through the dorsal spinocerebellar and spinoreticular tracts wakefulness versus thiopental anesthesia.** *Anesthesiology*, v. 97, n. 5, p. 1178–1188, 2002.

SOMMER, C. **Serotonin in pain and analgesia: actions in the periphery.** *Molecular neurobiology*, v. 30, p. 117-125, 2004.

SHAHID, M.; *et al.* **Biomedical aspects of histamine.** New York: Springer, 2010.

SHAJIB, M. S.; KHAN, W. I. **The role of serotonin and its receptors in activation of immune responses and inflammation.** *Acta physiologica*, v. 213, n. 3, p. 561-574, 2015.

SOREQ, H.; SEIDMAN, S. **Acetylcholinesterase- new roles for an old actor.** *Nature Reviews Neuroscience*, v. 2, n. 4, p. 294-302, 2001.

STEFANO, G. B.; SCHARRER, B.; SMITH, E. M.; HUGHES, T. K. J.; MAGAZINE, H. I.; BILFINGER, T.V.; HARTMAN, A. R.; FRICCHIONE, G. I.; LIU, Y.; MAKMAN, M. H. **Opioid and opiate immunoregulatory processes.** *Critical Reviews™ in Immunology*, v. 37, n. 2-6, p. 231-270, 2017.

STEIN, C.; LANG, L. J. **Peripheral mechanisms of opioid analgesia.** *Current opinion in pharmacology*, v. 9, n. 1, p. 3-8, 2009.

STEIN, C.; CLARK, J. D.; VASKO, M. R.; WILCOX, G. L.; OVERLAND, A. C.; ANDERAH, T. W.; SPENCER, R. H. **Peripheral mechanisms of pain and analgesia.** *Brain research reviews*, v. 60, n. 1, p. 90-113, 2009.

SUNDSTRÖM, G.; DREBORG, S.; LARHAMMAR, D. **Concomitant duplications of opioid peptide and receptor genes before the origin of jawed vertebrates.** *Plos one*, v. 5, n. 5, p. e10512, 2010.

SZALLASI, A.; CORTRIGHT, D. N.; BLUM, C. A.; EID, S. R. **The vanilloid receptor TRPV1: 10 years from channel cloning to antagonist proof-of-concept.** *Nature reviews drug discovery*, v. 6, n. 5, p. 357-372, 2007.

TALKE, P. O.; TRABER, D. L.; RICHARDSON, C. A. **The effect of $\alpha 2$ agonist-induced sedation and its reversal with an $\alpha 2$ antagonist on organ blood flow in sheep.** *Anesthesia & Analgesia*, v. 90, n. 5, p. 1060-1066, 2000.

TAVARES, T. I. A. **Riscos e benefícios dos anti-inflamatórios não esteróides inibidores seletivos da ciclo-oxigenase 2.** 2012. Tese de Doutorado. Universidade Fernando Pessoa (Portugal).

TEIXEIRA, M. J.; MARCON, R. M.; ROCHA, R. **Dor: Epidemiologia, Fisiopatologia, Avaliação, Síndromes Dolorosas e Tratamento.** 1. ed. São Paulo: Grupo Editorial Moreira Júnior, p. 1-7, 2001.

TEIXEIRA, D. A.; *et al.* **Proteína C-reativa: associação entre inflamação e complicações pós-infarto agudo do miocárdio em idosos.** Revista Brasileira de Clínica Médica, v.7. p. 24-26, 2009.

THANGAM, E. B.; JEMIMA, E. A.; SINGH, H.; BAIG, M. S.; KHAN, M.; MATHIAS, C. B. **The role of histamine and histamine receptors in mast cell-mediated allergy and inflammation: the hunt for new therapeutic targets.** Frontiers in immunology, v. 9, p. 1873, 2018.

THEOHARIDES, T. C.; *et al.* **Mast cells and inflammation.** Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease, v. 1822, n. 1, p. 21-33, 2012.

THOMAZZI, S. M.; SILVA, C. B.; SILVEIRA, D. C. R.; VASCONCELLOS, C. L. C.; LIRA, A. F.; CAMBUI, E. V. F.; ESTEVAM, C. S.; ANTONIOLLI, A. R. **Antinociceptive and anti-inflammatory activities of Bowdichia virgilioides (sucupira).** Journal of Ethnopharmacology, v. 127, n. 2, p. 451 - 456, 2010.

TORRES, R. C.; *et al.* **Mecanismos celulares e moleculares da ação antiinflamatória dos glicocorticoides.** Corpus et Scientia, v.8, n.2, p.36-51, out. 2012.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia.** 12. ed. Porto Alegre: Artmed, p. 964, 2017.

TOXICITY- UP, A. O. **The guideline for testing of chemicals: 420 acute oral toxicity.** Organisation for Economic Co-Operation and Development: Paris: France, p. 1-6, 2001.

TRACEY, K. J. **Reflex control of immunity.** Nature Reviews Immunology, v. 9, n. 6, p. 418-428, 2009.

TRACEY, K. J. **Fat meets the cholinergic antiinflammatory pathway.** The Journal of experimental medicine, v. 202, n. 8, p. 1017-1021, 2005.

TRACEY, K. J.; *et al.* **Physiology and immunology of the cholinergic antiinflammatory pathway.** The Journal of clinical investigation, v. 117, n. 2, p. 289-296, 2007.

TRACEY, I.; MANTYH, P. W. The Cerebral Signature for Pain Perception and its modulation. **Neuron**, v. 55, n. 3, p. 377-391, 2007.

TREEDE, R. D.; RIEF, W.; BARKE, A.; AZIZ, Q.; BENNETT, M. I.; BENOLIEL, R. A classification of chronic pain for ICD-11. **Pain**, v. 156, n. 6, p. 1003-1007, 2015.

TRINDADE, H. I.; BATISTA, M. C. S.; SILVA, L. L. B. **Dor: mecanismos envolvidos na sua transmissão e recursos terapêuticos aplicados à sua inibição.** Medicina Veterinária (UFRPE), v. 7, n. 4, p. 18, 2013.

TRESGUERRES, J.; PRIETO, S. **Fisiología del hueso.** Fisiología humana. 3. ed. España: McGraw-Hill Interamericana, p. 981-94, 2005.

- TURINI, M. E.; DUBOIS, R. N. **Cyclooxygenase-2: a therapeutic target**. Annual review of medicine, v. 53, n. 1, p. 35-57, 2002.
- UBIALI, N. A. **Do latim ao português sem dicionário**. Londrina: UEL, v. 1. 115p .1998.
- UENO, A.; *et al.* **Intrinsic prostacyclin contributes to exudation induced by bradykinin or carrageenin: a study on the paw edema induced in ip-receptor-deficient mice**. Life Science, v. 66, n. 12, p.155-160, 2000.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency) (2007) An analysis of laboratory and observational field data characterizing cumulative exposure to pesticides, EPA 600/R-07/013. Environmental Protection Agency, U.S. Research Triangle Park, NC, 27711, USA.
- VAN ARMAN, C. G. **The edema and increased vascular permeability**. In: Anti-Inflammatory Drugs. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, p. 75-91, 1979.
- VARDEH, D.; MANNION, R.; WOOLF, C. J. Toward a mechanism-based approach to pain diagnosis. The Journal of Pain, v. 17, n. 9, p. T50-T69, 2016.
- VEIGA, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. **Medicinal plants: safe cure?** Quimica Nova, v. 28, n. 3, p. 519–528, 2005.
- VERGOTE, G. J.; VERVAET, C.; VAN DRIESSCHE, I.; HOSTE, S.; DE SMEDT, S. **In vivo evaluation of matrix pellets containing nanocrystalline ketoprofen**. International journal of pharmaceutics, v. 240, n. 1-2, p. 79-84, 2002.
- VERMA, P. R.; *et al.* **Antinociceptive activity of alcoholic extract of Hemidesmus indicus R. Br. in mice**. J Ethnopharmacol, v. 102, p. 298–301, 2005.
- VERRI, W. A.; *et al.* **Hypernociceptive role of cytokines and chemokines: targets for analgesic drug development?**. Pharmacology & therapeutics, v. 112, n. 1, p. 116-138, 2006.
- VIGIL, S. V.; *et al.* **Efficacy of tacrolimus in inhibiting inflammation caused by carrageenan in a murine model of air pouch**. Transpl Immunol, v. 19, n. 1, p. 25-9, 2008.
- VINGSKES, A. K.; SPANN, N. **The toxicity of a mixture of two antiseptics, triclosan and triclocarban, on reproduction and growth of the nematode Caenorhabditis elegans**. Ecotoxicology, v. 27, n. 4, p. 420–429, 2018.
- VOSCOPOULOS, C.; LEMA, M. **When does acute pain become chronic?**. British journal of anaesthesia, v. 105, n. suppl_1, p. i69-i85, 2010.
- WALKER, K. M.; URBAN, L.; MEDHURST, S. J.; PATEL, S.; PANESAR, M.; FOX, A. J. **The VR1 antagonist capsazepine reverses mechanical hyperalgesia in models of inflammatory and neuropathic pain**. Journal of pharmacology and experimental therapeutics, v. 304, n. 1, p. 56-62, 2003.

WARNCKE, T.; STUBHAUG, A.; JORUM, E. **Ketamine, an NMDA receptor antagonist, suppresses spatial and temporal properties of burn-induced secondary hyperalgesia in man; a double-blind, cross-over comparison with morphine and placebo.** *Pain*, v. 72, n. 1-2, p. 99-106, 1997.

WIDGEROW, A. D.; KALARIA, S. **Pain mediators and wound healing—establishing the connection.** *Burns*, v. 38, n. 7, p. 951-959, 2012.

WIDMAIER, E. P.; RAFF, H.; STRANG, K. T. **Vander, Sherman & Luciano fisiologia humana: os mecanismos das funções corporais.** 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 795, 2006.

WILLIAMS, A. C. C.; CRAIG, K. D. **Updating the definition of pain.** *Pain*, v. 157 n. 11, p. 2420-2423, 2016.

WOOLF, C. J. **Nociceptors-noxious stimulus detectors.** *The Journal Neuron*, v. 55, n. 3, p. 353-364, 2007.

WOOLF, C. J. **What is this thing called pain?** *The Journal of clinical investigation*, v. 120, n. 11, p. 3742-3744, 2010.

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

WOOLF, C. J.; SALTER, M. W. **Neuronal plasticity: increasing the gain in pain.** *Science*, v. 288, n. 5472, p. 1765-1768, 2000.

WU, J. T.; WU, L. L. **Linking inflammation and atherogenesis: Soluble markers identified for the detection of risk factors and for early risk assessment.** *Clinica chimica acta*, v. 366, n. 1-2, p. 74-80, 2006.

YE, J. H.; MUI, W. C.; REN, J. **Ondansetron exhibits the properties of a local anesthetic.** *Anesthesia & Analgesia*, v. 85, n. 5, p. 1116-1121, 1997.

ZOLI, M.; *et al.* **Developmental regulation of nicotinic ACh receptor subunit mRNAs in the rat central and peripheral nervous systems.** *Journal of Neuroscience*, v. 15, n. 3, p. 1912-1939, 1995.

ZHANG, H.; *et al.* **Bcl-2 family proteins are essential for platelet survival.** *Cell Death & Differentiation*, v. 14, n. 5, p. 943-951, 2007.