

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

WAGNER HUMMIG

ESTUDO DOS EFEITOS DA PREGABALINA EM DIFERENTES MODELOS DE
DOR OROFACIAL

CURITIBA

2014

WAGNER HUMMIG

ESTUDO DOS EFEITOS DA PREGABALINA EM DIFERENTES MODELOS DE
DOR OROFACIAL

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Farmacologia, no Programa de Pós Graduação em Farmacologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Juliana Geremias Chichorro

CURITIBA

2014



PARECER

A Comissão Examinadora da Dissertação de Mestrado intitulada "ESTUDO DOS EFEITOS DA PREGABALINA EM DIFERENTES MODELOS DE DOR OROFACIAL", de autoria do pós-graduando **WAGNER HUMMIG**, sob orientação da Prof.^a Dr.^a Juliana Geremias Chichorro e composta pelos professores: Prof.^a Dr.^a Juliana Geremias Chichorro (Presidente - Farmacologia - UFPR); Prof. Dr. Aleksander Roberto Zamprônio (Farmacologia – UFPR) e Prof. Dr. José Stechman Neto (Odontologia – UTP/PR), reuniu-se e, de acordo com o Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, o pós-graduando foi APROVADO. Para a devida publicação o trabalho deverá sofrer as modificações sugeridas, que serão conferidas por sua orientadora. Em Curitiba, 08 de abril de 2014.

Prof.ª Dr.ª Juliana Geremias Chichorro (Presidente - Farmacologia - UFPR)

Prof. Dr. Aleksander Roberto Zamprônio (Farmacologia – UFPR)

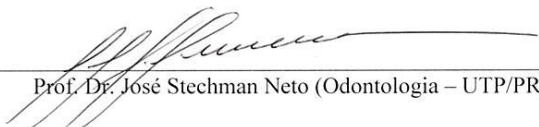
Prof. Dr. José Stechman Neto (Odontologia – UTP/PR)



1 **ATA DO JULGAMENTO DA 93ª DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**
2 Ao oitavo dia do mês de abril do ano de dois mil e quatorze, às nove horas, no Auditório
3 do Departamento de Farmacologia, do Anexo I, do Setor de Ciências Biológicas da
4 Universidade Federal do Paraná, reuniu-se a Comissão Examinadora da Dissertação de
5 Mestrado de autoria do pós-graduando **WAGNER HUMMIG**, intitulada "ESTUDO DOS
6 EFEITOS DA PREGABALINA EM DIFERENTES MODELOS DE DOR
7 OROFACIAL", sob orientação da Prof.^a Dr.^a Juliana Geremias Chichorro e composta pelos
8 professores: Prof.^a Dr.^a Juliana Geremias Chichorro (Presidente - Farmacologia - UFPR);
9 Prof. Dr. Aleksander Roberto Zamprônio (Farmacologia – UFPR) e Prof. Dr. José
10 Stechman Neto (Odontologia – UTP/PR). A Banca Examinadora iniciou os trabalhos. O
11 candidato teve quarenta e cinco minutos para expor oralmente seu trabalho, sendo em
12 seguida arguido durante trinta minutos por cada um dos membros da Banca e tendo trinta
13 minutos para responder a cada uma das arguições. No final da sessão, a Comissão
14 Examinadora emitiu o seguinte parecer: APROVADO. De acordo com o
15 Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, o pós-graduando foi
16 aprovado. Para a publicação, o trabalho deverá sofrer as modificações sugeridas, que serão
17 conferidas por sua orientadora. Nada mais havendo a tratar, a Presidente deu por encerrada
18 a sessão, da qual foi lavrada a presente ata, que será assinada pela Presidente e pelos
19 demais Membros da Banca Examinadora em Curitiba, 08 de abril de 2014.


Prof.^a Dr.^a Juliana Geremias Chichorro (Presidente - Farmacologia - UFPR)


Prof. Dr. Aleksander Roberto Zamprônio (Farmacologia – UFPR)


Prof. Dr. José Stechman Neto (Odontologia – UTP/PR)

Hummig, Wagner

Estudo dos efeitos da pregabalina em diferentes modelos de dor orofacial
/ Wagner Hummig – Curitiba, 2014.

69 f. ; 30 cm

Orientadora: Professora Dra. Juliana Geremias Chichorro
Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Farmacologia,
Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do
Paraná, 2014.

Inclui bibliografia

1. Pregabalina. 2. Dor orofacial. 3. Câncer.4. Constrição de nervo infraorbital.

I. Chichorro, Juliana Geremias. II. Universidade Federal do Paraná.

III. Título.

CDD 615.1

AGRADECIMENTOS

À minha querida orientadora Prof.^a Dr.^a Juliana Geremias Chichorro pela orientação, apoio, amizade e por seus ensinamentos valiosos incondicionais durante a realização deste mestrado;

À amiga Caroline Machado Kopruszinski por participar intensamente em meu crescimento acadêmico, auxiliando-me em experimentos, sempre com disposição e companheirismo;

Aos membros da banca examinadora Prof. Dr. Aleksander Roberto Zamprônio e Prof. Dr. José Stechman Neto por terem aceito o convite e por suas considerações, as quais contribuíram para a melhoria deste trabalho;

Aos professores e funcionários do Departamento de Farmacologia e ao biotério da UFPR, sempre solícitos;

Aos amigos do laboratório de Farmacologia da Dor da UFPR pela amizade formada, pelos momentos de alegria e companheirismo;

A todos amigos do Programa de Mestrado e Doutorado em Farmacologia da UFPR que fizeram parte da minha história nesta instituição;

À minha querida e amada esposa Simone Lustosa Hummig pelo apoio incondicional em todos momentos de minha vida;

Aos meus pais Bruno e Carmem pelo amor e incentivo;

Aos meus irmãos Wesley e Weber por seus conselhos e orações;

Aos animais que foram o substrato deste trabalho e que deram suas vidas em prol da ciência;

À Fundação Araucária pelo suporte financeiro.

“Louvai ao Senhor! Louvai ao Senhor, porque ele é bom, porque a sua
benignidade é para sempre”

Salmos 106:1

RESUMO

A pregabalina é um anticonvulsivante que atua através da ligação à subunidade $\alpha_2\delta$ dos canais de cálcio dependentes de voltagem ($\text{CaV}\alpha_2\delta$), presentes nas terminações pré-sinápticas de neurônios do sistema nervoso periférico e central. Esta droga já foi aprovada para o tratamento de dores neuropáticas tais como neuropatia periférica diabética, neuralgia pós-herpética e dor neuropática de origem central. Em adição, existem evidências de que a pregabalina pode ser útil no controle de dores que afetam o sistema trigeminal. Portanto, o objetivo deste estudo é investigar o efeito antinociceptivo da pregabalina em diferentes modelos de dor orofacial. Como modelos de dor aguda foram utilizados os testes de capsaicina e formalina orofacial, bem como avaliação da hiperalgesia térmica induzida por carragenina. Os modelos de dor persistente empregados neste estudo foram a constrição do nervo infraorbital, um modelo de dor neuropática trigeminal, e a indução de câncer facial por inoculação de células do tumor Walker-256. A injeção de capsaicina (2 $\mu\text{g}/50 \mu\text{L}$) no lábio superior dos animais provocou um aumento significativo do tempo de grooming facial, o qual foi abolido pelo pré-tratamento dos animais com pregabalina nas doses de 10 e 30 mg/kg). O pré-tratamento dos animais com pregabalina nas mesmas doses não afetou a fase I da resposta à formalina orofacial (2,5%/ 50 μL), mas ambas as doses reduziram significativamente a fase II da resposta. Em adição, o pré-tratamento com pregabalina (10 e 30 mg/kg) reduziu a hiperalgesia térmica induzida por carragenina (100 $\mu\text{g}/50 \mu\text{L}$, s.c., lábio superior), bem como a hiperalgesia térmica induzida por constrição do nervo infraorbital e associada ao câncer facial. Esses resultados em conjunto sugerem que a pregabalina pode representar uma importante ferramenta no controle de dores faciais com diferentes etiologias.

Palavras-chave: pregabalina, dor inflamatória, capsaicina, carragenina, formalina, câncer, constrição de nervo infraorbital.

ABSTRACT

Pregabalin is an anticonvulsant that binds to the $\alpha_2\text{-}\delta$ subunit of voltage-dependent calcium channels ($\text{CaV}\alpha_2\delta$), located in the pre-synaptic ending of peripheral and central nervous system neurons. This drug was already approved for the treatment of several neuropathic pain conditions such as diabetic neuropathic pain, post-herpetic neuralgia and central neuropathic pain. Additionally, there is growing evidence that pregabalin can be useful in the treatment of pain that affect the trigeminal system. Thus, the aim of the present study is to investigate the antinociceptive effect of pregabalin in different models of orofacial pain. The acute pain models employed were the orofacial capsaicin and formalin tests, as well as the assessment of thermal hyperalgesia induced by carrageenan. The models of persistent pain employed in the present study were the constriction of the infraorbital nerve, a model of trigeminal neuropathic pain, and the induction of facial cancer by Walker 256 tumor cells inoculation. The injection of capsaicin (2 $\mu\text{g}/50 \mu\text{L}$) into the upper lip of rats evoked a significant increase in the facial grooming time, which was abolished by pregabalin pre-treatment (at 10 and 30 mg/kg). The pre-treatment of animals with pregabalin at the same doses failed to reduce the first phase of response evoked by formalin (2,5%/ 50 μL), also injected into the upper lip, but both doses caused a significant reduction of phase II of formalin response. Additionally, the pre-treatment with pregabalin (10 and 30 mg/kg) reduced the thermal hyperalgesia induced by carrageenan (100 $\mu\text{g}/50 \mu\text{L}$, s.c., into the upper lip), as well as the thermal hyperalgesia induced by infraorbital nerve constriction and associated to facial cancer. Altogether, our results suggest that pregabalin may represent an important tool in the control of facial pain with different underlying mechanisms.

Key words: pregabalin, orofacial pain, capsaicin, carrageenan, formalin, cancer, infraorbital nerve constriction.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – MEDIADORES INFLAMATÓRIOS E SUA PARTICIPAÇÃO NA NOCICEPÇÃO.....	17
TABELA 2 – RESUMO COMPARATIVO DOS RESULTADOS OBTIDOS	52

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 –INFLUÊNCIA DA PREGABALINA NA NOCICEPÇÃO INDUZIDA POR CAPSAICINA.....	39
FIGURA 2 – INFLUÊNCIA DA PREGABALINA E MORFINA NA NOCICEPÇÃO OROFACIAL INDUZIDA POR FORMALINA.....	40
FIGURA 3 – INFLUÊNCIA DA PREGABALINA NA HIPERALGESIA TÉRMICA INDUZIDA POR CARAGENINA.....	41
FIGURA 4 – INFLUÊNCIA DA PREGABALINA NA HIPERALGESIA TÉRMICA INDUZIDA POR COSNTRIÇÃO DE NERVO INFRAORBITAL.....	43
FIGURA 5 – INFLUÊNCIA DA PREGABALINA NA HIPERALGESIA TÉRMICA DECORRENTE DA INOCULAÇÃO DE CÉLULAS TUMORAIS.....	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATP – Adenosina Trifosfato

AMPC – Adenosina Monofosfato Cíclico

AINES – Anti-inflamatório não Esteroidal

ANOVA- Análise de Variância de uma Via

ATP- Adenosina Trifosfato

CaV - Canais de Cálcio Dependentes de Voltagem

CaV $\alpha_2\delta$ -1 – Subunidade alfa-2-delta-1 dos Canais de Cálcio Dependentes de Voltagem

CEUA - Comitê de Ética no Uso de Animais

CFA – Adjuvante Completo de Freund

CGRP- Peptídeo Relacionado ao Gene da Calcitonina

CION - Constrição do Nervo Infraorbital

COX – Ciclooxygenase

EDTA - Ácido Etileno Diamino Tetracético

GABA – Ácido Gama Amino Butírico

IASP – Associação Internacional para o Estudo da Dor

IL - Interleucina

I.P – Intraperitoneal

LTM – Mecanorreceptores de Baixo Limiar (Low-Threshold Mechanoreceptors)

NaV – Canais de Sódio Dependentes de Voltagem

NGF – Fator de Crescimento Nervoso (Nerve Grow Factor)

NSP – Núcleo Sensorial Principal

NT – Neuralgia Trigeminal

NTE- Núcleo do Trato Espinhal

PBS – Fosfato de Salina Tamponada (Phosphate-Buffered Saline)

PG – Prostaglandina

PGB – Pregabalina

TNF- Fator de Necrose Tumoral

S.C – Subcutâneo

SG – Substância gelatinosa

SNC – Sistema Nervoso Central

SNP – Sistema Nervoso Periférico

SP- Substância P

RPM – Rotações por minuto

TRPV1 - Receptor de Potencial Transitório do Tipo Vanilóide 1

TRPA1 – Receptor de Potencial Transitório com Domínios Anquirina1

VIP - peptídeo intestinal vasoativo

V.O – Via Oral

WDR – Neurônios de Limiar Dinâmico e Amplo (Wide Dynamyc Range)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
1.1 SISTEMA SENSORIAL TRIGEMINAL	11
1.2 DORES AGUDAS E INFLAMATÓRIAS	15
1.3 DOR NEUROPÁTICA	19
1.4 DOR ASSOCIADA AO CÂNCER	22
1.5 CONTROLE FARMACOLÓGICO DAS DORES OROFACIAIS	24
1.6 PREGABALINA	27
2 OBJETIVOS	31
2.1 OBJETIVO GERAL	31
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
3 MATERIAL E MÉTODOS	32
3.1 MATERIAL	32
3.1.1 Animais	32
3.1.2 Drogas e reagentes	32
3.2 MÉTODOS	33
3.2.1 Teste da capsaicina orofacial	33
3.2.2 Teste da formalina orofacial	33
3.2.3 Avaliação da hiperalgesia térmica orofacial	34
3.2.4 Hiperalgesia térmica orofacial induzida pela carragenina	34
3.2.5 Hiperalgesia térmica orofacial induzida por constrição do nervo infraorbital	34
3.2.6 Manutenção e inoculação das células tumorais Walker-256	35
3.2.7 Hiperalgesia térmica em modelo de câncer facial	36
3.2.8 Protocolos experimentais	36
3.2.9 Análise estatística	37
4 RESULTADOS	38
5 DISCUSSÃO	45
6 CONCLUSÃO	51
REFERÊNCIAS	54

1 INTRODUÇÃO

1.1 SISTEMA SENSORIAL TRIGEMINAL

O nervo trigêmeo é o quinto par dos doze nervos cranianos, possuindo características sensitivas e motoras e sendo considerado o maior dos nervos cranianos com distribuição cefálica exclusiva. A raiz motora distribui-se nos músculos temporais, pterigóideos, masseteres, milo-hióideo, porção ventral anterior do digástrico, tensor do tímpano e levantador do palato. A raiz sensitiva inerva a dura-mater, a pele da face e de uma parte do crânio, as mucosas ocular e nasal (com seus prolongamentos sinusais), a mucosa bucal, a mucosa lingual, sistema dental e a parte anterior da orelha externa e da membrana do tímpano (GÓES, 2008).

O nervo trigêmeo divide-se nos ramos oftálmico (ou ramo V1) e maxilar (ou ramo V2, os quais são puramente sensoriais e mandibular (ou ramo V3 o qual possui características sensoriais e motoras). Esses ramos são responsáveis pela inervação sensorial e motora da face (SESSLE, 2005). O ramo oftálmico inerva a região frontal, globo ocular, órbita, dorso do nariz e também regiões de mucosa nasal e paranasais. O ramo maxilar inerva a asa do nariz, região geniana, lábio superior e região da arcada dental superior, palato duro, vestibulo oral superior, seio maxilar e nasofaringe. Por fim, o ramo mandibular inerva o lábio inferior, arcada dental inferior, dois terços distais da língua, vestibulo oral inferior, região pré-auricular, metade anterior da região temporal, porção anterior do conduto auditivo externo e parte do pavilhão da orelha (SESSLE, 2005; FRIED *et al.*, 2001).

As fibras nervosas sensoriais que compõem o nervo trigêmeo são classificadas em relação ao diâmetro e velocidade de condução em fibras A (beta e delta) e fibras-C. As fibras A-beta conduzem informações táteis e proprioceptivas, mas não são ativadas por estímulos que produzem dor. Por outro lado, as fibras A-delta (mielinizadas) e as fibras-C (amielinizadas) são ativadas por

estímulos nocivos e, portanto conduzem a informação de dor. Os nociceptores A-delta, apresentam diâmetro de 2 a 5 μm , e velocidade de condução de 5 a 30 m/s e respondem a estímulos mecânicos e térmicos. As fibras C, também denominadas de nociceptores polimodais apresentam diâmetro menor que 2 μm , velocidade de condução de 0,4 a 1,4 m/s e são ativadas por estímulos mecânicos, térmicos e químicos (DUBIN & PATAPOUTIAN, 2010).

As fibras sensoriais supracitadas possuem seus corpos celulares no gânglio do trigêmeo, também chamado glânglio de Gasser e, ao serem ativadas, transmitem a informação recebida desde a periferia até um complexo de núcleos somatossensoriais localizados no tronco cerebral. Estes núcleos sensoriais dividem-se em núcleo sensorial principal (NSP) e núcleo do trato espinhal (NTE).

Na região lateral do tegmento pontino médio localiza-se o NSP estendendo-se rostralmente por 4 a 5 mm. Sua extremidade rostral localiza-se a menos de 1 mm da extremidade caudal do nervo motor do trigêmeo e, caudalmente, margeia o subnúcleo *oralis* do trato espinhal. A principal função do NSP é a modulação de estímulos relacionados ao processamento de sensações táteis e a transmissão de estímulos proprioceptivos, conduzidos através das fibras A beta (DUBIN & PATAPOUTIAN, 2010). No entanto, recentemente tem sido sugerido que o NSP, em especial sua porção dorsal, esteja envolvido também na transmissão de estímulos nociceptivos provenientes de densas projeções de fibras A delta e fibras C das estruturas orais, as quais convergem para a porção dorsal do NSP (BAE & YOSHIDA, 2011). O NTE é dividido em três subnúcleos: *oralis*, *interpolaris* e *caudalis*, com base em suas diferenças funcionais e citoarquitetura (OLSZEWSKI, 1950).

Anatomicamente, o subnúcleo *oralis* localiza-se na região da ponte e na porção rostral da medula oblonga, sendo que rostralmente é uma continuação do núcleo sensorial principal (NSP) e, caudalmente, faz divisa com a porção rostral do subnúcleo *interpolaris*. Este subnúcleo recebe informações proprioceptivas das fibras A beta e nociceptivas através de aferências de fibras A delta e de fibras C provenientes do subnúcleo *caudalis*, por meio de interneurônios (SESSLE, 2006; BAE & YOSHIDA, 2011).

O subnúcleo *interpolaris* localiza-se anatomicamente na medula oblonga, sendo que rostralmente faz divisa com o subnúcleo *oralis* e, caudalmente, com o subnúcleo *caudalis*. Recebe principalmente informações conduzidas via fibras A delta (SESSLE, 2006).

O subnúcleo *caudalis* é o maior dos núcleos somatossensoriais do trigêmeo e está localizado na região caudal do núcleo do trato espinhal. Possui uma característica extremamente importante pelo fato de ser contínuo com a medula espinhal cervical, especificamente na altura da primeira vértebra cervical (C1), sendo uma estrutura dividida em lâminas assim como a medula espinhal. Sua principal função é o processamento da maioria das informações nociceptivas provenientes das regiões orofaciais, pois é nesse subnúcleo, mais especificamente nas suas lâminas I, II, V e VI, que ocorrem as projeções da maioria das fibras de pequeno e médio diâmetro, responsáveis pela condução de estímulos nociceptivos (DUBNER *et al.*, 1978; SVENSSON & SESSLE, 2004). Portanto, considera-se que o subnúcleo *caudalis* é a principal área de convergência de impulsos nociceptivos provenientes da face (DOSTROVSKY, 2006; SESSLE, 2005).

As características anatômicas, fisiológicas e neuroquímicas do subnúcleo *caudalis* apresentam semelhanças com aquelas do corno posterior da medula em sua estrutura laminada, numa área que é crítica na transmissão da nocicepção espinhal. Devido à sua semelhança funcional e estrutural com o corno posterior da medula, o subnúcleo *caudalis* é também denominado “corno dorsal bulbar” (SESSLE, 2005).

Uma característica importante do subnúcleo *caudalis* é que na lâmina II tem-se a presença da substância gelatinosa, tal como encontrado no corno dorsal da medula, porém ausente no subnúcleo *oralis* e *interpolaris*. Na substância gelatinosa encontram-se vários interneurônios, inclusive inibitórios, que atuam controlando a passagem de informações nociceptivas das fibras aferentes primárias para os neurônios de segunda ordem, como também interneurônios que se comunicam com outros subnúcleos (BAE & YOSHIDA, 2011; para revisão ver CHICHORRO, 2006). É importante salientar que o subnúcleo *caudalis* apresentam

similaridade em relação ao sistema de comporta, descrito para o corno dorsal da medula espinhal. Neste sistema proposto de modulação endógena da dor sugere-se que a ativação de as fibras de grande calibre tentam reduzir a amplitude dos potenciais nociceptivos gerando um potencial negativo nas raízes sensitivas fechando o portão, ao passo que as fibras de pequeno calibre tendem a facilitar a transmissão nociceptiva abrindo o portão (MELZAK & KATZ, 2013). Além disso, o *subnúcleo caudalis* apresenta a maior concentração de mediadores químicos importantes na transmissão nociceptiva, tais como substância P, peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), glutamato, bem como receptores importantes na modulação da condução de estímulos nociceptivos, tais como receptores gabaérgicos, serotoninérgicos e opioidérgicos (SESSLE, 2000; SVENSSON & SESSLE, 2004; para revisão ver CHICHORRO, 2006).

Nos subnúcleos *oralis*, *interpolaris* e *caudalis* ocorre a sinapse dos neurônios de primeira ordem, ou seja, das fibras aferentes primárias, com os neurônios de segunda ordem. Os neurônios de segunda ordem que transmitem os impulsos nociceptivos para os centros superiores podem ser classificados em: neurônios nociceptivos específicos, isto é, que respondem exclusivamente a impulsos provenientes de fibras nociceptivas, os neurônios de limiar dinâmico e amplo (*WDR – Wide Dynamic Range*) que respondem a impulsos de fibras táteis e nociceptivas, isto é são ativados tanto por estímulos inócuos como nocivos; e os mecanorreceptores de baixo limiar (*LTM – low-threshold mechanoreceptors*), os quais são ativados apenas por estímulos mecânicos inócuos e podem dar informações precisas sobre a localização, intensidade e duração dos estímulos mecânicos orofaciais (DOSTROVSKY, 2006; CALDERON *et al.*, 2009).

Os axônios dos neurônios de segunda ordem, os quais conduzem as informações nociceptivas, cruzam para o lado contralateral e ascendem através do trato trigêmeino-talâmico para diferentes regiões do tálamo (DOSTROVSKY, 2006).

Dentro das estruturas centrais, o tálamo é uma das mais importantes para a condução dos estímulos nociceptivos. A partir do tálamo, neurônios de terceira ordem projetam-se para o córtex cerebral resultando no processamento dos aspectos cognitivos e afetivos da dor (para revisão ver JULIUS & BASBAUM,

2001). As informações orofaciais periféricas táteis são conduzidas para regiões medianas do tálamo, de onde são projetadas ao córtex somato-sensorial, região responsável por discriminar a localização dos estímulos (para revisões ver SESSLE 2006; TANG *et al.*, 2009). Já as informações nociceptivas, além de serem conduzidas para regiões medianas do tálamo também são transferidas para outras estruturas, tais como hipocampo e córtex cingulado anterior (para revisões ver SESSLE 2006; TANG *et al.*, 2009).

A transmissão dos estímulos nociceptivos pode ainda ser modulada por vias descendentes de origem no tronco cerebral. Esse sistema envolve regiões como substância cinzenta periaquedutal, núcleo magno da rafe e estruturas adjacentes ao bulbo rostral ventromedial que, através de conexões entre si e diferentes neurotransmissores, inibem ou facilitam a transmissão nociceptiva (HAMMOND, 1986; JULIUS & BASBAUM, 2001).

1.2 DORES AGUDAS E INFLAMATÓRIAS

O comitê de taxonomia da Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP) conceitua dor como “experiência sensorial e emocional desagradável decorrente ou descrita em termos de lesões teciduais reais ou potenciais”.

Num conceito mais detalhado, dor é a percepção de uma sensação nociceptiva, induzida por estímulos físicos/químicos, de origem exógena, assim como por disfunções psicológicas, tendo como base um mecanismo biopsicossocial, causando emoções normalmente desagradáveis, com possibilidades de graus variados de comportamentos aversivos (MARQUEZ, 2011).

A dores podem ser classificadas temporalmente de duas maneiras distintas entre aguda e crônica; a dor aguda, também chamada adaptativa, apresenta valor biológico fundamental de caráter protetivo, pois alerta para a ocorrência de uma lesão tecidual em vias de se instalar ou já instalada, induzindo no indivíduo reações de defesa, de fuga ou de remoção do agente causal (PERGOLIZZE,

2013; ESIN & YALCIN, 2014). Por outro lado, a dor crônica, também denominada mal-adaptativa, perde este caráter biológico tornando-se uma situação patológica, sendo que a dor persiste mesmo na ausência de lesão (ESIN & YALCIN, 2014).

O nociceptor periférico pode ser ativado por estímulo térmico, mecânico e químico. Uma vez que o estímulo periférico tenha cessado, a razão mais provável para a continuação do impulso nociceptivo é neuroquímica, e existe uma variedade de substâncias endógenas que podem acumular-se nas proximidades dos nociceptores após uma lesão tecidual. A fonte destes mediadores químicos pode ser as próprias células lesionadas, células que migram para o local da lesão ou tem origem no plasma e acumulam-se no local da lesão devido ao extravasamento plasmático (JULIUS & BASBAUM, 2001).

Esses eventos são característicos das dores de origem inflamatória, as quais são resultado de uma lesão tecidual e conseqüente síntese e liberação de inúmeros mediadores químicos, tais como bradicinina, substância P (SP), prostaglandinas (PG), histaminas, citocinas e aminas simpatomiméticas. Estes mediadores químicos podem agir diretamente sobre os nociceptores, ativando-os e/ou sensibilizando-os (PERGOLIZZE, 2013). Além disso, alguns desses mediadores são capazes de produzir vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, o que contribui para o processo inflamatório local (WINKELSTEIN, 2004).

Os principais mediadores que participam da nocicepção inflamatória bem como algumas características que devem ser ressaltadas sobre os mesmos estão relacionados na tabela 1 (modificado de PEREIRA, 2006).

MEDIADORES INFLAMATÓRIOS	AÇÃO SOBRE OS NOCICEPTORES	CARACTERÍSTICAS E EFEITOS	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA
Substância P	Ativação e/ ou Sensibilização	Hiperalgisia direta e indireta por atuação em receptores NK-1, sinergismo com o glutamato	(Teoh <i>et al.</i> , 1996) (Carlton <i>et al.</i> , 1998) (Furst, 1999) (Lofgren <i>et al.</i> , 1999) (Turnbach & Randich, 2002)
Prostaglandinas	Sensibilização e/ou ativação	Hiperalgisia em modelos de dor inflamatória e neuropática, sensível aos inibidores da ciclooxigenase	(Malmberg & Yaksh, 1995) (Hay <i>et al.</i> , 1997) (Syriatowicz <i>et al.</i> , 1999) (Totani <i>et al.</i> , 1999) (Sherwood & Toliver-Kinsky, 2004)
NO (óxido nítrico)	Sensibilização	Indução de analgesia ou hiperalgisia, dependente da concentração. Associado ao estresse oxidativo	(Okuda <i>et al.</i> , 2001) (Sousa & Prado, 2001) (Doursout <i>et al.</i> , 2003) (Benoliel <i>et al.</i> , 2007)
Bradicinina	Ativação e/ ou Sensibilização	Hiperalgisia mediada por receptores B2 constitutivos e B1 induzidos, além do aumento da síntese de outros mediadores em modelos de dor aguda e crônica (neuropática). Sensibilização de receptores TRPV1	(Steranka <i>et al.</i> , 1988) (Ferreira <i>et al.</i> , 1993) (Lopes <i>et al.</i> , 1993) (Andreeva & Rang, 1993) (Mathis <i>et al.</i> , 1996) (Austin <i>et al.</i> , 1997) (Dray, 1997) (Marceau <i>et al.</i> , 1998) (Ni <i>et al.</i> , 1998)
Serotonina	Ativação e/ ou Sensibilização	Proveniente de plaquetas sendo liberados em resposta a estímulos como lesão física e na presença de outros mediadores químicos. Produz hiperalgisia por aumentar a permeabilidade vascular facilitando a saída de leucócitos para o sítio inflamatório.	(Babenko <i>et al.</i> , 2000) (Lischetzki <i>et al.</i> , 2001) (Farber <i>et al.</i> , 2004) (Loyde <i>et al.</i> , 2013)

MEDIADORES INFLAMATÓRIOS	AÇÃO SOBRE OS NOCICEPTORES	CARACTERÍSTICAS E EFEITOS	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA
Histamina (extracelular)	Ativação e/ ou Sensibilização	Amina vasoativa com propriedade vasodilatadora proveniente da degranulação de mastócitos. Promove aumento da permeabilidade de pequenos vasos periféricamente.	(Hu & Chen, 2012) (Seifert <i>et al.</i> , 2013)
NGF	Sensibilização	Sensibilização de receptores TRPV1	(Winkelstein, 2004) (Marchand <i>et al.</i> , 2005)
Citocinas pró-inflamatórias: interleucina (IL) - 1β, IL-6, IL-8 e fator de necrose tumoral (TNF)-α	Sensibilização	Hiperálgia em modelos de dor aguda inflamatória e crônica (neuropática)	(Stein <i>et al.</i> , 1988) (Cunha <i>et al.</i> , 1991) (Fukuoka <i>et al.</i> , 1994) (Murphy <i>et al.</i> , 1999) (Schafers <i>et al.</i> , 2001) (George <i>et al.</i> , 2005)

Tabela 1. Mediadores inflamatórios e sua participação na nocicepção (modificado de Pereira, 2006).

1.3 DOR NEUROPÁTICA

As dores de origem neuropática são aquelas que ocorrem como consequência da lesão de nervos ou doenças que afetam tanto o sistema nervoso periférico como o sistema nervoso central, sendo caracterizadas por dor espontânea ou por uma sensibilidade exacerbada a diferentes estímulos (CHRISTOPH *et al.*, 2011; JONGEM *et al.*, 2014).

Uma das formas de dor neuropática que acomete a face é a neuralgia do trigêmeo. A neuralgia do trigêmeo (NT) foi descrita pela primeira vez no final do primeiro século depois de Cristo por *Aretaeus*. Mais tarde foi denominada de “*tic douloureux*” devido a observações clínicas de contorções e espasmos faciais acompanhadas de dores insuportáveis e violentas que acometiam os pacientes durante as crises (RUDOLPH, 2008). A incidência anual da neuralgia do trigêmeo é de 4,3 para cada 100.000 habitantes, com uma predominância maior para o gênero feminino, na proporção de 2:1. Esta forma de neuralgia pode ocorrer em qualquer fase da vida, mas em 90% dos casos afeta pessoas acima de 40 anos de idade (RUDOLPH, 2008; PESCHILLO & DELFINI, 2012; EL-TALLAWY *et al.*, 2013).

A neuralgia do trigêmeo caracteriza-se por dor breve, unilateral, paroxística, consistindo de ataques recorrentes de curta duração, os quais se apresentam em intervalos de segundos a minutos, mas podem ocorrer várias vezes ao dia. A dor normalmente é referida como choque elétrico de início repentino, sendo limitada à distribuição de uma ou mais divisões do nervo trigêmeo. Na maioria dos casos há o envolvimento apenas de um ramo, principalmente o maxilar, e em cerca de 30% dos casos, ambos os ramos, maxilar e mandibular estão envolvidos. Raramente observa-se o envolvimento do ramo oftálmico ou casos de neuralgia do trigêmeo bilateral. O diagnóstico diferencial é importante, pois em situações de esclerose múltipla, a dor pode acometer bilateralmente a face dos indivíduos (van KLEEF, 2009; HEADACHE CLASSIFICATION COMMITTEE OF INTERNATIONAL HEADACHE SOCIETY, 2013).

A dor é desencadeada por estímulos inócuos e normalmente possui gatilhos, denominados de *trigger zones*, regiões que quando estimuladas, por exemplo pelo toque na face, o ato de falar, o ato de escovar os dentes ou mesmo a mastigação, deflagram a crise de dor (RUDOLPH, 2008).

De acordo com a classificação da *International Headache Society 2013* (Sociedade Internacional de Cefaléia) a neuralgia trigeminal clássica é aquela em que não há uma causa aparente para o desenvolvimento da dor, além de compressão neurovascular, mais frequentemente pela artéria cerebelar superior. Ademais, de acordo com esta nova classificação, a neuralgia trigeminal clássica pode ser dividida em puramente paroxística e com dor facial persistente concomitante.

O critério de diagnóstico para a neuralgia trigeminal clássica é a ocorrência de no mínimo três ataques de dor facial que preencham os seguintes critérios: dor que ocorre em uma ou mais divisões do nervo trigêmeo, sem irradiações para outras áreas além da distribuição trigeminal, e que apresente no mínimo três das seguintes características: 1) ataques recorrentes paroxísticos que ocorrem em frações de segundos até dois minutos, 2) intensidade severa, 3) a qualidade da dor é em choque elétrico, penetrante e agudo; 4) precipitado por estímulo inócuo que afeta a região acometida. Além destas características, o paciente não deve apresentar nenhum déficit neurológico evidente associado à dor.

A neuralgia trigeminal clássica puramente paroxística é descrita como uma neuralgia em que não há uma dor facial de fundo persistente durante os ataques e como critério diagnóstico observa-se ataques dolorosos faciais recorrentes em região unilateral que preencham os critérios da neuralgia trigeminal clássica, já listados acima. Por outro lado, a neuralgia trigeminal clássica com dor facial persistente caracteriza-se por dor facial de fundo, persistente e de intensidade moderada na região facial acometida pelos ataques de dor (HEADACHE CLASSIFICATION COMMITTEE OF INTERNATIONAL HEADACHE SOCIETY-IHS, 2013).

A causa mais aceita para a neuralgia do trigêmeo é a compressão vascular das raízes do nervo trigêmeo próximo à zona de entrada no tronco cerebral. Sugere-se que a compressão das raízes trigeminais desencadeie despolarização anormal das fibras resultando em impulsos ectópicos dos neurônios (van KLEEF et al., 2009.; BENOLIEL & SHARAV, 2010).

Outra hipótese que explica tanto os sintomas positivos quanto os negativos da neuralgia do trigêmeo foi descrita por Devor e colaboradores (2002) e denominada “hipótese da ignição”. De acordo com esta hipótese, a neuralgia trigeminal é resultado da hiperexcitabilidade dos neurônios lesionados, os quais dão origem a descargas ectópicas e desencadeiam um fenômeno de “explosões” de atividade neuronal pós-disparo. Estas explosões podem ser desencadeadas por estímulos externos e perpetuar a duração do estímulo doloroso. Após os disparos iniciais, são recrutados neurônios vizinhos que levam a um rápido acúmulo de atividade elétrica no local, a qual pode ser amplificada pela interação efática entre neurônios desmielinizados, caracterizando então uma “explosão elétrica” responsável pelo ataque de dor, ou seja, o sintoma positivo da neuralgia (DEVOR, 2002). Já o sintoma negativo, representado pelo período refratário, de acordo com esses autores, seria uma consequência da “explosão elétrica”, devido à hiperpolarização dos neurônios, os quais ficariam menos responsivos e/ou refratários a qualquer tipo de estimulação (DEVOR, 2002).

Adicionalmente, existem evidências de que o aumento da expressão de canais de sódio dependentes de voltagem (Nav) nos neurônios lesionados contribui para o surgimento dos disparos ectópicos. Existem três tipos principais de canais de sódio dependentes de voltagem relacionados às dores neuropáticas: Nav 1.3, Nav 1.7 e Nav 1.8. Em amostras de tecido gengival de pacientes sintomáticos que sofrem de neuralgia trigeminal foi mostrada uma redução da expressão de Nav 1.7, nenhuma alteração significativa na expressão do Nav 1.8, porém aumento da expressão de canais de sódio Nav 1.3, sugerindo que este tipo possa ter participação na fisiopatologia dessa forma de dor neuropática (SIQUEIRA *et al.*, 2009).

1.4 DOR ASSOCIADA AO CÂNCER

A dor no paciente com câncer, além do sofrimento, causa impacto emocional negativo adicional, pois está associada com a sensação de redução na expectativa de vida. Os indivíduos que dela padecem experimentam também desconfortos resultantes dos numerosos procedimentos diagnósticos invasivos e das intervenções terapêuticas anti-neoplásicas tais como cirurgias, radioterapias e quimioterapias, muitas vezes com resultados frustrantes e consequências iatrogênicas desfavoráveis, sofrendo as óbvias repercussões psicossociais decorrentes do sofrimento, da mutilação, da incapacidade, das perdas materiais e sentimentais, bem como do medo da morte (EUROPEAN PARTNERSHIP ACTION AGAINST CANCER CONSENSUS GROUP *et al.*, 2014).

Mais da metade de todos os pacientes com câncer relatam fadiga como um problema e um em cada três pacientes sofre de um transtorno de humor em algum momento de sua trajetória no tratamento da doença. (CRAMER *et al.*, 2013). Em uma ampla revisão sistemática dos últimos 40 anos a prevalência geral de dor em pacientes com diferentes tipos de câncer foi bastante expressiva, sendo que 64% deles apresentaram sintomatologia dolorosa por metástases avançadas da doença, 59% apresentaram dor relacionada ao tratamento e 33% apresentaram dor persistente após a cura da doença (VAN DEN BEUKEN-VAN EVERDINGEN *et al.*, 2007).

O câncer bucal levou a óbito 4.891 pacientes em 2010 e estima-se que em torno de 15.000 novos casos de câncer bucal devam surgir no Brasil no ano de 2014 (INCA – INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER 2014).

O controle da dor associada aos cânceres de cabeça e pescoço é dificultado por fatores como a natureza invasiva de tumores localizados nesta região, a rica inervação da cabeça e pescoço, agravamento da dor por movimentos funcionais, tais como, o ato de falar, tossir, espirrar ou do apertamento dentário, além de dores neuropáticas induzidas por quimioterapia e radioterapia que podem acometer essa região (DIOS & LESTÓN, 2010).

A classificação das dores orofaciais em pacientes acometidos de câncer bucal está baseada nos mecanismos patofisiológicos subjacentes e as mesmas podem apresentar tanto características de dor nociceptiva/inflamatória como também de dor neuropática. (BENOLIEL *et al.*, 2007; FORNASARI, 2012).

A inflamação provavelmente é o fator mais importante na dor nociceptiva, porém, os elementos específicos inflamatórios que contribuem para a dor oncológica e os mecanismos envolvidos durante a nocicepção persistente, tais como os produzidos pelo crescimento do neoplasma, são desconhecidos (PORTENOY, 2011). Vários mediadores químicos tais como endotelinas, fator de crescimento do nervo (NGF), bradicinina, fator de necrose tumoral α (TNF- α), interleucina-1 (IL-1) entre outros, parecem contribuir para a dor associada ao desenvolvimento tumoral, e estes podem ser secretados pelas próprias células tumorais, bem como por células do sistema imune (BENOLIEL *et al.*, 2007, BRIGATTE *et al.*, 2007; SCHMIDT *et al.*, 2010; VIET & SCHMID, 2012).

O processo inflamatório parece ser importante e participa da fisiopatologia da dor na grande maioria dos tumores sólidos, mas à medida que ocorre o crescimento tumoral observa-se lesão nervosa e, conseqüentemente predomínio do componente neuropático da dor (para revisão ver BENOLIEL *et al.*, 2007).

Um dos modelos para o estudo de câncer na região facial foi desenvolvido por Ono e colegas, o qual consiste na inoculação de células do tumor de Walker 256 unilateralmente na região das vibrissas de ratos (ONO *et al.*, 2012). Esse modelo permite avaliar alguns parâmetros indicativos de dor espontânea e hiperalgesia nos animais, os quais podem ser utilizados para avaliar a eficácia de diferentes tratamentos no controle da dor associada ao câncer facial. O aumento do tempo de *grooming* facial, indicativo de dor espontânea, bem como o desenvolvimento de alodinia mecânica e hiperalgesia térmica na face foram observados no 4º e 7º dias após a inoculação de células do tumor de Walker 256 (ONO *et al.*, 2009).

Ademais, no estudo conduzido por Harano e colaboradores (HARANO *et al.*, 2010) foram estabelecidas diferenças entre os modelos de dor orofacial inflamatória e o modelo de câncer supracitado. Dentre essas diferenças é

importante mencionar que os modelos de dor inflamatória mostraram-se muito mais sensíveis à indometacina do que o modelo de dor associada ao câncer, e que enquanto nos primeiros detectaram-se níveis aumentados de substância P (SP) e CGRP no corno dorsal bulbar, enquanto que os mesmos não sofreram alteração no modelo de câncer facial. Este estudo sugere que o processo inflamatório induzido pelo tumor não contribui significativamente para a dor associada ao câncer facial.

1.5 CONTROLE FARMACOLÓGICO DAS DORES OROFACIAIS

Os fármacos são os meios mais utilizados para tratamento dos quadros dolorosos agudos ou crônicos. Diferentes classes farmacológicas são utilizadas no tratamento e/ou controle das dores orofaciais, sendo que a escolha do fármaco deve ser fundamentada no fator etiológico que desencadeou o processo doloroso. As prescrições devem ser adaptadas às necessidades de cada caso. As modalidades do tratamento farmacológico estão fortemente atreladas com a gênese da fisiopatologia da dor, pois a conduta terapêutica utilizada em dores de origem inflamatória e neuropática é distinta (PEREIRA *et al.*, 2013).

As principais classes de fármacos utilizados no controle da dor são os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), opióides, antidepressivos e anticonvulsivantes (CHAMBLISS *et al.*, 2002).

Apesar dos AINES controlarem muito bem as dores agudas e inflamatórias, os mesmos apresentam baixa eficácia no controle das dores neuropáticas, inclusive em modelos experimentais. Estudos prévios do nosso grupo já demonstraram que o tratamento prévio dos animais com AINES reduz a segunda fase da resposta à formalina, bem como a hiperalgesia térmica induzida por carragenina em modelos de dor inflamatória, mas não afetam a hiperalgesia térmica em um modelo de dor neuropática orofacial (CHICHORRO *et al.*, 2004; CHICHORRO *et al.*, 2006).

O controle da dor através do emprego de opioides figura entre os principais recursos farmacológicos que os profissionais de saúde podem utilizar em vários tipos de dor, especialmente de intensidade moderada a severa. São comumente empregados no controle de dores pós-cirúrgicas e associadas ao câncer (PEREIRA *et al.*, 2013).

Em dores neuropáticas, essa classe medicamentosa não é a primeira escolha, contudo pode haver resultados favoráveis quando utilizados em associação com fármacos adjuvantes, tais como antidepressivos e anticonvulsivantes (MIYAZAKI & YAMAMOTO, 2012).

Os opióides podem ser classificados de três maneiras distintas quanto à sua origem em: naturais, sintéticos e semi-sintéticos. Também podem ser classificados quanto à afinidade pelo receptor em: agonista, agonista parcial, antagonista e agonista-antagonista. Além de serem também classificados quanto ao controle da intensidade da dor em: fracos e potentes. Os receptores opioidérgicos estão distribuídos amplamente em diversas regiões do SNC tais como o sistema límbico, tálamo, hipotálamo, substância cinzenta periaquedutal do mesencéfalo, núcleo caudado, amígdala dentre outras, além de regiões do SNP que incluem gânglio da raiz dorsal e gânglio do trigêmeo, nas terminações centrais dos aferentes primários, fibras nervosas sensoriais periféricas e suas terminações (GOURLAY, 2005; HENRIKSEN & WILLOCH, 2008; MAHLER, 2013). Ademais, receptores opióides encontram-se amplamente distribuídos em vários órgãos e sistemas e sua ativação está relacionada ao aparecimento de vários efeitos adversos, tais como depressão respiratória, obstipação, sedação e miose, além de alterações comportamentais como disforia, alterações de humor e alucinações (HENRIKSEN & WILLOCH, 2008; FENG, 2012; MARTINS *et al.*, 2012; STOCKTON & DEVI, 2012).

Os receptores opióides endógenos estão acoplados à proteína G, e todos os três subtipos de receptores μ (mu, ativado pela morfina), κ (Kappa) e δ (delta) quando ativados inibem a adenilato ciclase promovendo a redução do conteúdo intracelular de adenosina monofosfato cíclico (AMPc). Também exercem efeito em

canais iônicos e, através deste mecanismo promovem a abertura dos canais de potássio, e inibem os CaV, reduzindo a excitabilidade neuronal e favorecendo a hiperpolarização neuronal (HENRIKSEN & WILLOCH, 2008; MARTINS *et al.*, 2012; ALEXANDER *et al.*, 2013).

O controle de várias formas de dor neuropática baseia-se principalmente no uso de fármacos adjuvantes. Os fármacos adjuvantes pertencem a diferentes classes farmacológicas e foram originalmente desenvolvidos para outra indicação primária, mas não para o tratamento da dor. No entanto, são utilizados em associação com fármacos analgésicos para auxiliar no controle da dor, ou muitas vezes são considerados os fármacos de escolha no controle da dor em algumas condições (PEREIRA *et al.*, 2013).

Dentre os adjuvantes utilizados no controle da dor, podem-se citar os antidepressivos, anticonvulsivantes e os anestésicos locais (KNOTKOVA *et al.*, 2007; NISHIHARA *et al.*, 2013). Os anticonvulsivantes estão se tornando os agentes mais promissores para o manejo da dor neuropática, dada sua propriedade de diminuir a excitabilidade neuronal. O estado de hiperexcitabilidade neuronal nas dores de origem neuropática é caracterizado por limiar reduzido de ativação neuronal e descargas ectópicas dos neurônios sensoriais (HUSSAIN *et al.*, 2008). Esse estado de hiperexcitabilidade muitas vezes está relacionado a alterações na expressão e ou função de canais de sódio e/ou de canais de cálcio, os quais representam alvos para muitos anticonvulsivantes. Portanto, a propriedade dos anticonvulsivantes de modulação de canais iônicos contribui para seu efeito analgésico nas dores neuropáticas (BANNISTER *et al.*, 2011).

Os primeiros estudos utilizando anticonvulsivantes para dor neuropática foram realizados com a carbamazepina no tratamento da neuralgia trigeminal na década de 60, onde Blom demonstrou sua efetividade (BLOM, 1962). Desde então, a carbamazepina tem sido considerada droga de primeira escolha no tratamento de neuralgia trigeminal (ZAKRZEWSKA, 2009).

Efeitos colaterais decorrentes do uso da carbamazepina tais como tontura, sonolência, náusea, vômito e vertigem podem levar o paciente a uma falta de adesão ao tratamento. Porém a titulação inicial do fármaco e o aumento gradual e lento das doses são alternativas para evitar tais reações. Situações como esta, além da refratariedade de alguns pacientes à carbamazepina e seu potencial de induzir enzimas envolvidas no metabolismo de fármacos, tem impulsionado a pesquisa de novas drogas para o controle desta forma de dor (ALVES, 2004).

Nesse sentido, a partir do final da década de 90, vários estudos experimentais e clínicos têm chamado a atenção para o potencial analgésico da pregabalina em diferentes tipos de dor neuropática.

1.6 PREGABALINA

Pregabalina é uma droga anticonvulsivante aprovada para o tratamento de dores neuropáticas tais como neuropatia periférica diabética, neuralgia pós-herpética e dor neuropática de origem central (GILRON *et al.*, 2011; STAHL *et al.*, 2013). Adicionalmente apresenta atividade ansiolítica e atua na modulação do sono (BAIDYA *et al.*, 2011).

Esta droga é um análogo estrutural do ácido gama-aminobutírico (GABA), porém apesar de ser estruturalmente similar ao GABA, não possui ação alguma em receptores GABA, não é convertida em GABA e nem altera a recaptação ou degradação desse neurotransmissor (KUMAR *et al.*, 2013).

O mecanismo de ação da pregabalina é similar ao da gabapentina, a qual foi aprovada em 2004 pela Comissão Européia para o tratamento de dor neuropática periférica e nos Estados Unidos para o tratamento de neuropatia periférica diabética, neuralgia pós-herpética e fibromialgia (BAIDYA *et al.*, 2011).

Pelo fato de apresentarem mecanismo de ação semelhante, gabapentina e pregabalina são classificados como gabapentinóides. Estes fármacos atuam através da ligação à subunidade $\alpha_2\delta$ dos canais de cálcio dependentes de

voltagem ($\text{CaV}\alpha_2\delta$), presentes nas terminações pré-sinápticas de neurônios do sistema nervoso periférico e central (STAHL *et al.*, 2013).

Os canais de cálcio dependentes de voltagem são complexos heterogêneos compostos por diferentes subunidades, tais como α_1 , β , $\alpha_2\delta$, e γ . A subunidade $\alpha_2\delta$ é uma subunidade auxiliar que facilita o tráfego e a organização dos canais de cálcio na membrana dos neurônios (KLUGBAUER *et al.*, 2005). O aumento da expressão da $\text{CaV}\alpha_2\delta$ -1 na medula espinhal tem sido considerado essencial tanto para o início quanto para a manutenção das dores neuropáticas, pois contribui para o aumento do influxo pré-sináptico de íons cálcio e, conseqüentemente para o aumento na liberação de neurotransmissores, tais como glutamato e SP, que participam do processo de sensibilização central (revisado por MARTINEZ *et al.*, 2012).

Estudos recentes em modelos experimentais realizados com roedores demonstraram que a proteína $\alpha_2\delta$ -1 interage diretamente com moléculas extracelulares de adesão denominadas trombospondina, as quais são excretadas por astrócitos ativados. Em condições de dor neuropática ocorre um aumento da expressão de trombospondina com subsequente hiperalgesia, condição esta observada devido a uma ativação das células gliais, em particular dos astrócitos. Os gabapentinóides podem ser capazes de prevenir a estabilização de novas sinapses glutamatérgicas oriundas especificamente em resposta da ativação de astrócitos após uma lesão neuronal ou mesmo de uma ativação neural sustentada (STAHL, 2013).

A afinidade com que a pregabalina liga-se na subunidade $\alpha_2\delta$ é 6 vezes maior do que a ligação da gabapentina nesta mesma subunidade (BAIDYA *et al.*, 2013). Outra vantagem da pregabalina em relação à gabapentina é seu perfil farmacocinético. Bockbrader (2010) estudou a farmacocinética em voluntários saudáveis e observou que a pregabalina é rapidamente absorvida após administração oral, com picos de concentração plasmática ocorrendo entre 0,7 e 1,3 h, ao passo que a concentração plasmática máxima da gabapentina ocorre entre 3 a 4 h. A administração oral da gabapentina mostrou uma absorção saturável do tipo não linear tornando o processo farmacocinético menos preditivo. Por outro lado, após

administração oral a pregabalina é absorvida mais rapidamente e apresenta cinética linear, ou seja, a concentração plasmática aumenta proporcionalmente com o aumento da dose (BOCKBRADER, 2010).

Vários estudos experimentais têm demonstrado que o tratamento sistêmico dos animais com pregabalina é capaz de atenuar a dor neuropática em modelos de dor neuropática diabética, ligação do nervo ciático, ligação de nervos espinhais, entre outros (FIELD *et al.*, 1999; CHEN *et al.*, 2001; KUMAR *et al.*, 2010; OKASAKI *et al.*, 2013).

Alguns estudos também reportaram efeito antinociceptivo da pregabalina em modelos de dor neuropática envolvendo o nervo trigêmeo. Plaza-Villegas e colaboradores mostraram que tanto o tratamento tópico quanto sistêmico com pregabalina foi capaz de atenuar a hiperalgesia e a alodinia mecânicas após constrição do nervo infraorbital (PLAZA-VILLEGAS *et al.*, 2012).

Resultado semelhante foi encontrado por Cao e colaboradores (2013), utilizando o modelo de secção parcial do nervo infraorbital. Por fim, é importante mencionar que em um estudo prévio do nosso grupo, o tratamento sistêmico de animais diabéticos com pregabalina reduziu significativamente a hiperalgesia ao frio e ao calor detectadas na face desses animais (NONES *et al.*, 2013).

O principal mecanismo proposto para o efeito analgésico da pregabalina em estudos que utilizaram modelos de dor neuropática está relacionado com sua habilidade de ligar-se à subunidade $\alpha 2\delta$ -1 e impedir a inserção de canais de cálcio na membrana pré-sináptica. Esta ação da pregabalina evitaria o aumento da inserção de canais de cálcio na membrana pré-sináptica, normalmente observada em condições neuropáticas (KUMAR *et al.*, 2010; BANNISTER, 2011; STHAL *et al.*, 2013).

Entretanto, estudo mais recentes têm demonstrado que a pregabalina também possui atividade analgésica em modelos de dor aguda e inflamatória. Nesse sentido, Kumar e colaboradores (2010) demonstraram que a pregabalina inibe a nocicepção induzida por formalina na pata de ratos, bem como a liberação

espinhal de glutamato induzida pela formalina. Em adição, Kweon e colaboradores (2011) mostraram que o tratamento intratecal com pregabalina reduz a segunda fase do teste da formalina e está associado com a ativação de canais de potássio dependentes de ATP. Ademais, em um modelo de dor inflamatória orofacial, foi demonstrado que o tratamento sistêmico dos animais com pregabalina atenuou respostas motoras e a liberação medular de glutamato induzidas por aplicação de óleo de mostarda na polpa dentária de ratos (NARITA *et al.*, 2012). Portanto, nos modelos de dor aguda e/ou inflamatória o mecanismo de ação da pregabalina não parece estar relacionado com o controle da inserção dos canais de cálcio dependentes de voltagem, mas sim com a modulação da sua função. Sugere-se que a ligação da pregabalina com a subunidade $\alpha 2\delta$ ocasione diminuição do influxo de íons cálcio na membrana pré-sináptica e consequente inibição da liberação de neurotransmissores excitatórios, especialmente glutamato no corno dorsal da medula espinhal (KUMAR *et al.*, 2010; BANNISTER, 2011).

Em vista dessas considerações, com a realização desse estudo pretendemos ampliar o conhecimento acerca das ações antinociceptivas da pregabalina em modelos de dor orofacial que apresentam diferentes mecanismos fisiopatológicos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste estudo foi avaliar em diferentes modelos de dor orofacial com características aguda, inflamatória e persistente (neuropática e associada ao câncer), o efeito da pregabalina, a fim de determinar sua contribuição no controle de dores orofaciais que apresentam diferentes mecanismos fisiopatológicos

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito da pregabalina na nocicepção orofacial induzida por capsaicina;
- Avaliar o efeito da pregabalina na nocicepção orofacial induzida por formalina;
- Avaliar o efeito da pregabalina na hiperalgesia orofacial térmica ao calor induzida por carragenina;
- Avaliar o efeito da pregabalina na hiperalgesia orofacial térmica ao calor induzida por constrição de nervo infraorbital (CION);
- Avaliar o efeito da pregabalina na hiperalgesia térmica orofacial em um modelo de câncer facial.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

3.1.1 Animais

Em todos os experimentos foram utilizados ratos *Rattus norvegicus*, variedade Wistar, machos, pesando entre 200-240 g, provenientes do Biotério do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, mantidos em condições controladas de temperatura ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e luminosidade (ciclo claro/escuro de 12 horas), com livre acesso a ração e água antes dos experimentos. No mínimo 3 dias antes dos experimentos, os animais foram transferidos do biotério para a sala de ambientação e agrupados em um número máximo de 5 animais por caixa. Os experimentos foram realizados em sala silenciosa, mantendo o controle da temperatura e sempre durante a fase clara do ciclo. Todos os protocolos utilizados neste estudo foram aprovados pela Comissão de Ética para o Uso de Animais do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná (CEUA/BIO, autorização número 680).

3.1.2 Drogas e reagentes

Foram empregadas nesse estudo as seguintes drogas:

- Pregabalina (Lyrica®, Pfizer, New York, USA);
- Carragenina (Sigma, St Louis, MO, USA);
- Formalina (Vetec, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) ;
- Capsaicina (Sigma, St. Louis, MO, USA);
- Morfina (Merck, Darmstadt, Alemanha);
- Xilazina (Dopaser®, Calier S.A., Barcelona, Espanha);
- Cetamina (Ketamin-S, Cristália, São Paulo, Brasil).

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Teste da capsaicina orofacial

Este teste foi realizado conforme previamente descrito por Pelissier e colaboradores (2002). Cada animal foi previamente habituado em caixa de acrílico transparente, por aproximadamente 15 minutos. Foram utilizados de 6 a 8 animais por grupo. Subseqüentemente, os animais receberam uma injeção subcutânea de veículo (solução salina estéril 0,9%, 50 μ L) ou capsaicina (2,0 μ g, 50 μ L) no lábio superior direito (s.c.). Imediatamente após a injeção os animais foram colocados nas caixas de observação e o tempo de *grooming* facial bilateral foi registrado em intervalos consecutivos de 3 minutos totalizando 30 minutos.

3.2.2 Teste da formalina orofacial

Este teste foi realizado conforme descrito por Clavelou *et al.* (1989), com algumas modificações, como por exemplo a concentração de formalina (5%) utilizada e o tempo de avaliação dos animais (18-42 minutos após a injeção). Foram utilizados de 8 a 10 animais por grupo, sendo que cada animal foi previamente habituado em caixa de acrílico transparente, medindo 35x35x35 centímetros, por aproximadamente 15 minutos. Subseqüentemente, os animais receberam uma injeção subcutânea de veículo (solução salina estéril 0,9%, 50 μ L) ou formalina (2,5%, 50 μ L) no lábio superior direito. Imediatamente após a injeção os animais foram colocados nas caixas de observação e o tempo de *grooming* facial bilateral foi registrado em intervalos consecutivos de 3 minutos totalizando 30 minutos. A primeira e segunda fase da resposta à formalina foram consideradas de 0-3 e de 12-30 minutos após a injeção de formalina, respectivamente.

3.2.3 Avaliação da hiperalgesia térmica orofacial

Neste teste, os animais foram contidos pela mão do experimentador e uma fonte de calor radiante ($\sim 50^\circ$) foi posicionada a cerca de 1 cm da área de inserção das vibrissas, conforme descrito por Chichorro e colaboradores (2009). Em seguida, registrou-se o tempo de latência para que os animais afastassem vigorosamente a cabeça da fonte ou apresentassem movimentos rápidos e consecutivos das vibrissas. Foram incluídos nos experimentos apenas animais que apresentaram estas respostas entre 9 e 15 segundos a partir da aplicação do estímulo.

3.2.4 Hiperálgesia térmica orofacial induzida pela carragenina

A indução de hiperálgesia orofacial ao calor através de um estímulo inflamatório foi realizada conforme previamente proposto por Chichorro e colaboradores (2006). Neste experimento foram utilizados de 8 a 10 animais por grupo, os quais receberam veículo (solução salina estéril 0,9%, 50 μ L) ou carragenina (100 μ g/50 μ L, s.c.) no lábio superior direito dos animais e avaliou-se a hiperálgesia térmica, conforme descrito no item 3.2.3 Este teste foi realizado antes da aplicação orofacial de carragenina ou veículo e em intervalos de 1 hora após a aplicação de carragenina ou veículo até a 6ª hora, apenas no lado ipsilateral à injeção.

3.2.5 Hiperálgesia térmica orofacial induzida por constrição do nervo infraorbital

A constrição do nervo infraorbital foi realizada com modificações ao método proposto anteriormente por Vos e Maciewicz (1991), os quais realizaram o acesso ao nervo infraorbital através da cavidade orbital. Foram utilizados de 7 a 8 animais por grupo. Os animais foram anestesiados com uma mistura de cetamina e

xilazina (50 e 10 mg/kg, respectivamente, i.p.) e foi realizada a assepsia da face com álcool iodado. Após o estabelecimento da anestesia, foi feita uma incisão na pele, abaixo do olho direito, cerca de 3 mm posterior à inserção das vibrissas. Os músculos elevador do lábio superior e masseter superficial anterior foram afastados para que a porção rostral do nervo infraorbital fosse exposta, próximo à fissura infraorbital. O nervo infraorbital foi dissecado dos tecidos adjacentes e, em seguida, foram realizadas duas amarras frouxas, separadas aproximadamente 2 mm, com fio de seda 4.0 ao redor do feixe nervoso. Os tecidos foram suturados com o mesmo tipo de fio usado para a confecção das amarras. Os animais do grupo falso-operado foram submetidos ao mesmo procedimento cirúrgico, porém o feixe nervoso não foi constricto.

Ao término da cirurgia os animais foram mantidos em sala aquecida até completa recuperação da anestesia. A resposta basal dos animais à aplicação do estímulo térmico foi avaliada antes da cirurgia e no 4º dia após a constrição do nervo infraorbital, bem como em intervalos de 1 h até a 6ª h após os tratamentos.

3.2.6 Manutenção e inoculação das células tumorais Walker-256

Nesse estudo foram empregadas células da linhagem Walker-256B gentilmente fornecidas pela pesquisadora do Instituto Butantã de São Paulo, Profª. Drª. Sandra Coccuzzo Sampaio Vessoni. As células foram mantidas em freezer a -80°C até o momento do uso. As células foram então descongeladas e centrifugadas por 10 min a 4000 r.p.m e temperatura de 4°C . Após centrifugação, o sobrenadante foi descartado e as células foram ressuspendidas em 1 mL de PBS para avaliação da viabilidade celular através do teste de exclusão com azul de Tripán a 1% em câmara de Neubauer. As células viáveis foram diluídas em PBS para obtenção de uma suspensão contendo $1 \times 10^7/\text{mL}$ de células tumorais, as quais foram inoculadas intraperitonealmente nos animais (volume de 1 mL). A manutenção dessas células foi realizada por meio de repiques semanais, os quais tiveram início no sétimo dia após a inoculação. Para a realização dos repiques, os

animais foram submetidos à eutanásia, seguida de coleta do líquido ascítico em solução de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA; 0,5 M; pH 8,0). Nesta suspensão (líquido ascítico e EDTA na proporção 1:1) a viabilidade celular foi novamente avaliada e uma suspensão contendo 1×10^7 /mL de células tumorais foi inoculada intraperitonealmente em animais diferentes (n=2 animais por repique) (BRIGATTE *et al.*, 2007). Após a realização de três repiques, as células foram novamente submetidas ao teste de exclusão, e as células viáveis foram diluídas em PBS, a fim de se obter uma suspensão contendo 1×10^6 por 100 μ L de células tumorais. Os animais foram então anestesiados com uma mistura de cetamina e xilazina (50 e 10 mg/kg, respectivamente, i.p.) e a suspensão de células tumorais foi inoculada na região de inserção das vibrissas, no lado direito da face, por via subcutânea (ONO *et al.*, 2012).

3.2.7 Hiperalgesia térmica em modelo de câncer facial

Neste teste foram utilizados 8 animais por grupo, nos quais avaliou-se a resposta basal ao estímulo térmico antes da inoculação das células tumorais e novamente no 6º dia após a inoculação. Em seguida, os animais receberam os diferentes tratamentos e a hiperalgesia térmica foi avaliada em intervalos de 1 h até a 6ª h após os tratamentos.

3.2.8 Protocolos experimentais

Nos modelos de nocicepção orofacial aguda e inflamatória os animais foram tratados com pregabalina (10 e 30 mg/kg) ou veículo (1 mL/kg de solução de 0,5% de carboximetilcelulose em salina) por via oral, 1 h antes da injeção de formalina, capsaicina, carragenina ou veículo (solução salina em todos os casos) no lábio superior. No teste da formalina um grupo adicional de animais foi tratado com morfina (2,5 mg/kg, s.c.), a qual foi utilizada como controle positivo. Neste

experimento, os animais do grupo controle receberam salina (1mL/kg, s.c.). Nos experimentos que avaliaram hiperalgesia em animais submetidos à constrição do nervo infraorbital (CION) ou à inoculação de células tumorais, a pregabalina (10 e 30 mg/kg, v.o.) ou veículo (1 mL/kg de solução de 0,5% de carboximetilcelulose em salina, v.o) foram administrados no 4º dia e no 6º dia, respectivamente, após a avaliação da responsividade basal ao estímulo térmico. Após os tratamentos, a hiperalgesia térmica foi avaliada em intervalos de 1 h até a 6ª h. As doses de pregabalina e morfina foram baseadas em estudos anteriores (BEYREUTHER *et al.*, 2007; OKAZAKI *et al.*, 2013), inclusive do nosso grupo (NONES *et al.*, 2013). Além disso, nesse mesmo estudo demonstramos que tanto a dose de morfina (2,5 mg/kg), quanto a dose de pregabalina (30 mg/kg) não causam alterações motoras nos animais testados no campo aberto (NONES *et al.*, 2013).

3.2.9 Análise estatística

Todos os dados foram apresentados como média \pm erro padrão das médias de 7 a 10 animais por grupo, como indicado nas legendas das figuras. Os resultados referentes ao teste da formalina e capsaicina foram analisados por análise de variância de uma via (ANOVA), seguida por teste *post-hoc* de Newman Keuls. ANOVA de duas vias para medidas repetidas foi empregada em todos os experimentos que avaliaram hiperalgesia térmica, sendo o tratamento considerado como fator independente e os diferentes tempos de avaliação dos comportamentos nociceptivos como as medidas repetidas. Em caso de diferenças significativas no fator independente e/ou na interação entre o fator independente e os fatores repetidos, ANOVA de uma via seguida do teste *post-hoc* de Newman Keuls foi aplicado. Em todas as análises, valores de $P \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

4 RESULTADOS

A injeção de capsaicina no lábio superior dos animais induziu um aumento significativo do *grooming* facial, e este comportamento foi abolido pelo pré-tratamento com pregabalina nas doses de 10 mg/Kg e 30 mg/Kg (FIGURA 1).

Por outro lado, a pregabalina nas doses de 10 mg/Kg e 30 mg/Kg não foi capaz de modificar a 1ª fase da resposta à formalina, que consiste no tempo de *grooming* facial nos primeiros 3 min após a injeção de formalina (FIGURAS 2A e 2B). Já com relação à segunda fase do teste de formalina, que compreende o intervalo de 12 a 30 min após a injeção, a administração de pregabalina na dose de 10 mg/Kg causou uma redução significativa da resposta (cerca de 40%), enquanto que na dose de 30 mg/kg, a pregabalina aboliu a segunda fase da resposta (FIGURAS 2A e 2C). Adicionalmente, neste teste foi utilizado o analgésico opióide morfina como controle positivo, uma vez que a pregabalina não modificou a primeira fase da resposta à formalina. O pré-tratamento dos animais com morfina (2,5 mg/Kg), resultou em reduções significativas da primeira e segunda fases da resposta à formalina (FIGURAS 2D, 2E e 2F). A via de administração da morfina (s.c) não foi a mesma utilizada pela pregabalina (v.o), devido a baixa biodisponibilidade da morfina por via oral (GLARE, 1991).

Conforme reportado anteriormente pelo nosso grupo, a injeção de carragenina no lábio superior de ratos induz hiperalgesia térmica com pico na 3ª e 4ª h (Chichorro *et al.*, 2006). A figura 4 ilustra a indução de hiperalgesia térmica pela carragenina, a qual foi observada a partir da 2ª h e persistiu até a 6ª h após a injeção. O pré-tratamento dos animais, 1 h antes da injeção de carragenina, com pregabalina nas doses de 10 mg/Kg e 30 mg/Kg resultou em redução significativa da hiperalgesia térmica na 2ª, 4ª, 5ª e 6ª horas após os tratamentos (FIGURA 3).

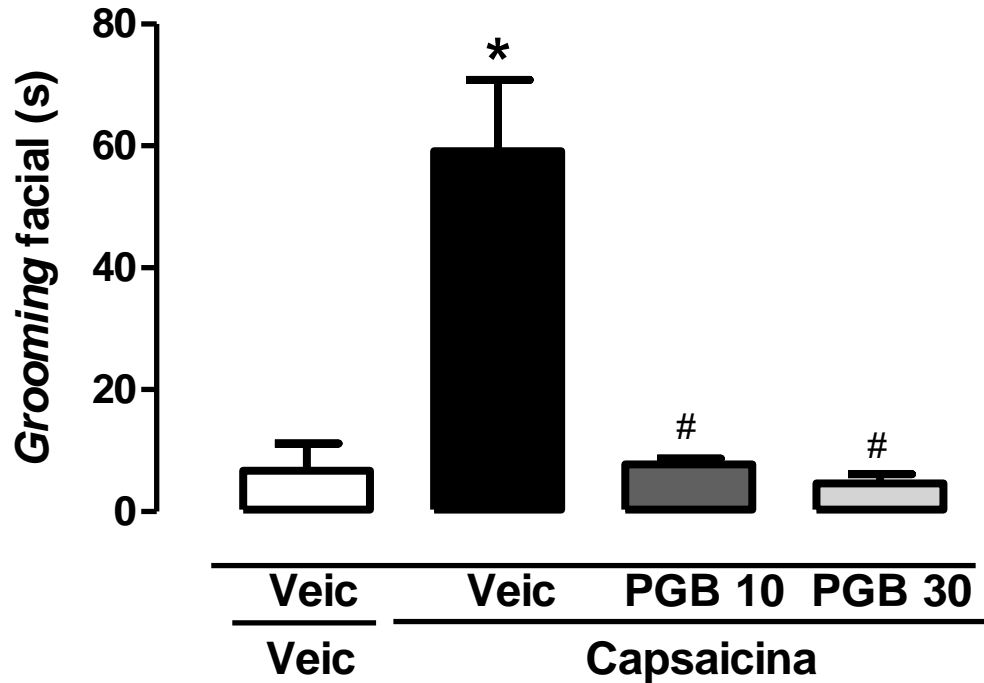


FIGURA 1 - INFLUÊNCIA DA PREGABALINA NA NOCICEPÇÃO INDUZIDA POR CAPSAICINA. Os animais foram tratados com veículo (Veic, 1 mL/Kg, v.o) ou pregabalina (PGB, 10 ou 30 mg/Kg, v.o.) e 1 h após receberam uma injeção local (s.c., no lábio superior) de veículo (Veic, 50 μ L) ou capsaicina (2 μ g/50 μ L) e o tempo de *grooming* facial foi registrado ao longo dos próximos 30 minutos. Os valores representam a média \pm e.p.m de 6 a 8 animais por grupo. * e # indicam $P \leq 0,05$ quando comparado com os valores correspondentes dos grupos Veic+Veic e Veic+capsaicina, respectivamente (ANOVA de uma via seguida do teste de Newman-Keuls).

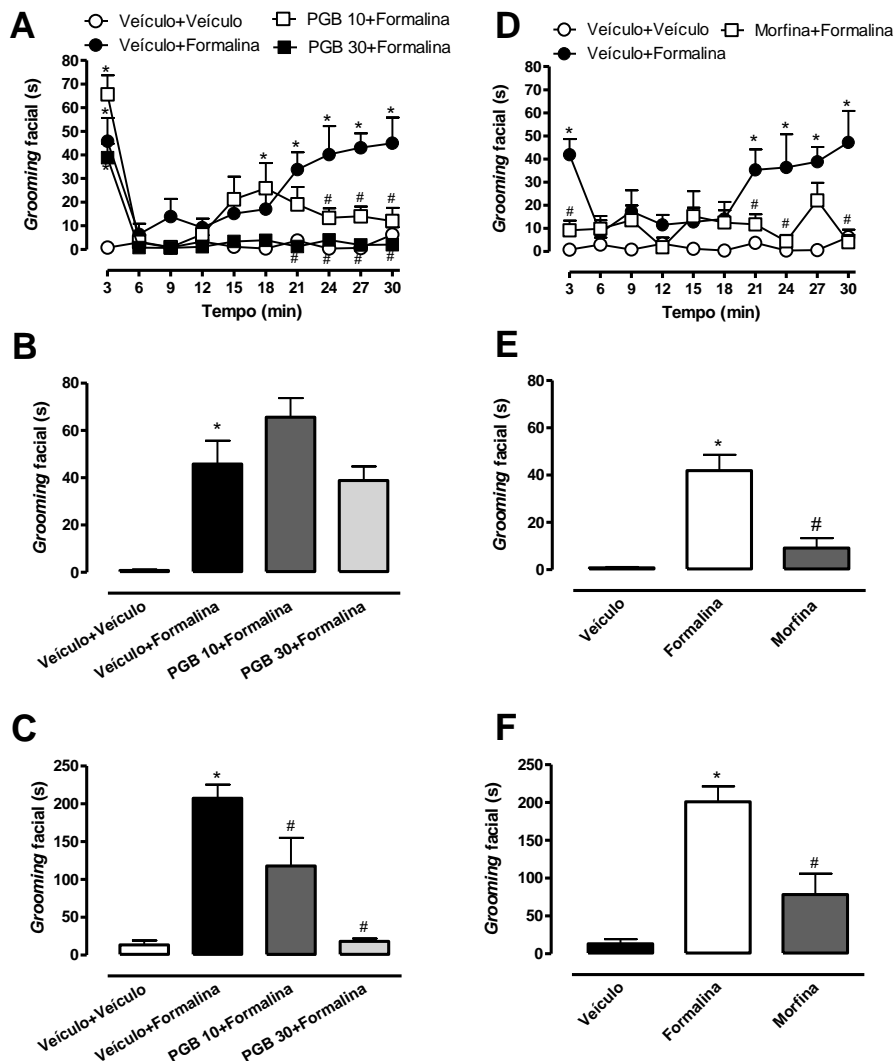


FIGURA 2 - INFLUÊNCIA DA PREGABALINA E MORFINA NA NOCICEPÇÃO OROFACIAL INDUZIDA POR FORMALINA. Os ratos foram tratados com veículo (1 mL/Kg, v.o), pregabalina (PGB, 10 ou 30 mg/Kg, v.o., painéis A, B e C) ou Morfina (2,5 mg/kg, s.c., painéis D, E e F) e 1 h após receberam uma injeção local (s.c., no lábio superior) de veículo (50 μ L) ou formalina (2,5%/50 μ L) e o tempo de *grooming* facial foi registrado por 30 min. Os painéis A e D mostram a influência da pregabalina e morfina, respectivamente, no decurso temporal da resposta induzida por formalina. Os painéis B e E mostram a influência da pregabalina e morfina no tempo de *grooming* cumulativo nos primeiros 3 min após a injeção (1ª fase), respectivamente, e os painéis C e F mostram a influência da pregabalina e morfina no tempo de *grooming* cumulativo a partir de 12 até 30 min (2ª fase), respectivamente. Os valores representam a média \pm e.p.m de 8 a 10 ratos por grupo. * e # indicam $P \leq 0,05$ quando comparado com os valores correspondentes dos grupos Veículo+Veículo e Veículo+Formalina, respectivamente (ANOVA de uma via seguida do teste de Newman-Keuls).

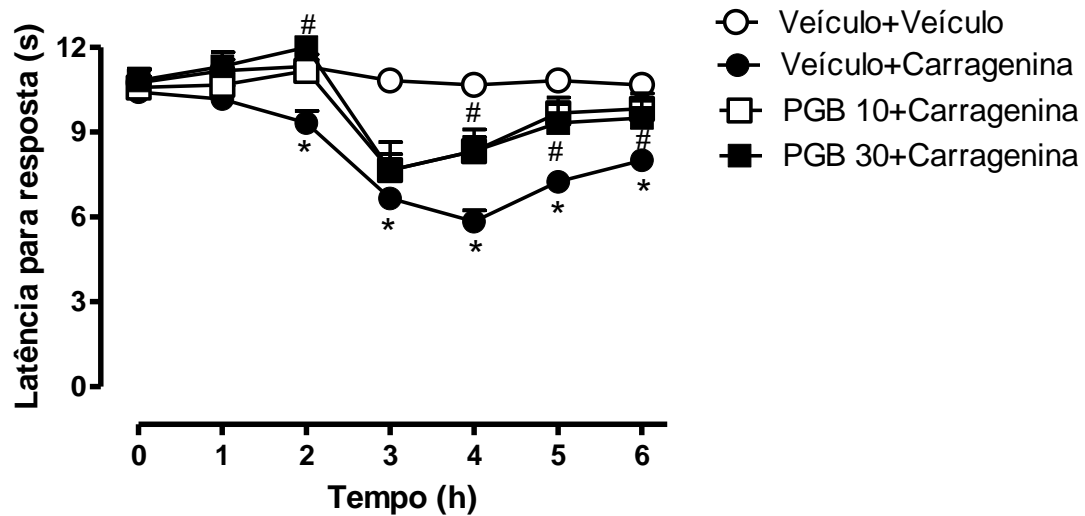


FIGURA 3- INFLUÊNCIA DA PREGABALINA NA HIPERALGESIA TÉRMICA INDUZIDA POR CARRAGENINA. Os ratos foram tratados com veículo (1 mL/Kg, v.o) ou pregabalina (PGB, 10 ou 30 mg/Kg, v.o.) e 1 hora após receberam injeção local (s.c., no lábio superior) de veículo (50 μ L) ou carragenina (Cg 100 μ g/50 μ L). A hiperalgisia térmica foi avaliada antes dos tratamentos (tempo 0) e em intervalos de 1 h até a 6^a h. Os valores representam a média \pm e.p.m de 8 a 10 ratos por grupo. * e # indicam $P \leq 0,05$ quando comparado aos valores correspondentes dos grupos Veículo+Veículo e Veículo+Carragenina, respectivamente (ANOVA de duas vias de medidas repetidas seguida do teste de Newman-Keuls).

Conforme estudo prévio do nosso grupo (Chichorro *et al.*, 2009) o pico da hiperalgesia térmica após constrição do nervo infraorbital é observado entre 4 e 6 dias após a cirurgia. A figura 4 ilustra o efeito da pregabalina em reduzir a hiperalgesia térmica 4 dias após a constrição. O aumento na latência para resposta ao estímulo térmico foi significativo na 3ª e 4ª horas após o tratamento com a dose de 10 mg/Kg e da 2ª até a 5ª h com a dose de 30 mg/Kg (FIGURA 4).

O efeito anti-hiperalgésico da pregabalina também foi observado no modelo de câncer facial induzido por inoculação de células do tumor Walker 256. O tratamento dos animais no 6º dia após inoculação das células tumorais com pregabalina nas doses de 10 mg/kg e 30 mg/kg causou marcante redução na hiperalgesia térmica, porém o início do efeito foi mais tardio em comparação aos experimentos anteriores (3ª h após os tratamentos). Na menor dose este efeito se entendeu até a 4ª h, enquanto que na maior dose o efeito da pregabalina persistiu até a 5ª h (FIGURA 5).

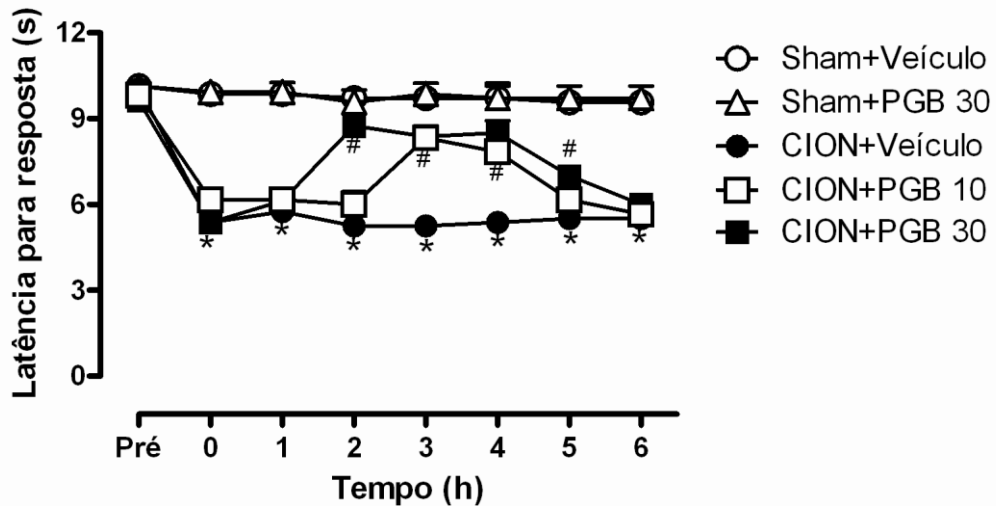


FIGURA 4 - INFLUÊNCIA DA PREGABALINA NA HIPERALGESIA TÉRMICA INDUZIDA POR CONSTRIÇÃO DO NERVO INFRAORBITAL. A latência para resposta ao estímulo térmico foi avaliada antes da cirurgia (Pré) e então novamente no 4º dia após a cirurgia, antes de qualquer tratamento (tempo 0). Os animais foram tratados com veículo (1 mL/Kg, v.o) ou pregabalina (PGB, 10 ou 30 mg/Kg, v.o.) e a hiperálgia térmica foi avaliada em intervalos de 1 h até a 6ª h. Os valores representam a média \pm e.p.m de 7 a 8 ratos por grupo. * e # indicam $P \leq 0,05$ quando comparado com os valores correspondentes dos grupos sham- e CION- tratados com veículo, respectivamente (ANOVA de duas vias de medidas repetidas seguida do teste de Newman-Keuls).

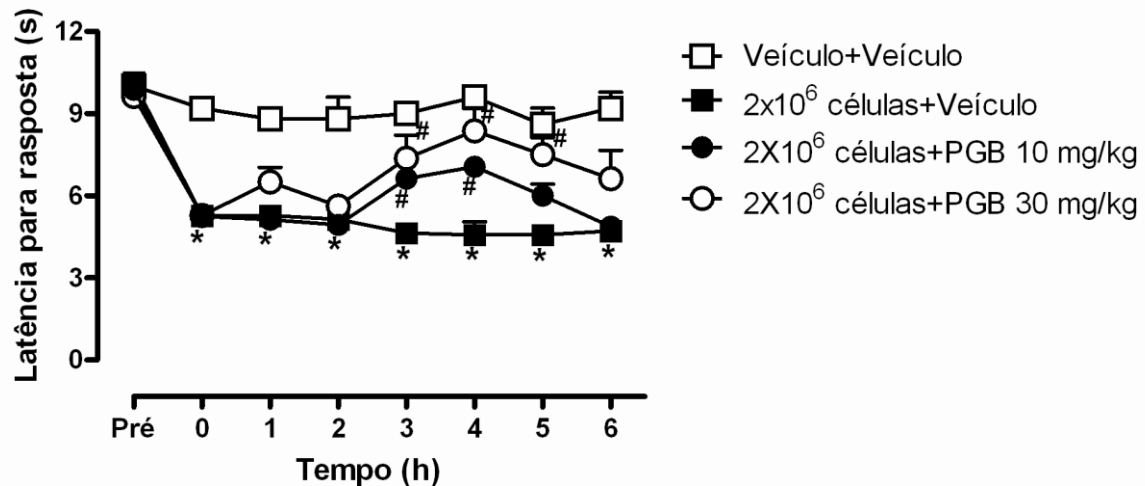


FIGURA 5 - INFLUÊNCIA DA PREGABALINA NA HIPERALGESIA TÉRMICA DECORRENTE DE INOCULAÇÃO FACIAL DE CÉLULAS TUMORAIS. A latência para resposta ao estímulo térmico foi avaliada antes da inoculação das células tumorais (Pré) e então novamente no 6^o dia após a inoculação, porém antes de qualquer tratamento (tempo 0). Os ratos foram tratados com veículo (1 mL/Kg, v.o) ou pregabalina (PGB, 10 ou 30 mg/Kg, v.o.) e a hiperalgisia térmica foi avaliada em intervalos de 1 h até a 6^a h. Os valores representam a média \pm e.p.m de 8 ratos por grupo. * e # indicam $P \leq 0,05$ quando comparado com os valores correspondentes aos ratos dos grupos controle (veículo+veículo) e inoculados com as células tumorais tratados com veículo, respectivamente (ANOVA de duas vias de medidas repetidas seguida do teste de Newman-Keuls).

5 DISCUSSÃO

Neste estudo, a pregabalina demonstrou efeitos antinociceptivos importantes em modelos de dor orofacial aguda, inflamatória e persistente associada com a lesão do nervo infraorbital e ao câncer facial. Esses dados corroboram evidências prévias, tanto pré-clínicas quanto clínicas de que a pregabalina apresenta eficácia analgésica em condições de dor neuropática e não neuropática (FIELD *et al.*, 2006; ŁUSZCZKI, 2010; KWEON *et al.*, 2013; GILRON *et al.*, 2011; KUMAR *et al.*, 2013; NARITA *et al.*, 2012; CAO *et al.*, 2013; BENNETTE *et al.*, 2013).

Existem várias demonstrações de que a injeção de capsaicina subcutânea ou intradérmica induz estimulação nociva sustentada. A injeção de capsaicina no lábio superior de ratos induz um aumento no tempo de *grooming* facial, o qual é atenuado pela administração de morfina em doses que induzem analgesia em outros testes comportamentais (PELISSER *et al.*, 2002).

Em seres humanos, a capsaicina induz dor espontânea, sensação de queimação, hiperalgesia primária e secundária, além de alodinia. Portanto, o teste de capsacina é considerado uma ferramenta importante para o *screening* inicial de novos compostos analgésicos (WANG *et al.*, 2008).

No presente estudo, nós demonstramos que o pré-tratamento com pregabalina foi capaz de abolir as respostas da capsaicina na região orofacial. Nossos dados corroboram o estudo de Narita (NARITA *et al.*, 2012) onde evidenciou-se o efeito analgésico da pregabalina após a ativação aguda de neurônios sensoriais de pequeno diâmetro do nervo trigêmeo. Por outro lado, demonstrou-se que a pregabalina não foi capaz de modificar a liberação de substância P e do peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) induzida por capsaicina em amostras de medula espinhal de rato. Entretanto, quando a pata do animal havia sido previamente sensibilizada com adjuvante completo de Freund (CFA) a pregabalina atenuou a liberação desses neuropeptídeos (FEREMBAKER *et al.*, 2003). É importante salientar que neste último estudo não avaliou-se o efeito da pregabalina nas respostas nociceptivas induzidas por capsaicina, mas os dados apresentados sugerem que a pregabalina é capaz de interferir na liberação de

transmissores pré-sinápticos apenas após sensibilização prévia da pata traseira, diferentemente do que foi observado na região orofacial, onde a pregabalina modulou respostas nociceptivas agudas. Esse efeito da pregabalina também já foi reportado na pata de animais submetidos ao teste da placa quente. Através da utilização deste modelo, que avalia nocicepção térmica aguda, foi demonstrado que o pré-tratamento com pregabalina causou um efeito antinociceptivo dose-dependente em camundongos (ŁUSZCZKI, 2010).

Adicionalmente ao teste da capsaicina, neste estudo avaliamos o efeito da pregabalina em outro modelo de nocicepção aguda, o teste da formalina. O teste da formalina, empregado tanto na pata quanto na face dos animais, produz tipicamente uma resposta nociceptiva bifásica (DUBUISSON & DENIS, 1977; PELLISIER *et al.*, 2002), e assim como o teste da capsaicina é de grande utilidade no *screening* de fármacos com potencial analgésico. A primeira fase de resposta, também chamada fase neurogênica, é considerada decorrente da ativação direta de fibras C pela formalina, enquanto que a segunda fase, também chamada fase inflamatória, envolve a participação de diversos mediadores inflamatórios, tais como, bradicinina, prostaglandina, histamina, e citocinas (PARADA *et al.*, 2001; CHICHORRO *et al.*, 2004). Ademais, a segunda fase é caracterizada pelo desenvolvimento de alterações neuroquímicas no corno dorsal da medula espinhal, bem como no subnúcleo caudalis, as quais promovem um processo de sensibilização central (TJØLSEN *et al.*, 1992; HUANG *et al.*, 2013).

No presente estudo, verificamos que o pré-tratamento com pregabalina não modificou a primeira fase da resposta à formalina, mas causou uma redução significativa da segunda fase da resposta. Resultados semelhantes foram reportados quando o efeito da pregabalina foi avaliado no teste de formalina na pata, tanto de camundongos quanto de ratos (FIELD *et al.*, 2006, BARDIN *et al.*, 2010; KWEON *et al.*, 2011).

Por se tratar de uma fase inflamatória, a segunda fase da resposta à formalina pode ser significativamente reduzida por AINEs, como demonstrado em um estudo prévio do nosso grupo (CHICHORRO *et al.*, 2004). Por outro lado, a fase I não é sensível aos AINES, porém pode ser controlada com o uso de analgésicos

opioides. Na verdade, diversos autores já demonstraram que a morfina é capaz de reduzir ambas as fases da resposta induzida pela formalina (CLAVELOU *et al.*, 1989; CAPUANO *et al.*, 2009). Dessa maneira, utilizamos a morfina como controle positivo deste experimento e, corroborando estudos anteriores, demonstramos que esse opióide foi capaz de reduzir significativamente ambas as fases de resposta à formalina orofacial. Portanto, os resultados obtidos no teste da formalina sugerem que a pregabalina não é capaz de interferir na ativação dos nociceptores por este agente algogênico e apresenta um perfil antinociceptivo diferente dos analgésicos opióides.

Neste mesmo sentido, no presente estudo demonstrou-se que a hiperalgisia térmica induzida por carragenina é significativamente reduzida pelo pré-tratamento com pregabalina. A aplicação de carragenina orofacial não faz ativação de nociceptores, visto que o animal não realiza *grooming* facial após a injeção de carragenina na face, mas promove a liberação de mediadores inflamatórios que sensibilizam os nociceptores, ocasionando hiperalgisia térmica associada a um processo inflamatório. Portanto, assim como a segunda fase da resposta à formalina, a hiperalgisia térmica induzida por carragenina aplicada na região orofacial pode ser reduzida pelo emprego de AINES (CHICHORRO *et al.*, 2006).

Corroborando nossos achados, recentemente, Narita e colaboradores (NARITA, 2012) demonstraram que o pré-tratamento sistêmico com pregabalina atenuou a resposta sensorial e motora induzida por injeção intra-pulpar de óleo de mostarda na polpa dentária de ratos, um modelo de dor inflamatória pulpar. Neste mesmo estudo, demonstrou-se que a administração intra-pulpar de óleo de mostarda levava a intensa liberação de glutamato no subnúcleo *caudalis*, a qual foi significativamente reduzida pela pregabalina. Em vista destes resultados, os autores propuseram que o efeito antinociceptivo da pregabalina neste modelo era decorrente da sua habilidade de inibir a liberação de glutamato no corno dorsal da medula (NARITA *et al.*, 2012).

Além disso, tem sido sugerido que outros mecanismos contribuem para os efeitos analgésicos da pregabalina em modelos de dor inflamatória, como por exemplo a ativação de canais de potássio dependentes de ATP (KWEON *et al.*,

2011). No entanto, a contribuição de cada um desses mecanismos já propostos para a ação antinociceptiva da pregabalina nos modelos avaliados no presente estudo ainda precisa ser estabelecida. Neste sentido, é importante ressaltar que não existe qualquer evidência de uma correlação entre o aumento na expressão da subunidade $\alpha_2\delta-1$ dos canais de cálcio dependentes de voltagem e as respostas nociceptivas induzidas por capsaicina, formalina ou carragenina. Portanto, parece pouco provável que em dores agudas e/ou inflamatórias o efeito antinociceptivo da pregabalina esteja relacionada com a redução da inserção de canais de cálcio dependentes de voltagem na membrana pré-sináptica. Por outro lado, uma característica em comum dos modelos utilizados no presente estudo é o desenvolvimento do processo de sensibilização central (PELLISSIER *et al.*, 2002; TJØLSEN *et al.*, 1992; ALEY *et al.*, 2000; ROBERTS *et al.*, 2009; MITSIKOSTAS *et al.*, 2011; VILLAREAL *et al.*, 2013). De acordo com Bannister e colaboradores, a ação inibitória da pregabalina em condições não-neuropáticas é facilitada pela presença de um estado de sensibilização na medula espinhal. Estes autores sugerem ainda que o efeito da pregabalina nestas condições está relacionado com a modulação da função, mas não da modulação da expressão das subunidades $\alpha_2\delta-1$ dos canais de cálcio dependentes de voltagem, que é observado em condições neuropáticas (BANNISTER *et al.*, 2011). Um dos resultados da redução da funcionalidade dos canais de cálcio pré-sinápticos seria a diminuição de liberação de glutamato espinhal, que já foi demonstrado em estudos prévios (NARITA *et al.*, 2012).

Embora o processo de sensibilização que se desenvolve após lesão tecidual normalmente seja reversível, o desenvolvimento deste fenômeno é de extrema importância para a cronificação da dor e para o surgimento das alterações sensoriais, tais como alodinia, hiperalgesia primária e secundária, que são observados em diversas condições de dor neuropática (LATREMOLIERE & WOLF, 2009). São nessas condições dolorosas que o papel da pregabalina tem sido amplamente investigado, e os resultados favoráveis neste estudos levaram à sua aprovação para controle da dor associada a neuropatia periférica diabética,

neuralgia pós-herpética e dores neuropáticas de origem central (BAIDYA *et al.*, 2011).

Com relação às dores neuropáticas trigeminais, Kumar e colaboradores mostraram no modelo de transecção total do nervo infraorbital de ratos que a pregabalina é capaz de diminuir a hipersensibilidade mecânica facial, além de reduzir a liberação de glutamato no subnúcleo caudalis (KUMAR *et al.*, 2013). Em adição, Cao e colaboradores demonstraram que a pregabalina é capaz de atenuar a hiperalgesia mecânica após transecção parcial do nervo infraorbital em ratos, bem como reverter parâmetros indicativos de sensibilização central, tais como redução do limiar de ativação das fibras e respostas aumentadas a estimulação mecânica (CAO *et al.*, 2013). Corroborando estes estudos, nossos resultados mostram que a pregabalina também é capaz de reduzir a hiperalgesia térmica orofacial induzida pela constrição do nervo infra-orbital de ratos, sugerindo que seu efeito anti-hiperalgésico não se limita a estímulos de natureza mecânica. Considerados em conjunto, esses estudos estão de acordo com as evidências clínicas de que a pregabalina pode ser útil no tratamento da neuralgia do trigêmeo (OBERMANN *et al.*, 2008; PÉREZ *et al.*, 2009).

A despeito das inúmeras evidências a favor do emprego da pregabalina em condições de dor neuropática, o seu potencial analgésico em dores associadas a diferentes tipos de câncer ainda precisa ser determinado. Em uma revisão sistemática da literatura, Bennett e colaboradores concluíram que existem poucos estudos que avaliaram segurança e eficácia da pregabalina em dores associadas ao câncer, bem como detectaram diversas limitações nesses estudos, que impedem determinar sua utilidade e aplicabilidade no tratamento nestas condições (BENNETT *et al.*, 2013).

Em muitos tipos de câncer, a dor que está associada apresenta características de dor nociceptiva e/ou inflamatória, mas também características de dor neuropática, o que torna a dor refratária a uma grande diversidade de tratamentos (EPSTEIN *et al.*, 2009). No entanto, especialmente nestes casos, dois estudos recentes relataram que a pregabalina pode funcionar como um importante adjuvante no controle da dor neuropática em pacientes com câncer. No primeiro,

mostrou-se que a pregabalina foi mais eficaz do que o fentanil no controle da dor neuropática de pacientes com câncer, além de ser melhor tolerada do que o opióide (RAPTIS *et al.*, 2014). No segundo, verificou-se que a combinação de pregabalina em baixas doses com antidepressivos e opioides foi eficaz no manejo da dor em pacientes com metástases ósseas dolorosas (NISHIHARA *et al.*, 2013).

Corroborando estes resultados, no presente estudo fornecemos a primeira evidência pré-clínica de que a pregabalina é capaz de aliviar a hiperalgisia térmica em um modelo de câncer facial. O modelo empregado foi proposto em 2007 por Nagahata e colaboradores (NAGAHATA *et al.*, 2007) e desde então estabeleceu-se como um modelo de dor de câncer com componentes nociceptivos e neuropáticos e com perfil de sintomas semelhantes aos observados em pacientes acometidos de câncer orofacial (ONO *et al.*, 2009; HARANO *et al.*, 2010; HIDAKA *et al.*, 2011; ONO *et al.*, 2012).

Assim, o marcante efeito anti-hiperalgésico de pregabalina no modelo de câncer facial reforça ainda mais a necessidade de estudos clínicos direcionados para avaliar o potencial da pregabalina no controle da dor associada a diferentes tipos de câncer.

6 CONCLUSÃO

Como pode ser observado na tabela abaixo, a pregabalina foi capaz de atenuar as respostas nociceptivas em diferentes modelos de dor orofacial. Esses dados, em conjunto, indicam que a pregabalina é eficaz no controle de dores orofaciais agudas e/ou inflamatórias que apresentem evidências do desenvolvimento de sensibilização central, além de representar uma importante ferramenta no controle das dores neuropáticas.

MODELO	PARÂMETRO AVALIADO	EFEITO DA PREGABALINA	VALOR DO P	TESTE ESTATÍSTICO
Teste da Capsaicina	Tempo de <i>Grooming</i> facial	Reduziu	*P<0,0001	ANOVA de 1 via seguida do teste de Newman-Keuls
Teste da Formalina	Tempo de <i>Grooming</i> facial			ANOVA de 1 via seguida do teste de Newman-Keuls
1ª fase		Não modificou	-	
2ª fase		Reduziu	*P<0,0001	
Hiperagesia induzida por Carragenina	Hiperalgisia ao Calor	Reduziu	*P<0,0001	ANOVA de 2 vias de medidas repetidas seguida do teste de Newman-Keuls
Constricção do nervo infraorbital	Hiperalgisia ao Calor	Reduziu	*P<0,0001	ANOVA de 2 vias de medidas repetidas seguida do teste de Newman-Keuls
Câncer Facial	Hiperalgisia ao Calor	Reduziu	*P<0,0001	ANOVA de 2 vias de medidas repetidas seguida do teste de Newman-Keuls

Tabela 2. Resumo comparativo dos resultados obtidos.

*Os valores de P apresentados referem-se ao efeito:

- de ambas as doses de PGB (10 e 30 mg/kg) no teste da capsaicina,
- da dose de 30 mg/kg na segunda fase do teste da formalina,
- de ambas as doses de PGB na 4^a h após administração de carragenina,
- da dose de 30 mg/kg no intervalo de 2 a 4 h após a injeção em animais constrictos,
- da dose de 30 mg/kg 4 h após a injeção no modelo de câncer facial.

REFERÊNCIAS

ANDREEVA, L.; RANG, H.P. Effect of bradykinin and prostaglandins on the release of calcitonin gene-related peptide-like immunoreactivity from the rat spinal cord in vitro. **British Journal of Pharmacology**, v. 108, p. 185-190, 1993.

ALEXANDER, S.P.H. *et al.* The Concise Guide to PHARMACOLOGY 2013/14: G Protein-Coupled Receptors. **Br J Pharmacol**, v.170, p. 1459–1581, 2013.

ALEY, K.O. *et al.* Chronic hypersensitivity for inflammatory nociceptor sensitization mediated by the ϵ isozyme of protein kinase C. **J Neurosci**, v. 20, p. 4680–4685, 2000.

ALVES, T. C. A.; AZEVEDO, G. S.; CARVALHO, E. S. Tratamento farmacológico da neuralgia do trigêmio: revisão sistemática e metanálise. **Rev Bras Anesthesiol**, v. 54, n. 6, p. 836-492, 2004.

AUSTIN, C.E. *et al.* Stable expression of the human kinin B1 receptor in chinese hamster ovary cells. **Journal of Biological Chemistry**, v. 272, p. 11420–11425, 1997.

BAE, Y.C.; YOSHIDA, A. Ultrastructural basis for craniofacial sensory processing in the brainstem, **Int Rev Neurobiol**. v. 97, p. 99-141, 2011.

BABENKO, V. *et al.* Duration and distribution of experimental muscle hyperalgesia in humans following combined infusions of serotonin and bradykinin. **Brain Res**, v. 853, n. 2, p. 275-81, 2000.

BAIDYA, D.K. *et al.* Pregabalin in acute and chronic pain. **J Anaesthesiol Clin Pharmacol**, v. 27, n. 3, p. 307-14, 2011.

BANNISTER, K. *et al.* Pregabalin suppresses spinal neuronal hyperexcitability and visceral hypersensitivity in the absence of peripheral pathophysiology. **Anesthesiology**, v. 115, p. 144-152, 2011.

BARDIN, L. *et al.* Comparison of milnacipran, duloxetine and pregabalin in the formalin pain test and in a model of stress-induced ultrasonic vocalizations in rats. **Neurosci Res**, 2010 Feb;v. 66, n. 2, p. 135-40, 2010.

BENNETT *et al.* Pregabalin for the Management of Neuropathic Pain in Adults with Cancer: A Systematic Review of the Literature. **Pain Med**, v. 14, n. 11, p. 1681-1688, 2013.

BENOLIEL, R. *et al.* Orofacial pain in cancer: part I-mechanisms. **J Dent Res**, v. 86, n. 6, p. 491-505, 2007.

BENOLIEL, R.; SHARAV, Y. Chronic orofacial pain. **Curr Pain Headache Rep**, v. 14, n. 1, p. 33-40, 2010.

BEYREUTHER, B. K. *et al.* Antihyperalgesic efficacy of lacosamide in a rat model for muscle pain induced by TNF. **Neuropharm**, v. 52, n. 5, p. 1312-7, 2007.

BOCKBRADE, H.N. *et al.* Acomparison of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of pregabalin andgabapentin. **Clin Pharmacokinet**, v. 49, n. 10, p. 661-9, 2010.

BLOM, S.; Trigeminal neuralgia: its treatment with a new anticonvulsant drug (G-32883). **Lancet**, v. 1, n. 7234, p. 839-840, 1962.

BRIGATTE, P. *et al.* Walker 256 tumor-bearing rats as a model to study cancer pain. **J Pain**, v. 8, p. 412-421, 2007.

CALDERON, S. P. *et al.* Neurotransmissores e as dores orofaciais. **Rev Dor.** v. 10, n. 1, p. 51-55, 2009.

CAO, Y. *et al.* Pregabalin suppresses nociceptive behavior and central sensitization in a rat trigeminal neuropathic pain model. **J Pain.** v. 14, n. 2, p. 193-204, 2013.

CAPUANO, A. *et al.* Antinociceptive activity of buprenorphine and lumiracoxib in the rat orofacial formalin test: a combination analysis study. **Eur J Pharmacol,** v. 605, p. 57-62, 2009.

CARLTON, S. M.; ZHOU, S.; COGGESHALL, R. E. Evidence for the interaction of glutamate and NK1 receptors in the periphery. **Brain Research,** v. 790, p. 160-169, 1998.

CHAMBLISS, C. R. *et al.* The assessment and management of chronic pain in children. **Paediatr Drugs,** v. 4 n. 11, p. 737-746, 2002.

CHEN, S. R.; XU, Z.; PAN, H. L. Stereospecific effect of pregabalin on ectopic afferent discharges and neuropathic pain induced by sciatic nerve ligation in rats. **Anesthesiology.** v. 95, n. 6, p. 1473-1479, 2001.

CHICHORRO, J. G.; LORENZETTI, B. B.; ZAMPRONIO, A. R. Involvement of bradykinin, cytokines, sympathetic amines and prostaglandins in formalin-induced orofacial nociception in rats. **Br. J. Pharmacol,** v. 141, n. 7, p. 1175-1184, 2004.

CHICHORRO, J.G. *et al.* Orofacial cold hyperalgesia due to infraorbital nerve constriction injury in rats: reversal by endothelin receptor antagonists but not non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Pain,** v. 123, n. 1-2, p. 64-74, 2006.

CHICHORRO, J. G. *et al.* Mechanisms operated by endothelin ETA and ETB receptors in the trigeminal ganglion contribute to orofacial thermal hyperalgesia

induced by infraorbital nerve constriction in rats. **Neuropeptides**, v. 43, n. 2, p. 133-42, 2009.

CHRISTOPH, T. *et al.* Synergistic antihypersensitive effects of pregabalin and tapentadol in a rat model of neuropathic pain. **Eur J Pharmacol.** v. 666, n. 1-3, p. 72-79, 2011.

CLAVELOU, P. *et al.* Application of formalin test to study of orofacial pain in the rat. **Neurosci Lett**, v. 103, p. 349-353, 1989.

CRAMER, H. *et al.* Integrative Oncology: Best of Both Worlds-Theoretical, Practical, and Research Issues. **Evid Based Complement Alternat Med.** v. 38, p. 31-42, 2013.

CUNHA, F. Q. *et al.* Interleukin-8 as a mediator of sympathetic pain. **British Journal of Pharmacology**, v. 104, p. 765-767, 1991.

DEVOR, M.; AMIR, R.; RAPPAPORT, Z.H. Pathophysiology of trigeminal neuralgia: the ignition hypothesis. **Clin J Pain**, v. 18, n. 1, p. 4-13, 2002.

DIOS, P.D.; LÉSTON, J.S. Oral cancer pain. **Oral Oncol**, v. 46, n. 6, p. 448-451, 2010.

DOSTROVSKY, J.O. Brainstem and thalamic relays. **Handb Clin Neurol**, v.81, p. 127-39, 2006.

DOURSOUT, M.; LIANG, Y.; CHELLY, J.E. NOS inhibitors exhibit antinociceptive properties in the rat formalin test. **Canadian Journal of Anesthesia**, v. 50, 909-916, 2003.

DRAY, A. Kinins and their receptors in hyperalgesia. **Canadian Journal of Physiology & Pharmacology**, v. 75, p. 704–712, 1997.

DUBNER, R.; SESSLE, B.J.; STOREY, A.T. The neural basis of oral and facial function. New York: **Plenum Press**, 1978.

DUBIN, A, E.; PATAPOUTIAN, A. Nociceptors: the sensors of the pain pathway. **J Clin Invest**, v. 120, n. 11, p. 3760–3772, 2010.

DUBUISSON, D.; DENNIS, S.G. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. **Pain**, v. 4, n. 2, p.161-174, 1977.

ESIN, E.; YALCIN, S. Neuropathic cancer pain: What we are dealing with? How to manage it? **Onco Targets Ther.** v. 17, n. 7, p. 599-618, 2014.

EPSTEIN, J.B. *et al.* Neuropathic and nociceptive pain in head and neck cancer patients receiving radiation therapy. **Head Neck Oncol**, v. 1, p. 26, 2009.

EUROPEAN PARTNERSHIP ACTION AGAINST CANCER CONSENSUS GROUP *et al.* Policy statement on multidisciplinary cancer care. **Eur J Cancer**, v. 50, n. 3, p. 475-480, 2014.

EL-TALLAWY, H.N. *et al.* Prevalence of trigeminal neuralgia in Al-Quseir city (Red sea Governorate), Egypt. **Clin Neuroland Neurosurg**, v 1-3, 2013.

FARBER, L. *et al.* Physiology and pathophysiology of the 5-HT₃ receptor. **Scand J Rheumatol Suppl**, v. 119, p. 2-8, 2004.

FEHRENBACHER, J.C.; TAYLOR, C.P.; VASKO, M.R. Pregabalin and gabapentin reduce release of substance P and CGRP from rat spinal tissues only after inflammation or activation of protein kinase C. **Pain**, v. 105, p. 133-41, 2003.

FENG, Y. *et al.* Current research on opioid receptor function. **Curr. Drug Targets** v. 13, n. 2, p. 230–246, 2012.

FERREIRA, S. H.; LORENZETTI, B. B.; POOLE, S. Bradykinin initiates cytokine-mediated inflammatory hyperalgesia. **British Journal of Pharmacology**, v. 110, p. 1227-1231, 1993.

FIELD, M. J.; McCLEARY, S.; HUGHES, J. Gabapentin and pregabalin, but not morphine and amitriptyline, block both static and dynamic components of mechanical allodynia induced by streptozocin in the rat. **Pain**, v. 80, n. 1-2, p. 391-398, 1999.

FIELD, M.J. *et al.* Identification of the alpha2-delta-1 subunit of voltage-dependent calcium channels as a molecular target for pain mediating the analgesic actions of pregabalin. **Proc Natl Acad Sci**, v. 103, n. 46, p. 17537-42, 2006.

FORNASARI, D. Pain mechanisms in patients with chronic pain. **Clin Drug Investig**, v. 32, p 45-52, 2012.

FRIED, K.; BONGENHIELM, U.; BOISSONADE, F. M.; ROBINSSON, P. P. Nerve injury-induced pain in the trigeminal system. **The Neuroscientist**, v. 7, n. 2, p. 155-165, 2001.

FUKUOKA, H. *et al.* Cutaneous hyperalgesia induced by peripheral injection of interleukin-1b in the rat. **Brain Research**, v. 657, p. 133-140, 1994.

FÜRST, S. Transmitters involved in antinociception in the spinal cord. **Brain Research Bulletin**, v. 48, p.129-141, 1999.

GEORGE, A.; BUEHL, A.; SOMMER, C. Tumor necrosis factor receptor 1 and 2 proteins are differentially regulated during Wallerian degeneration of mouse sciatic nerve. **Experimental Neurology**, v. 192, p. 163–166, 2005.

GILRON, L. *et al.* Pregabalin for peripheral neuropathic pain: a multicenter, enriched enrollment randomized withdrawal placebo-controlled trial. **Clin J Pain**, v. 27, n. 3, p.185-93, 2011.

GLARE, P.A.; WALSH, T.D. Clinical pharmacokinetics of morphine. **Ther Drug Monit**, v. 13, n. 1, p. 1-23. 1991.

GÓES, T, M, P, L.; FERNANDES, R, S, M. Neuralgia do trigêmeo: diagnóstico e tratamento. **Int J Dent**, v. 7, n. 2, p. 104-115, 2008.

GOURLAY, G.K. Advances in opioid pharmacology. **Support Care Cancer**.v. 13, n. 3, p. 153-9, 2005.

HAMMOND, D. L. Control systems for nociceptive afferent processing- The descending Inhibitory pathways. In: Yaksh, T. L. Spinal afferent processing. **Plenum. Publishing Corporation**, p .366-390, 1986.

HARANO, N. *et al.* Differences between orofacial inflammation and cancer pain. **J Dent Res**, v. 89, p. 615-620, 2010.

HAY, C. H.; DEBELLEROUCHE, J. S. Dexamethasone prevents the induction of COX-2 mRNA and prostaglandins in the lumbar spinal cord following intraplantar CFA in parallel with inhibition of oedema. **Neuroscience**, v. 78, p. 843-850, 1998.

HEADACHE CLASSIFICATION COMMITTEE OF INTERNATIONAL HEADACHE SOCIETY (IHS). **Cephalalgia**, The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition (beta version). v. 33, n. 9, p. 629-808, 2013.

HENRIKSEN, G.; WILLOCH, F. Imaging of opioid receptors in the central nervous system. **Brain**, v. 131, p. 1171-1196, 2008.

HIDAKA, K. *et al.* Central glial activation mediates cancer-induced pain in a rat facial cancer model. **Neuroscience**, v. 180, p. 334-343, 2011.

HU, W.W.; CHEN, Z. Role of histamine and its receptors in cerebral ischemia. **ACS Chem Neurosci**. v. 3, n. 4, p.238-47, 2012.

HUANG, H.C.; NAKATSUKA, M.; IWAI, Y. Activation of microglial cells in the trigeminal subnucleus caudalis evoked by inflammatory stimulation of the oral mucosa. **Okajimas Folia Anat Jpn**, v. 89, n. 4, p.137-45, 2013

HUSSAIN, A. M.; AFSHAN, G. Use of Anticonvulsivants Drugs for Neuropathic Painful Conditions. **J Pak Med Assoc**, v. 58, n. 12, p. 690-695, 2008.

INCA (Instituto Nacional do Câncer). O Câncer no Brasil. Disponível em: <http://www.inca.org.br>

JONGEN J.L.M. *et al.* Neuropathic Pain and Pharmacological Treatment. **Pain Pract**, v. 14, n. 3, p. 283-295, 2014.

JULIUS, D.; BASBAUM, A. I. Molecular mechanisms of nociception. **Nature**, v. 413, n. 6852, p. 203-210, 2001.

KLUGBAUER, N. *et al.* Role of hippocampal Cav1.2 Ca²⁺ channels in NMDA receptor-independent synaptic plasticity and spatial memory. **J Neurosci**, v. 25, n. 43, p. 9883-9892, 2005.

KNOTKOVA, H.; PAPPAGALLO, M. Adjuvant analgesics. **Anesthesiol. Clin**, v. 25, n. 4, p. 775-786, 2007.

KUMAR. N. *et al.* Evidence that pregabalin reduces neuropathic pain by inhibiting the spinal release of glutamate. **J Neurochem**, v. 113, n. 2, p. 552-561, 2010.

KUMAR, N. *et al.* Systemic pregabalin attenuates facial hypersensitivity and noxious stimulus-evoked release of glutamate in medullary dorsal horn in a rodent model of trigeminal neuropathic pain. **Neurochem Int**, v. 62, p. 831-835, 2013.

KRAFFT, R.M. Trigeminal Neuralgia. **American F. Physician**, v. 77, n. 9, p. 1291-1296, 2008.

KWEON, T. D. *et al.* Participation of K(ATP) Channels in the Antinociceptive Effect of Pregabalin in Rat Formalin Test. **Korean J Pain**, v. 24, n. 3, p. 131-136, 2011.

LATREMOLIERE, A.; WOOLF, C.J. Central sensitization: a generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity. **J Pain**, v. 10, p. 895-926, 2009.

LISCHETZKI, G. *et al.* Nociceptor activation and protein extravasation induced by inflammatory mediators in human skin. **Eur J Pain**, v. 5, n. 1, p. 49-57, 2001.

LOFGREN, O.; QI, Y.; LUNDBERG, T. Inhibitory effects of tachykinin receptor antagonists on thermally-induced inflammatory reactions in rat mode. **Burns**, v. 25, p. 125-129, 1999.

LOPES, P. *et al.* Autoradiographic localization of [125I-Tyr8]-bradykinin receptor binding sites in the guinea pig spinal cord. **Synapse**, v. 15, p. 48-57, 1993.

LOYD, D.R.; HENRY, M.A.; HARGREAVES, K.M. Serotonergic neuromodulation of peripheral nociceptors. **Semin Cell Dev Biol**, v. 24, n. 1, p. 51-57, 2013.

ŁUSZCZKI, J.J. Dose-response relationship analysis of pregabalin doses and their antinociceptive effects in hot-plate test in mice. **Pharmacol Rep**, v. 62, p. 42-948, 2010.

MAHLER, D.A. Opioids for refractory dyspnea. **Expert Rev Respir Med**, v. 7, n. 2 p. 123-34, 2013.

MALMBERG, A. B.; YAKSH, T. L. Cyclooxygenase inhibition and the spinal release of prostaglandin E2 and aminoacids evoked by paw formalin injection: a microdialysis study in unanesthetized rats. **Journal of Neuroscience**, v. 15, p. 2768-2776, 1995.

MATHIS, S.A.; CRISCIMAGNA, N.L.; LEEB-LUNDBERG, L.M.F. B1 and B2 kinin receptors mediate distinct patterns of intracellular Ca²⁺ signalling in single cultured vascular smooth muscle cells. **Molecular Pharmacology**, v. 50, p. 128–139, 1996.

MARCEAU, F.; HESS, J.F.; BACHYAROV, D.R. The B1 receptors for kinins. **Pharmacology Reviews**, v. 50, p. 357-386, 1998.

MARCHAND, F.; PERRETTI, M.; MCMAHON, S. B. Role of the immune system in chronic pain. **Nature Reviews**, v. 6, p. 521-532, 2005.

MARQUEZ, J.O. A dor e seus aspectos multidimensionais. **Cienc. Cult**, v. 63, n. 2, p. 28-32, 2011.

MARTINEZ, J. A. *et al.* Comparison of central versus peripheral delivery of pregabalin in neuropathic pain states. **Mol Pain**, v. 11, n. 8, p. 3, 2012.

MARTINS, R. T. *et al.* Receptores opioides até o contexto atual. **Rev. Dor**, v. 13, n. 1, p. 75-79, 2012.

MELZAK, R.; KATZ, J. Pain. **Wires Cogn Sci**, v. 4, p. 1-15, 2013.

MITSIKOSTAS, D.D. *et al.* Triptans attenuate capsaicin-induced CREB phosphorylation within the trigeminal nucleus caudalis: a mechanism to prevent central sensitization? **J Headache Pain**, v. 12, p. 411-417, 2011.

MIYAZAKI, R.; YAMAMOTO, T. The efficacy of morphine, pregabalin, gabapentin, and duloxetine on mechanical allodynia is different from that on neuroma pain in the rat neuropathic pain model. **Anesth Analg.** v. 115, n. 1, p. :182-8, 2012.

MURPHY, P. G. *et al.* Endogenous interleukin-6 contributes to hypersensitivity to cutaneous stimuli and changes in neuropeptides associated with chronic nerve constriction in mice. **European Journal of Neuroscience**, v. 11, p. 2243–2253, 1999.

NAGAHATA S. *et al.* A rat model for cancer pain in the trigeminal nerve area. **J Jpn Dent Soc Anesthesiol.** v. 35, p. 21–28, 2007.

NARITA, N. *et al.* Systemic pregabalin attenuates sensorimotor responses and medullary glutamate release in inflammatory tooth pain model. **Neuroscience.** v. 30, n. 218, p. 359-366, 2012.

NI, A.; CHAO, L.; CHAO, J. Transcription factor nuclear factor NF-kB regulates the inducible expression of the human B1 receptor gene in inflammation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 273, p. 2784–2791, 1998.

NISHIHARA, M. *et al.* Combinations of low-dose antidepressants and low-dose pregabalin as useful adjuvants to opioids for intractable painful bone metastases. **Pain Physician**, v. 16, p. E547-552, 2013.

NONES, C.F. *et al.* Orofacial sensory changes after streptozotocin-induced diabetes in rats. **Brain Res.** v. 1501, p. 56-67, 2013.

OBERMANN, M. *et al.* Efficacy of pregabalin in the treatment of trigeminal neuralgia. **Cephalalgia**, v. 28, p. 174-181, 2008.

OKAZAKI, R. *et al.* Combined antiallodynic effect of Neurotrophin® and pregabalin in rats with L5-spinal nerve ligation. **Life Sci.** v. 92, n. 4-5, p. 259-265, 2013.

OKUDA, K. *et al.* Characterization of nociceptive responses and spinal releases of nitric oxide metabolites and glutamate evoked by different concentrations of formalin in rats. **Pain**, v. 92, p. 107-115, 2001.

OLSZEWSKI, J. On the anatomical and functional organization of the spinal trigeminal nucleus. **J Comp Neurol**, v. 92, p. 401-413, 1950.

ONO, K. *et al.* Behavioral characteristics and c-Fos expression in the medullary dorsal horn in a rat model for orofacial cancer pain. **Eur J Pain**. v. 13, p. 373-379, 2009.

ONO, K. *et al.* A rat pain model of facial cancer. **Methods Mol Biol**, v. 851, p. 49-157, 2012.

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.

PELISSER, T.; PAJOT, J.; DALLEL. R. The orofacial capsaicin test in rats: effects of different capsaicin concentrations and morphine. **Pain**, v. 96, p. 81-87, 2002.

PLAZA-VILLEGAS, F. *et al.* Topical pregabalin and diclofenac for the treatment of neuropathic orofacial pain in rats. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol**, v. 114, n. 4, p. 449-456, 2012.

PEREIRA, E. M. ***Avaliação do papel de receptores NMDA para glutamato na nocicepção orofacial aguda e crônica em ratos.*** Dissertação (Mestrado em Farmacologia pelo Programa de Pós-Graduação do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná), Curitiba, 2006.

PEREIRA, R. J. *et al.* Pain management after outpatient surgical procedure. **Rev. Dor**, v.14, n. 1, p. 61-7, 2013.

PÉREZ, C. *et al.* Patient-reported outcomes in subjects with painful trigeminal neuralgia receiving pregabalin: evidence from medical practice in primary care settings. **Cephalalgia**, v. 29, p. 781-790, 2009.

PERGOLIZZE, J. *et al.* The development of chronic pain: physiological change necessitates a multidisciplinary approach to treatment. **Curr Med Res Opin.** v. 29, n. 9, p. 1127-35, 2013.

PESCHILLO, S.; DELFINI, R. Trigeminal Neuralgia: A New Neuroimaging Perspective. **World Neurosurg**, v. 1-3, 2012.

PORTENOY, R. Clinical perspectives on preclinical models of bone pain: questions and promises. **Pain**, v. 152, n. 11, p. 2455-6, 2011.

RAPTIS, E. *et al.* Pregabalin Vs. Opioids for the Treatment of Neuropathic Cancer Pain: A Prospective, Head-to-Head, Randomized, Open-Label Study. **Pain Pract** v. 14, n. 1, p. 32-42, 2014.

ROBERTS, J.; OSSIPOV. M.H.; PORRECA, F. Glial activation in the rostroventromedial medulla promotes descending facilitation to mediate inflammatory hypersensitivity. **Eur J Neurosci**, v. 30, p. 229-241, 2009.

RUDOLPH, M.K. Trigeminal Neuralgia, **Am Fam Physician**, v. 77, n. 9, p. 1291-1296, 2008.

SCHAFERS, M. *et al.* Combined epineurial therapy with neutralizing antibodies to tumor necrosis factor- α and interleukin-1 receptor has an additive effect in reducing neuropathic pain in mice. **Neuroscience Letters**, v. 310, p. 113–116, 2001.

SCHMIDT, B.L. *et al.* Mechanism of cancer pain. **Mol Interv.** v. 10, n. 3, p. 164-178, 2010.

SEIFERT, R. *et al.* Molecular and cellular analysis of human histamine receptor subtypes. **Trends Pharmacol Sci**, v. 34, n. 1, p. 33-58, 2013.

SESSLE, B.J. Acute and chronic craniofacial pain: brainstem mechanisms of nociceptive transmission and neuroplasticity, and their clinical correlates. **Crit Rev Oral Biol Med**, v. 11, n. 1, p. 57–91, 2000.

SESSLE, B.J. Peripheral and central mechanisms of orofacial pain and their clinical correlates. **Minerva Anesthesiol**, v. 71, p. 117-36, 2005.

SESSLE, B.J. Mechanisms of oral somatosensory and motor functions and their clinical correlates. **J. Oral Rehabil**, v. 33, p. 243-261, 2006.

SHERWOOD, E.R.; TOLIVER-KINSKY, T. Mechanisms of the inflammatory response. **Best Pract Res Clin Anaesthesiol**. v. 18, n. 3, p. 385-405, 2004.

SIQUEIRA, S.R.D.T. *et al.* Abnormal expression of voltage-gated sodium channels Nav1.7, Nav1.3 and Nav1.8 in trigeminal neuralgia. **Neuroscience**, v. 164, n. 2, p. 573-577, 2009.

SOUSA, A. M.; PRADO, W. A. The dual effect of a nitric oxide donor in nociception. **Brain Research**, v. 897, p. 9-19, 2001.

STAHL, S.M. *et al.* The diverse therapeutic actions of pregabalin: is a single mechanism responsible for several pharmacological activities? **Trends Pharmacol Sci**, v. 34, p. 332-339, 2013.

STEIN, C.; MILLAN, M. J.; HERZ, A. Unilateral inflammation of the hindpaw in rats as a model of prolonged noxious stimulation: alterations in behavior and nociceptive thresholds. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 31, p. 445-451, 1988.

STOCKTON, S.D.; DEVI, L.A. Functional relevance of μ - δ opioid receptor heteromerization: a role in novel signaling and implications for the treatment of addiction disorders: from a symposium on new concepts in mu-opioid pharmacology. **Drug Alcohol Depend.** v. 121, n. 3, p. 167-72, 2012.

STERANKA, L.R. *et al.* Bradykinin as a pain mediator: receptors are localized to sensory neurons, and antagonists have analgesic actions. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 85, p. 3245–3249, 1988.

SVENSSON, P.; SESSLE, B.J. Orofacial pain. **Clinical oral physiology**. p. 93-140, 2004.

SYRIATOWICZ, J. P.; HU, D; WALKER, J. S.; TRACEY, D. J. Hyperalgesia due to nerve injury: role of prostaglandins. **Neuroscience**, v. 94, p. 587-594, 1999.

TANG, J.S.; QU, C.G.; HUO, F.Q. The thalamic nucleus submedius and Ventrolateral orbital cortex are involved in nociceptive modulation: A novel pain modulation pathway. **Neurobiol**, v. 89, n. 4, p. 383–389, 2009.

TEOH, H.; MALCANGIO, M.; FOWLER, L. J.; BOWERY, N. G. Evidence for release of glutamic acid, aspartic acid and substance P but not γ -aminobutyric acid from primary afferent fibers in rat spinal cord. **European Journal of Pharmacology**, v. 302, p. 27-36, 1996.

TJØLSEN, A. *et al.* The formalin test: an evaluation of the method. **Pain**, v.51, p. 5-17, 1992.

TOTANI, T. *et al.* Possible involvement of interleukin-1 in cyclooxygenase-2 induction after spinal cord injury in rats. **Journal of Neurochemistry**, v. 72, p. 302-309, 1999.

TURNBACH, M. E.; RANDICH, A. The role of spinal neurokinin-1 and glutamate receptors in hyperalgesia and allodynia induced by prostaglandin E2 or zymosan in the rat. **Pain**, v. 97, p. 127-137, 2002.

VAN DEN BEUKEN-VAN EVERDINGEN, M.H. *et al.* Prevalence of pain in patients with cancer: a systematic review of the past 40 years. **Ann Oncol**, v. 18, n. 9, p. 1437-1449, 2007.

VAN KLEEF, M. *et al.* Trigeminal neuralgia. **Pain Pract**, v. 9, n. 4, p. 252-259, 2009.

VIET, C.T.; SCHMIDT, B.L. Biologic Mechanisms of Oral Cancer Pain and Implications for Clinical Therapy. **J Dent Res**, v.91, p. 447-453, 2012.

VILLARREAL, C.F. *et al.* The long-lasting sensitization of primary afferent nociceptors induced by inflammation involves prostanoid and dopaminergic systems in mice. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 103, p. 678-683, 2013.

VOS, B.P.; MACIEWICZ, R.J. Behavioral changes following ligation of the infraorbital nerve in rat: an animal model of trigeminal neuropathic pain. In: Besson JM, Guilbaud G, editors. Lesions of primary afferent fibers as a tool for the study of clinical pain. Amsterdam: **Elsevier**, p. 147–58, 1991.

WANG, H. *et al.* Effect of morphine and pregabalin compared with diphenhydramine hydrochloride and placebo on hyperalgesia and allodynia induced by intradermal capsaicin in healthy male subjects. **J Pain**, v. 9, p. 1088-1095, 2008.

WINKELSTEIN, B. A. Mechanisms of central sensitization, neuroimmunology & injurybiomechanics in persistent pain: implications for musculoskeletal disorders. **J Electromyogr Kinesiol**, v. 14, p. 87-93, 2004.

ZAKRZEWSKA, J.M.; LINSKEY, M.E. Trigeminal neuralgia. **Clin Evid** (Online). v. 12, 2009.

