

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

DARCIA NE FAVERO BAGGIO



AVALIAÇÃO DO EFEITO DO TRATAMENTO COM RESOLVINA D5 EM MODELO DE DOR NEUROPÁTICA TRIGEMINAL EM RATOS MACHOS E FÊMEAS

CURITIBA
2021

DARCIA NE FAVERO BAGGIO

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DO TRATAMENTO COM RESOLVINA D5 EM MODELO
DE DOR NEUROPÁTICA TRIGEMINAL EM RATOS MACHOS E FÊMEAS**

Trabalho de Conclusão de Curso II apresentado ao curso de Graduação em Biomedicina, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Juliana Geremias Chichorro

Curitiba
2021

RESUMO

A neuralgia do trigêmeo, caracterizada por uma dor orofacial breve e recorrente, é desencadeada por estímulos sensoriais inócuos e está associada à uma redução da qualidade de vida dos pacientes. Existem poucas opções para o controle da dor crônica trigeminal, as quais apresentam inúmeros efeitos adversos. Recentemente, estudos têm reportado a eficácia dos mediadores lipídicos pró-resolução no tratamento de dores inflamatórias e crônicas. Tais substâncias, separadas em famílias como as lipoxinas, protectinas, resolvinas e maresinas, são derivadas dos precursores dos ácidos graxos essenciais e apresentam atividade dual: anti-inflamatória e pró-resolutiva. As primeiras evidências da participação dos mediadores lipídicos na resolução da dor foram obtidas através da administração intratecal, os quais foram capazes de atenuar a dor inflamatória. Ademais, foi reportada a diminuição dos níveis ou ação destes lipídeos em processos crônicos, sugerindo seu envolvimento na cronificação da dor. As pesquisas abordando a atividade da Resolvin D5 (RvD5) para a saúde ainda estão em estágio inicial, porém, esse mediador foi identificado como o mais abundante no exsudato de animais com inflamação e em tecidos de pacientes portadores de psoríase. Além disso, foi evidenciado uma diferença na resposta entre fêmeas e machos em um modelo de dor neuropática induzido por quimioterápico, diminuindo a hiperalgesia mecânica somente em machos. Diante destas observações, o presente trabalho é a primeira demonstração do papel analgésico da injeção medular no subnúcleo *caudalis* de RvD5 em modelo de dor neuropática trigeminal em ratos machos e fêmeas, sendo efetiva tanto na hiperalgesia térmica quanto mecânica, fornecendo um comparativo entre esses parâmetros. Assim, indicando não somente um possível tratamento para essa condição de dor crônica, mas também a susceptibilidade de ambos os sexos aos efeitos da RvD5.

Palavras-chave: neuralgia do trigêmeo, lipídeos pró-resolução, resolvina D5.

ABSTRACT

Trigeminal neuralgia, characterized by a brief and recurring orofacial pain, is triggered by innocuous sensory stimuli, and is associated with a reduction in the patients' quality of life. There are few options for the control of chronic trigeminal pain, which have numerous adverse effects. Recently, studies have reported the effectiveness of pro-resolution lipid mediators in the treatment of inflammatory and chronic pain. These substances, separated into families such as lipoxins, protectins, resolvins and maresines, are derived from the precursors of essential fatty acids and have dual, anti-inflammatory and pro-resolving activity. The first evidence of the participation of lipid mediators in the resolution of pain were obtained through intrathecal administration, which were able to mitigate inflammatory pain. In addition, a decrease in the levels or action of these lipids in chronic processes have been reported, suggesting their involvement in the chronicity of pain. Research addressing the activity of Resolvin D5 (RvD5) for health is still at an early stage, however, this mediator has been identified as the most abundant in the exudate of animals with inflammation and in the tissues of patients with psoriasis. In addition, a difference in response between females and males was evidenced in a chemotherapy-induced neuropathic pain model, decreasing mechanical hyperalgesia only in males. In view of these observations, the present work is the first demonstration of the analgesic role of spinal cord injection in the subnucleus *caudalis* of RvD5 in a model of trigeminal neuropathic pain in male and female rats, being effective in both thermal and mechanical hyperalgesia, providing a comparison between these parameters. Thus, it indicates not only a possible treatment for this chronic pain condition, but also the susceptibility of both sexes to the effects of RvD5.

Keywords: trigeminal neuralgia, specialized pro-resolving mediators, Resolvin D5.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	6
1.1 DOR CRÔNICA NEUROPÁTICA	6
1.2 NEURALGIA DO TRIGÊMEO	8
1.3 MEDIADORES LIPÍDICOS	10
1.3.1 Lipoxinas.....	12
1.3.2 Resolvinas.....	12
1.3.3 Protectinas	13
1.3.4 Maresinas.....	14
1.4 MEDIADORES LIPÍDICOS NA DOR INFLAMATÓRIA E CRÔNICA	14
1.5 RESOLVINA D5.....	16
1.6 JUSTIFICATIVA.....	17
2 OBJETIVOS	18
2.1 OBJETIVO GERAL	18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3 MATERIAIS E MÉTODOS	19
3.1 ANIMAIS.....	19
3.2 DROGAS E SOLUÇÕES	19
3.3 MODELO DE DOR NEUROPÁTICA OROFACIAL.....	19
3.4 AVALIAÇÃO DA HIPERALGESIA TÉRMICA E MECÂNICA OROFACIAL.....	20
3.5 ADMINISTRAÇÃO DE DROGAS	21
3.6 DESIGN EXPERIMENTAL	21
3.6.1 Experimento 1	21
3.6.2 Experimento 2	22
3.6.3 Experimento 3.....	23
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	24
4 RESULTADOS	25
4.1 EFEITO DO TRATAMENTO SISTÊMICO COM RVD5	25
4.2 EFEITO DO TRATAMENTO SUBARACNÓIDEO COM RVD5 NA HIPERALGESIA TÉRMICA.....	27
4.3 EFEITO DO TRATAMENTO SUBARACNÓIDEO COM RVD5 NA HIPERALGESIA MECÂNICA.....	29
4.3.1 Análise da Área sob a Curva.....	31
5 DISCUSSÃO	33
6 CONCLUSÃO	36
REFERÊNCIAS	37

1 INTRODUÇÃO

1.1 DOR CRÔNICA NEUROPÁTICA

Neurônios somatossensoriais conectam tecidos periféricos com o sistema nervoso central, ocupando uma posição importante na recepção, transdução e integração da informação. Porém, também apresentam potencial de sofrer mudanças plásticas de longa duração, que podem ser benéficas no caso de evitar a estimulação física do tecido lesado, mas podem também produzir uma carga incapacitante para o organismo (HUCHO e LEVINE, 2007). Lesões ou doenças do sistema nervoso somatossensorial podem levar à transmissão alterada e desordenada de sinais sensoriais para a medula espinhal e cérebro (COLLOCA e LUDMAN, 2017). Esse processo de plasticidade é denominado sensibilização periférica, quando as terminações nociceptivas no local da lesão são afetadas, levando à um aumento na excitabilidade neuronal, o que pode manifestar-se clinicamente como uma resposta aumentada a estímulos nocivos (hiperalgesia) (WOOLF e MA, 2007). Já a excitabilidade aumentada dos neurônios espinhais que transmitem informações para o cérebro é chamada de sensibilização central, em que podemos identificar a presença de dor à estímulos que antes eram inócuos, chamada de alodinia (COLLOCA e LUDMAN, 2017), processo esse que desempenha um papel crítico no desenvolvimento e manutenção da dor crônica (JI et al., 2019).

A dor crônica neuropática é definida como dor persistente por mais de três meses, com participação de algum elemento de sensibilização central. As causas incluem doenças crônicas, lesões e doenças primárias que afetam o sistema somatossensorial (CROFFORD, 2015). Trata-se de uma experiência complexa tanto sensorial quanto emocional, que varia de acordo com o contexto e o significado da dor e do estado psicológico da pessoa (BUSHNELL et al., 2013).

A prevalência da dor neuropática varia de 3% a 8% na população total, sendo a incidência maior em mulheres com idade superior à 50 anos, porém, esses valores podem ser ainda maiores, considerando que se trata de uma condição de dor subdiagnosticada e sub-tratada (GIAMBERARDINO et al., 2010; GUSTORFF et al., 2010). Esse tipo de dor crônica está associada a sofrimento, diminuição da qualidade

de vida e invalidez, transtornos como depressão, ansiedade e problemas de sono são mais prevalentes em pacientes com essa doença (FREYNHAGEN et al., 2006).

A neuropatia periférica causa alterações na expressão e função dos canais iônicos (cálcio, potássio e principalmente sódio) nos nervos afetados de maneira que as propriedades elétricas dos nervos sensoriais são modificadas, aumentando a descarga de fibras aferentes, o que leva ao desequilíbrio entre a sinalização central excitatória e inibitória (YANG et al., 2004). Isso porque a liberação concomitante de aminoácidos excitatórios e neuropeptídeos leva a alterações pós-sinápticas nos neurônios de segunda ordem. A liberação de ácido aminobutírico (GABA) também é alterada, afetando sua atividade inibitória em interneurônios (GAGNON et al., 2014). Assim, a transmissão de sinais sensoriais ao nível dos neurônios do corno dorsal da medula espinhal é modificada, ascendendo a informação até o núcleo talâmico que as direciona para as estruturas cerebrais envolvidas (PATEL e DICKENSON, 2016).

O córtex somatossensorial, uma das regiões cerebrais ativadas por estímulos nocivos, é responsável por interpretar as características, localização e intensidade da dor, enquanto a região pré-frontal e o sistema límbico interpretam as respostas emocionais e motivacionais implicadas no contexto da dor (LEKNES e TRACEY, 2008). Além disso, a ativação do mesencéfalo e dos locais medulares pode exercer controle bidirecional sobre a nocicepção, as chamadas vias descendentes modulatórias da dor. Como exemplo, a substância cinzenta periaquedutal recebe informações dos centros superiores e é capaz de ativar efeitos analgésicos por mecanismos opioidérgicos, enquanto a medula rostroventromedial é responsável por facilitar ou inibir as entradas nociceptivas por meio de vias noradrenérgicas e serotoninérgicas (OSSIPOV et al., 2015).

As vias descendentes, principalmente via medula rostroventromedial, projetam-se para os cornos dorsais espinhais e para o subnúcleo *caudalis* do trigêmeo (HEINRICHER et al., 2009). Inclusive, com base nessas informações, Nones e colaboradores (2017) avaliaram o papel das vias descendentes facilitatórias no modelo de CION, sendo que estas medeiam a alodinia tátil e a dor espontânea, enquanto que a hipersensibilidade ao calor não é dependente das vias descendentes. Isso sugere que o CION induz a sensibilização periférica precoce seguida pelo desenvolvimento de sensibilização central que medeia a dor espontânea e a hipersensibilidade mecânica.

Em resumo, hipersensibilidade neuronal na dor neuropática é resultado de mudanças na função e expressão de canais iônicos, além de mudanças na função de neurônios de segunda ordem e em interneurônios inibitórios (COLLOCA e LUDMAN, 2017). Porém, a hipersensibilidade não é uma resposta puramente neuronal. Evidências pré-clínicas indicam uma contribuição de células não neuronais nos mecanismos que envolvem estados de dor neuropática (TSUDA et al., 2013). Essas células não neurais no local da lesão, os polimorfonucleares, e na medula espinhal, como micróglia e astrócitos, começam a secretar diversos mediadores pró-inflamatórios que modulam a função nociceptiva (CLARK et al., 2013). Assim, a dor crônica é mantida pela plasticidade sináptica e aumento da responsividade neuronal nas vias centrais da dor após insultos dolorosos, impulsionada pela neuroinflamação no sistema nervoso periférico e central (JI et al., 2019).

1.2 NEURALGIA DO TRIGÊMEO

A neuralgia do trigêmeo é caracterizada por uma dor orofacial unilateral breve e recorrente, semelhante a um choque elétrico de início e término abruptos. A dor é restrita a uma ou mais regiões inervadas pelo trigêmeo e pode ser desencadeada por estímulos sensoriais inócuos, como por exemplo falar, comer, pentear o cabelo e escovar os dentes (MAARBJERG et al., 2017). A neuralgia do trigêmeo é uma doença considerada rara, com prevalência variando de 0,0295% a 0,0768% na população mundial (BANG et al., 2019; EL-TALLAWY et al., 2013). Uma revisão sistemática apontou uma predominância do sexo feminino na incidência da neuralgia do trigêmeo, sendo a proporção de 3:1 entre mulheres e homens. Os autores desta revisão identificaram maior prevalência em mulheres com mais de 40 anos, geralmente afetando os ramos maxilar e mandibular (DE TOLEDO et al., 2016).

Pacientes portadores da doença apresentam uma redução acentuada na qualidade de vida devido à natureza e severidade da dor. Há evidências de que a neuralgia do trigêmeo leva a alterações psicológicas que podem ser expressas em tentativas de suicídio, por exemplo. Foi relatado que o sofrimento dos pacientes com essa condição está relacionado a atrasos no diagnóstico, medo da recorrência repentina da dor, efeitos colaterais dos medicamentos e falta de apoio psicológico (MELEK et al., 2018).

A primeira linha de tratamento para a neuralgia do trigêmeo são os bloqueadores de canais de sódio, como a carbamazepina e a oxcarbazepina, sendo eficazes em cerca de 70% dos casos (CRUCCU et al., 2008; NURMIKKO e ELDRIDGE, 2001). Porém, os efeitos colaterais que incluem sonolência, tontura, enjoo, rashes e tremores, não permitem que a droga alcance a dosagem terapêutica, o que leva a uma grande porcentagem de descontinuação do medicamento (CRUCCU et al., 2008; WIFFEN et al., 2014). Devido a esses efeitos colaterais e características farmacocinéticas da carbamazepina, a eficácia de outros medicamentos para o tratamento da neuralgia do trigêmeo tem sido avaliada. Os agentes de segunda linha incluem o anticonvulsivante lamotrigina e o relaxante muscular baclofeno. Anticonvulsivantes mais novos, incluindo gabapentina, pregabalina e topiramato também foram testados em pacientes com neuralgia do trigêmeo. No entanto, as evidências que apoiam o uso desses fármacos são escassas e a qualidade metodológica da maioria dos estudos é relativamente baixa (ARAYA et al., 2019).

Os tecidos craniofaciais são inervados quase que exclusivamente por ramos sensoriais do trigêmeo (aférentes V). Esses aferentes projetam-se através de seus corpos celulares no gânglio para o tronco cerebral, onde realiza sinapses com neurônios de segunda ordem no complexo nuclear sensorial do tronco cerebral. O subnúcleo *caudalis* é um dos componentes desse complexo, apesar de possuir características morfológicas análogas às do corno dorsal espinhal. Os aferentes trigeminais ativados por estímulos nocivos terminam em neurônios predominantemente localizados no subnúcleo *caudalis* (CHICHORRO et al., 2017).

Inúmeros mecanismos têm sido propostos para a dor na neuralgia do trigêmeo. No que se refere à neuralgia clássica, que abrange 80-90% dos casos, a causa da patologia é a compressão do nervo pela artéria cerebelar superior das raízes do nervo trigêmeo na ponte, resultando na desmielinização das fibras nervosas, que então começam a disparar ectopicamente, o que pode explicar a dor em paroxismos. (ARAYA et al., 2019; GAMBETA et al., 2020). Além disso, um estudo que coletou sangue venoso de pacientes com neuralgia do trigêmeo encontrou concentrações aumentadas de IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF- α em comparação com voluntários saudáveis (LIU et al., 2019).

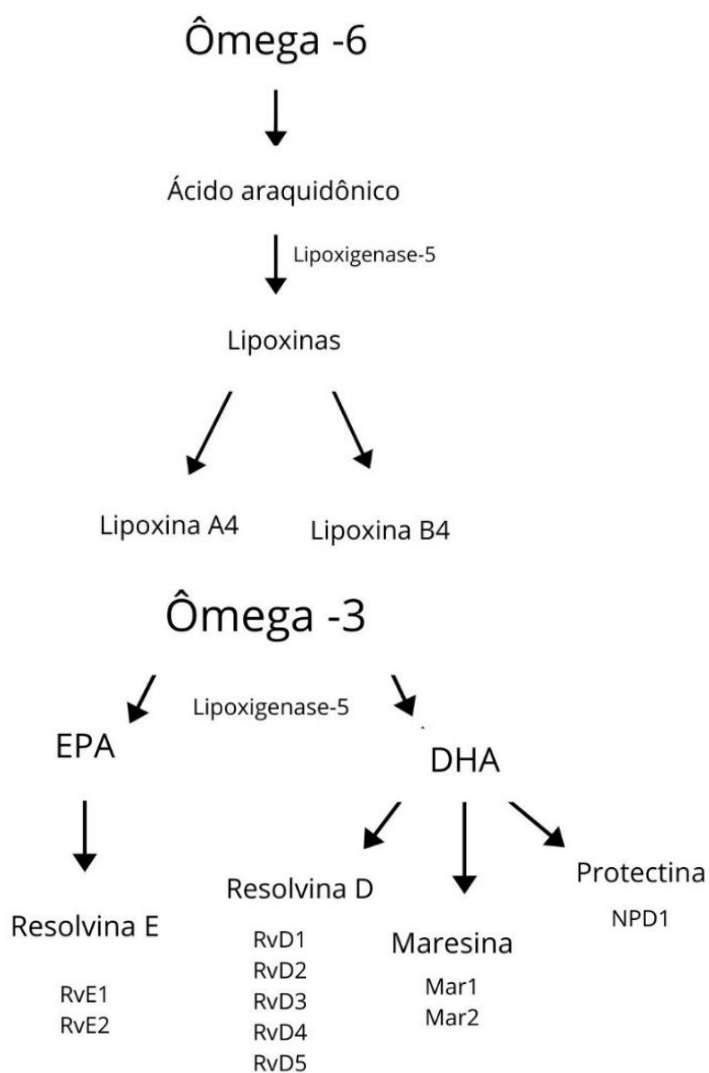
Baseado no proposto por Vos et al. (1994), Chichorro e colaboradores (2006) propuseram um modelo animal de dor orofacial crônica de origem neuropática como

modelo de neuralgia do trigêmeo, o qual reproduz características dessa condição, inclusive hiperalgesia térmica e mecânica. Nesse modelo, é realizada a contração do nervo infraorbital (CION) de ratos através de uma cirurgia.

1.3 MEDIADORES LIPÍDICOS

A resolução da inflamação, antes imaginada como um processo passivo, envolve o recrutamento homeostático de moléculas bioquímicas ativas que permitem que o tecido inflamado retorne ao estado pré-inflamatório. O processo de resolução é rapidamente iniciado após respostas agudas durante a inflamação, que ativam a biossíntese de mediadores lipídicos pró-resolução (SERHAN e CHIANG, 2008). Essas moléculas compõem uma classe de potentes agonistas endógenos de ação dupla: anti-inflamatória e pró-resolutiva. A primeira família de mediadores reconhecida com essas propriedades foram as lipoxinas, geradas a partir do ácido araquidônico, derivado do Ômega-6, seguido pelas protectinas, maresinas e resolvinas, derivadas dos precursores dos ácidos graxos essenciais do Ômega-3, o ácido eicosapentaenoico (EPA) e docosahezaenoico (DHA) (SERHAN, 2007; SERHAN et al., 2009), como demonstrado na Figura 1.

FIGURA 1 - SÍNTESE DE LIPÍDEOS PRÓ-RESOLUTIVOS DERIVADOS DO ÔMEGA-6 E ÔMEGA-3



FONTE:

NOTA: O Ômega-6 é o precursor do ácido araquidônico, que durante a inflamação é responsável pela formação das lipoxinas A4 e B4. Já os derivados do Ômega-3 são o ácido eicosapentaenoico (EPA) que é o precursor da série de Resolvinas E e o ácido docosahezaenoico (DHA) precursor da série de Resolvinas D, maresinas e protectinas. Esses mediadores compartilham propriedades anti-inflamatórias e pró-resolutivas, mas com ações distintas no processo de resolução.

Os mediadores lipídicos pró-resolução se ligam e ativam múltiplos receptores (polifarmacologia do ligante), enquanto a maioria dos receptores são ativados por múltiplos ligantes (pleiotropia do receptor). Estudos demonstraram que as atividades pró-resolução dos mediadores lipídicos ocorrem como resultado da ativação de um ou mais de uma família de receptores acoplados à proteína G (GPCRs). Até o momento, seis receptores principais foram identificados: FPR2/ALX, chemerin1, BLT1 e GPR37, e dois ainda classificados como receptores órfãos, GPR32 e GPR18. Curiosamente, mais de 140 GPCRs ainda precisam ser emparelhados com seu ligante endógeno, indicando o potencial para a identificação de ainda outros receptores para os lipídeos pró-resolução (PARK et al., 2020).

1.3.1 Lipoxinas

Essas moléculas são subdivididas em Lipoxina A4 e Lipoxina B4. Sua presença foi observada em mucosas, como o trato respiratório, gastrointestinal e cavidade oral. Com atividade evidenciada na presença de inflamação, mas também sendo necessária para garantir os mecanismos homeostáticos, já que a mucosa é continuamente exposta à micro-organismos (SVENSSON et al., 2007).

Em regiões de inflamação, a lipoxina é produzida por neutrófilos pela interação celular com a mucosa e epitélio. Nessas condições, é capaz de reduzir a diapedese de neutrófilos e o recrutamento em tecidos pela diminuição da produção de citocinas pró-inflamatórias (GRONERT et al., 1998).

1.3.2 Resolvinas

As resolvinas, assim denominadas por serem potentes reguladoras da resolução da resposta inflamatória, são derivadas do EPA e DHA com duas formas estruturais, a série E (RvE) e série D (RvD), respectivamente (SERHAN e CHIANG, 2008). O primeiro composto bioativo derivado do EPA, denominado Resolvin E1 (RvE1), foi isolado de exsudato coletados de bolsas de ar dorsal de murinas inflamadas, na fase de resolução espontânea. Foi demonstrado que essa substância era capaz de reduzir a inflamação in vivo e bloquear a migração de polimorfonucleares in vitro (SERHAN et al., 2000). A via de biossíntese dessas moléculas envolve a

conversão do EPA por células endoteliais hipóxicas em um metabólito (ácido 18R-hidro (peroxi)-eicosapentenóico (18R-HEPE) que é convertido em RvE1 e RvE2 por neutrófilos polimorfonucleares ativados (SERHAN et al., 2000 e SERHAN et al., 2002). Ademais, estudos mostraram que as enzimas do citocromo P450 microbianas e de mamíferos também convertem EPA em RvE1 e RvE2 (SERHAN e CHIANG, 2008). Já a conversão do EPA em RvE3 é mediada por eosinófilos (LEVY et al., 2001).

A série de Resolvinas D, composta por cinco mediadores endógenos derivados do DHA, foram identificadas no sangue, leucócitos e células gliais. Apresentam-se como reguladores potentes da inflamação, reduzindo a infiltração de leucócitos e bloqueando a produção de citocinas pelas células da glia (HONG et al., 2003). O DHA está concentrado em tecidos neurais, incluindo cérebro e retina, e é enriquecido em leite humano, plasma e esperma, justamente onde suas propriedades físicas regulam a fluidez de membrana (CALDER, 2013). Porém, em condições de inflamação, o DHA é convertido por neutrófilos polimorfonucleares e macrófagos M2 por ação da lipoxigenase-5 em Resolvinas da série D (SERHAN et al., 2002; WERZ et al., 2018).

1.3.3 Protectinas

O DHA endógeno também pode ser convertido em protectinas pela lipoxigenase. Os indutores da síntese dessas moléculas incluem neurotrofinas e estresse oxidativo, de forma que as protectinas modulam as vias de sinalização relacionadas com o equilíbrio pró e anti-apoptótico, direcionando para a sobrevivência celular (MARCHESELLI et al., 2011).

A neuroprotectina D1 (NPD1), a mais estudada dos representantes dessa classe, possui atividade que envolve uma potente imunomodulação e neuroproteção. Sua nomenclatura é devido à atividade protetora do sistema nervoso central, por exemplo, limitando a lesão cerebral por acidente vascular cerebral (AVC) (MARCHESELLI et al., 2003; SERHAN et al., 2006). Recentemente, estudos demonstraram a presença de receptores específicos para NPD1 na retina, também exercendo função protetora (BAZAN et al., 2018).

1.3.4 Maresinas

As maresinas (MaR) foram os últimos mediadores lipídicos identificados e são divididos em MaR-1 e MaR-2. A biossíntese dessas moléculas também envolve a ativação de macrófagos e participam de parte das ações benéficas do DHA pois são responsáveis pela homeostase dos tecidos, resolução da inflamação, além de participar da defesa do hospedeiro (DALLI et al., 2013). A MaR 1 teve resultados anti-inflamatórios e pró-resolutivos tanto *in vivo* como *in vitro* (SERHAN et al., 2009), atuando na regeneração de tecidos e na resolução da dor inflamatória (SERHAN et al., 2012).

1.4 MEDIADORES LIPÍDICOS NA DOR INFLAMATÓRIA E CRÔNICA

Sabendo que a inflamação provoca dor que pode persistir, as primeiras evidências da participação dos mediadores lipídicos na resolução da dor abordaram as lipoxinas. Foi relatado que o receptor de lipoxina é expresso em astrócitos espinhais e conseqüentemente a administração intratecal de lipoxina atenuou a dor induzida por inflamação. Ademais, na presença das lipoxinas, a ativação das cascatas que desempenham um papel importante no processamento da dor espinhal é atenuada (SVENSSON et al., 2007). Com essas observações, novas percepções quanto aos mediadores pró-resolutivos estão sendo estudadas, haja visto que cada subtipo tem um alvo de ação e efeito específico.

Já se comprovou o potencial efeito das resolvinas no tratamento da dor inflamatória, como por exemplo, as RvE1 e RvD1, que se apresentam capazes de inibir a hiperalgesia térmica no modelo de dor inflamatória induzida por carragenina. Esse mesmo estudo evidenciou o papel das resolvinas de reduzir a dor inflamatória por meio de ações centrais, visto que o pré-tratamento com RvE1 intratecal foi capaz de atenuar a dor na segunda fase do modelo de dor induzida por formalina, a qual é mediada por mecanismos de sensibilização central (XU et al., 2010). Em adição, a RvE1 e RvD1 foram efetivas em prevenir a dor pós-cirúrgica em modelo de dor induzida por incisão na pata de ratos e camundongos. Nesse estudo foi demonstrado que o tratamento com RvD1 em um período tardio (9º dia pós-cirúrgico) apenas promoveu um alívio passageiro da dor (menos de 24 horas de

analgesia), porém as resolvinas não interferiram na percepção normal da dor (HUANG et al., 2011).

Quanto às maresinas e protectinas, notou-se que a MaR-1 bloqueia a atividade do receptor de potencial transitório vaniloide-1 (TRPV-1) em neurônios e bloqueia a corrente interna induzida por capsaicina, diminuindo a dor neuropática inflamatória evocada por quimioterapia em camundongos (DALLI et al., 2013). Já a NPD1 bloqueia a transmissão sináptica da medula espinhal mediada por TNF- α e também inibe a corrente induzida por capsaicina em neurônios ganglionares (PARK et al., 2011). Adicionalmente, foi demonstrado que a MaR-1 reduziu a hiperalgesia mecânica e térmica induzida por carragenina. Além disso, reduziu ativação de NF- κ B, produção de IL-1 β e TNF- α e a ativação de células da glia da medula espinhal (FATTORI et al., 2019).

Apesar da atenuação da inflamação aguda ser uma importante prevenção para o desenvolvimento da dor crônica, é necessário evidenciar que a dor crônica não é apenas uma extensão da dor aguda, mas sim o resultado de alterações no processamento da dor, a chamada neuroplasticidade. Por isso, as terapias para o tratamento da dor crônica devem envolver também os mecanismos de plasticidade, tanto periférica quanto central (JI et al., 2011). Ademais, o potencial analgésico dos lipídeos pró-resolutivos está associado, em partes, à capacidade dessas moléculas de inibir a ação dos canais TRP, como o TRPV1 e TRPA1, os quais possuem importância significativa na percepção dos estímulos e gênese da dor inflamatória e crônica (XU et al., 2010).

A primeira abordagem relacionada a cronicidade da dor, revelou que doenças inflamatórias crônicas podem diminuir os níveis ou ações dos mediadores lipídicos, denotando um envolvimento dessas moléculas na cronificação da dor (MORRIS et al., 2010). Assim, estudos têm reportado a eficácia desses mediadores no tratamento da dor crônica. Por exemplo, o pré-tratamento com RvE1 foi capaz de inibir a dor neuropática induzida por lesão do nervo ciático, além de reduzir a ativação da micróglia na medula espinhal, fator importante na gênese da dor neuropática (CHEN et al., 2019; XU et al., 2013).

Ainda nesse sentido, em um estudo envolvendo o modelo de artrite murina foi demonstrado que a RvD1 reduz a dor e os danos aos tecidos, provando ser mais potente do que os tratamentos com esteroides e analgésicos (LIMA-GARCIA et al.,

2011). Já em um modelo de lesão de nervo, o tratamento preventivo com NPD1 foi capaz de prevenir a alodinia mecânica em camundongos, enquanto o pós-tratamento intratecal reduziu efetivamente a dor neuropática estabelecida (MARCHESELLI et al., 2011). Ademais, em um trabalho com modelo de dor crônica pós cirúrgica por fratura óssea, o tratamento com RvD5 se mostrou mais efetivo na reversão da hiperalgesia do que a RvD1, RvD3 e RvD4 (ZHANG et al., 2018).

1.5 RESOLVINA D5

Quanto à série de Resolvinas D, principalmente a RvD1 e RvD2 possuem seus efeitos e mecanismos já bastante estudados e conhecidos (SERHAN e CHIANG, 2008). No entanto, devido à baixa disponibilidade biológica, as pesquisas sobre o benefício da RvD5 para a saúde ainda estão em estágio inicial. Muito recentemente, em um estudo *in vitro* com células tratadas com LPS, foi identificado o mecanismo de ação anti-inflamatória e pró-resolutiva dessa molécula. Sugere-se que a RvD5 regula negativamente a produção de mediadores inflamatórios, tais como a interleucina (IL-6) e a quimiocina CCL5, por inibição da fosforilação de quinases de sinalização extracelular (ERK), sendo que esses efeitos inibitórios são modulados por quinases ativadas por mitose (MAPK) e pelo fator de transcrição NF- κ B (LEVINE, 2019).

Estudos em modelos animais avaliaram a eficácia da administração exógena de RvD5 na inflamação. A administração intraperitoneal de RvD5 em camundongos reduziu a colite intestinal, determinado pela capacidade da molécula em diminuir a adesão de neutrófilos (GOBBETTI et al., 2017). Em outro estudo, a RvD5 em associação à RvD1 e NPD1, quando administrados juntamente com uma baixa dose de antibiótico foi capaz de reduzir os títulos bacterianos em peritonite induzida em camundongos (CHIANG et al., 2012), sugerindo que as ações antibacterianas foram aprimoradas pela administração conjunta dos lipídeos pró-resolutivos.

Além da administração exógena, a análise do perfil endógeno é importante para entender os efeitos da RvD5. O mesmo modelo de peritonite, avaliando animais não tratados, identificou a RvD5 como o mediador lipídico mais abundante no exsudato de animais com inflamação, determinando seu impacto em infecções na contenção de fagócitos (CHIANG et al., 2012). Estudos com humanos utilizando

fragmentos de pele e sangue periférico de pessoas com psoríase em comparação a pessoas saudáveis, revelou a presença de RvD5 apenas nos tecidos das pessoas com a doença (SOROKIN et al., 2018).

Apesar dessas evidências, a participação da RvD5 na dor crônica é pouco investigada. Um possível mecanismo de dimorfismo sexual dos receptores dessa molécula foi observado em um estudo que avaliou o efeito da RvD5 em dor neuropática induzida por quimioterápico, no qual esse mediador foi eficaz em reduzir a hiperalgesia mecânica em camundongos machos, porém não produziu efeito em camundongos fêmeas (LUO et al., 2019).

1.6 JUSTIFICATIVA

As resolvinas são moléculas promissoras e pouco estudadas, não somente para dores inflamatórias, mas especialmente em dores orofaciais de origem neuropática, já que esses mediadores podem estar envolvidos na cronificação da dor pela sua relação com as citocinas pró-inflamatórias. A neuralgia do trigêmeo é uma dor crônica grave e ainda não totalmente compreendida que afeta, em sua maioria, mulheres. Existem poucas opções para o controle da dor associada a esta condição, as quais apresentam inúmeros efeitos adversos. Portanto, nesse estudo foi avaliado o efeito da RvD5 em ratos machos e fêmeas em modelo de dor neuropática trigeminal. O desenvolvimento desse trabalho permitiu determinar o potencial analgésico da RvD5 na dor neuropática trigeminal e avaliar possíveis diferenças sexuais na resposta à RvD5.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral desse trabalho foi avaliar a influência do mediador lipídico RvD5 no comportamento nociceptivo em ratos machos e fêmeas submetidos à cirurgia de constrição do nervo infraorbital como modelo de dor neuropática trigeminal.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito da administração sistêmica de RvD5 na hiperalgesia térmica e mecânica em ratos machos e fêmeas no modelo de dor neuropática trigeminal;
- Investigar o efeito da RvD5 administrada no subnúcleo *caudalis* do trigêmeo na hiperalgesia térmica e mecânica em ratos machos e fêmeas no modelo de dor neuropática trigeminal.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS

Foram utilizados ratos Wistar machos e fêmeas, pesando entre 180-220 g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Paraná (UFPR). Os animais foram mantidos em uma sala com umidade e temperatura controladas ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), em um ciclo claro-escuro de 12 horas (7h/7h). Água e comida foram fornecidas à vontade aos animais durante todos os experimentos. Os animais foram ambientados no laboratório por no mínimo 48 horas antes do início dos experimentos. Os testes foram realizados em salas silenciosas, com temperatura e umidade controladas, durante a fase clara dos ciclos dos animais. Todos os protocolos utilizados nesse estudo foram submetidos e aprovados à Comissão de Ética para o Uso de Animais da Universidade Federal do Paraná (CEUA/BIO-UFPR) sob o protocolo nº #1118.

3.2 DROGAS E SOLUÇÕES

A drogas utilizadas foram:

1. Cloridrato de Quetamina (Quetamina® Vetnil - Louveira, SP, BR) - 80 mg/kg, via i.p.
2. Cloridrato de Xilazina (Xilasin® Syntec - Santana de Parnaíba, SP, BR) - 10 mg/kg, via i.p.
3. Resolvin D5 (primeiramente diluída em etanol) tendo como veículo solução salina estéril 0,9% (Equiplex, Aparecida de Goiânia, GO, BR) – nas concentrações de 3 ng/200 µl e 10 ng/200 µl para injeções via i.p e 3 ng/5 µl e 10 ng/5 µl para injeção no subnúcleo *caudalis*.

3.3 MODELO DE DOR NEUROPÁTICA OROFACIAL

No modelo proposto por Chichorro e colaboradores (2006), os animais são anestesiados com quetamina e xilasina (80 e 10 mg/kg, via intraperitoneal), com isso é realizada a tricotomia da região direita da face e assepsia do local com álcool iodado.

Em seguida é feita uma incisão na pele, abaixo do olho direito do animal, à 3 mm da região da inserção das vibrissas; de modo que a porção rostral do nervo infraorbital fique exposta. O nervo infraorbital é então dissecado dos tecidos adjacentes, realizando duas amarras frouxas, separadas aproximadamente 2 mm, com fio de seda 4.0 ao redor do feixe nervoso. Por fim, os tecidos são suturados com o mesmo fio usado para as amarras e utiliza-se novamente o álcool iodado para assepsia. Os animais SHAM passaram pelo mesmo procedimento com exceção da amarra no nervo infraorbital. Após a cirurgia, os animais permanecem em observação até a recuperação da anestesia.

3.4 AVALIAÇÃO DA HIPERALGESIA TÉRMICA E MECÂNICA OROFACIAL

A fim de avaliar a hiperalgesia mecânica, foram utilizados os filamentos de Von Frey como estímulo mecânico. Antes de cada sessão de teste ou pré-seleção os animais foram colocados individualmente em caixas de observação, por um período de 2 horas para ambientação. Primeiramente, foi realizada uma pré-seleção que consiste na aplicação crescente de 8 filamentos de Von Frey (Semmes- Weinstein monofilaments, Stoelting, USA: 0,04; 0,07; 0,16; 0,4; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0 gramas). Os filamentos foram aplicados na face direita dos animais, próximo à região de inserção das vibrissas, sendo que cada filamento foi aplicado 3 vezes, com um intervalo de 3 segundos entre cada aplicação. O limiar de resposta desse teste foi considerado quando o estímulo mecânico do filamento evocou, por duas vezes, comportamentos como retirada rápida da cabeça e reações de ataque/escape (CHICHORRO et al., 2009). Nessa fase, foram selecionados os animais que não apresentem comportamentos nociceptivos após aplicação dos 8 filamentos, ou seja, os animais que possuíram limiar basal de resposta à estimulação mecânica igual ou superior a 8 g. Na sessão teste, os animais passaram pelos mesmos procedimentos da pré-seleção, com a aplicação de 8 filamentos de Von Frey, em que foi observado a presença de hiperalgesia, isto é, quando os animais apresentarem uma redução significativa do limiar basal de resposta à estimulação mecânica.

Já para a avaliação da hiperalgesia térmica orofacial, os animais foram contidos gentilmente pelo experimentador e em seguida foram posicionados a uma fonte de calor radiante (~50°C), aproximadamente 1 centímetro de distância da área de

inserção das vibrissas, conforme descrito por Chichorro e colaboradores (2009). Em seguida, foi registrado o tempo de latência até que os animais realizassem movimentos de esquiva com a cabeça na tentativa de fugir da fonte térmica ou apresentassem movimentos rápidos e consecutivos com as vibrissas. O tempo de corte para a exposição ao calor foi de 20 segundos a fim de evitar danos teciduais.

3.5 ADMINISTRAÇÃO DE DROGAS

A via de administração intraperitoneal foi realizada pela contenção do rato pelo corpo. A agulha foi inserida no quadrante inferior direito do abdômen a um ângulo entre 30° e 45°, onde foi injetada a RvD5 ou veículo em um volume de 200 µl.

Para a injeção medular subaracnoide (i.e., subnúcleo *caudalis*), primeiro foi realizada uma tricotomia da pequena área de pele acima da região cervical superior. A injeção foi realizada com os animais sob anestesia (halotano a 4%) e posicionados dorsalmente. Uma agulha de tamanho 13 mm x 0,45 (26G x ½) conectado a uma seringa Hamilton de 25 µl por um cateter de polietileno, foi inserida abaixo do osso occipital até 4 mm com uma pequena inclinação na direção craniana. Posteriormente, a agulha foi introduzida por mais 2 mm para perfurar a membrana atlanto-occipital e atingir o espaço subaracnóideo medular. Então, a RvD5 ou veículo foi injetado em um volume de 5 µl.

3.6 DESIGN EXPERIMENTAL

3.6.1 Experimento 1

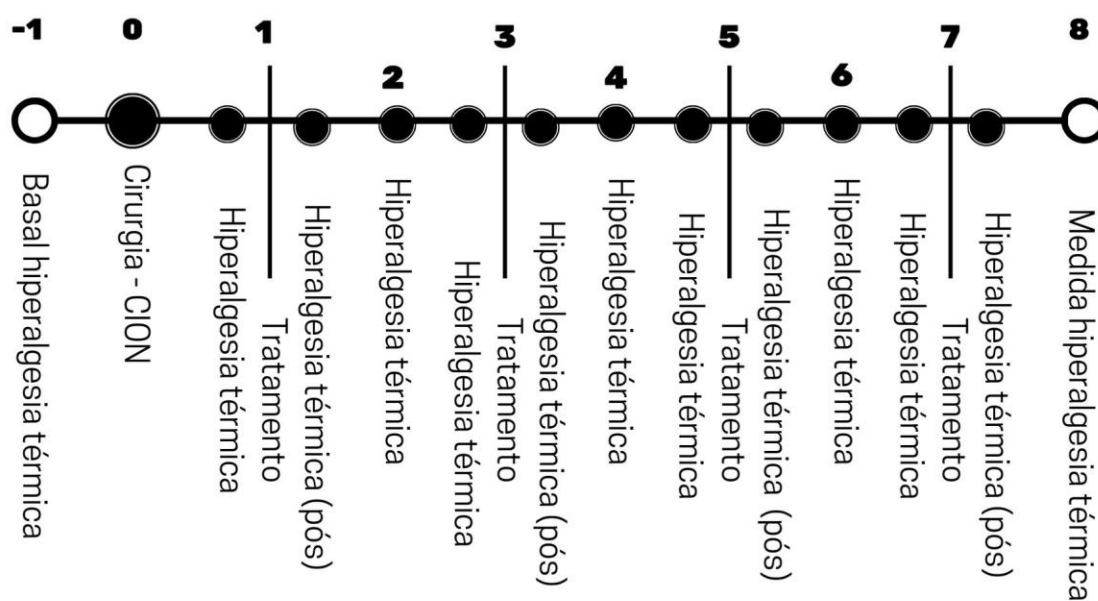
Primeiramente, foi avaliada a administração intraperitoneal da RvD5 nas doses de 3 ng e 10 ng em fêmeas e machos a fim de avaliar o seu efeito na hiperalgesia térmica dos animais. Antes da realização da cirurgia, o limiar de resposta dos animais ao estímulo térmico foi avaliado, e então, foram divididos nos seguintes grupos para ambos os sexos com um N=6:

- A) SHAM + VEÍCULO
- B) SHAM + RvD5 10 ng

- C) CION + VEÍCULO
- D) CION + RvD5 3 ng
- E) CION + RvD5 10 ng

No dia 0 foi realizada a indução do modelo de dor orofacial pela cirurgia de constrição do nervo infraorbital, conforme a separação dos grupos. O tratamento com o veículo ou RvD5 foi administrado nos dias 1, 3, 5 e 7, enquanto a hiperalgesia térmica dos animais foi avaliada diariamente e 30 minutos após a injeção até o nono dia pós cirúrgico, para que pudesse acompanhar o decurso temporal da ação da RvD5.

FIGURA 2 - EXPERIMENTO 1: AVALIAÇÃO DA HIPERALGESIA TÉRMICA E DO EFEITO TRATAMENTO COM RVD5 INTRAPERITONEAL



NOTA: Primeiramente, o limiar de resposta ao calor dos animais foi mensurado e no dia 0 foi realizada a cirurgia de constrição do nervo infra orbital. O tratamento com RvD5 nas doses de 3 ng ou 10 ng (i.p.) foi realizado nos dias 1, 3, 5 e 7, enquanto a avaliação da hiperalgesia térmica ocorreu diariamente até dia 9 pós cirúrgico.

3.6.2 EXPERIMENTO 2

O objetivo do Experimento 2 seria avaliar a hiperalgesia mecânica dos animais tratados com RvD5 intraperitoneal em ambos os sexos. Porém, como não foi observado efeito na hiperalgesia térmica de machos e fêmeas tratados com RvD5 intraperitoneal (vide resultados), esse experimento não foi realizado.

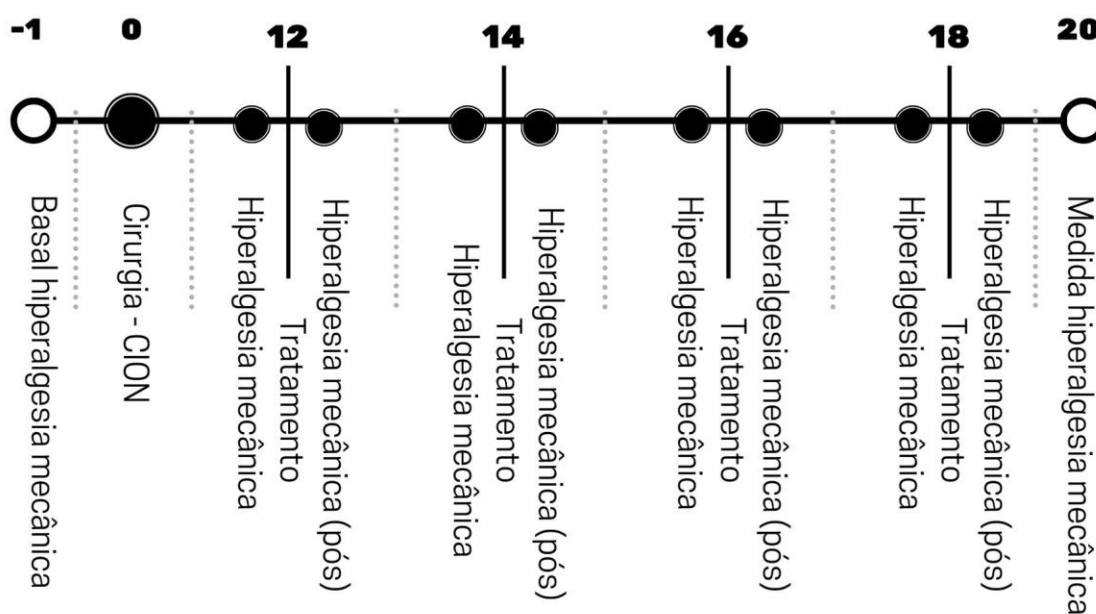
3.6.3 EXPERIMENTO 3

Os Experimento 3 consistiu no tratamento com a RvD5 no subnúcleo *caudalis* em ratos machos e fêmeas, seguido da avaliação da hiperalgesia mecânica e térmica, sendo a última realizada conforme descrito anteriormente no experimento 1.

Para o protocolo da hiperalgesia mecânica, a cirurgia de constrição do nervo infraorbital foi realizada no dia 0 e os animais foram tratados com RvD5 nas doses de 3 ng e 10 ng ou veículo, nos dias 12, 14, 16 e 18 após a cirurgia, juntamente com a avaliação da hiperalgesia mecânica. Ao fim do experimento, no vigésimo dia, foi avaliada a hiperalgesia mecânica dos animais (Figura 3).

Em cada dia do tratamento, a hiperalgesia tanto térmica quanto mecânica foi avaliada antes e meia hora depois do tratamento.

FIGURA 3 - EXPERIMENTO 2: AVALIAÇÃO DA HIPERALGESIA MECÂNICA E EFEITO DO TRATAMENTO COM RVD5 SUBARACNÓIDEA



NOTA: Primeiramente, o limiar de resposta dos animais foi mensurado e no dia 0 foi realizada a cirurgia de constrição do nervo infraorbital. O tratamento com RvD5 nas doses de 3 ng ou 10 ng (no subnúcleo *caudalis*) foi realizado nos dias 12, 14, 16 e 18, juntamente com a avaliação da hiperalgesia mecânica. Por fim, no vigésimo dia pós cirúrgico os animais tiveram o limiar da hiperalgesia mecânica mensurado.

Os grupos para a avaliação comportamental em ambos os sexos, com N=10, foram:

- A) SHAM + VEÍCULO
- B) SHAM + RvD5 10 ng
- C) CION + VEÍCULO
- D) CION + RvD5 3 ng
- E) CION + RvD5 10 ng

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As diferenças entre os grupos nos testes de hiperalgesia térmica e mecânica foram analisadas por análise de variância (ANOVA) de duas vias com medidas repetidas, seguida pelo teste post-hoc de *Bonferroni*. Os dados da área sob a curva, utilizados para comparação do efeito da injeção no subnúcleo *caudalis* entre machos e fêmeas, foram analisados por ANOVA de uma via seguida pelo teste post-hoc de *Bonferroni*.

Os resultados foram reportados como média \pm erro padrão da média (EPM). As diferenças entre os grupos foram consideradas significativas quando $p \leq 0,05$. O software GraphPad Prism (GraphPad Prism Software, Inc., San Diego, CA) foi utilizado para a análise estatística.

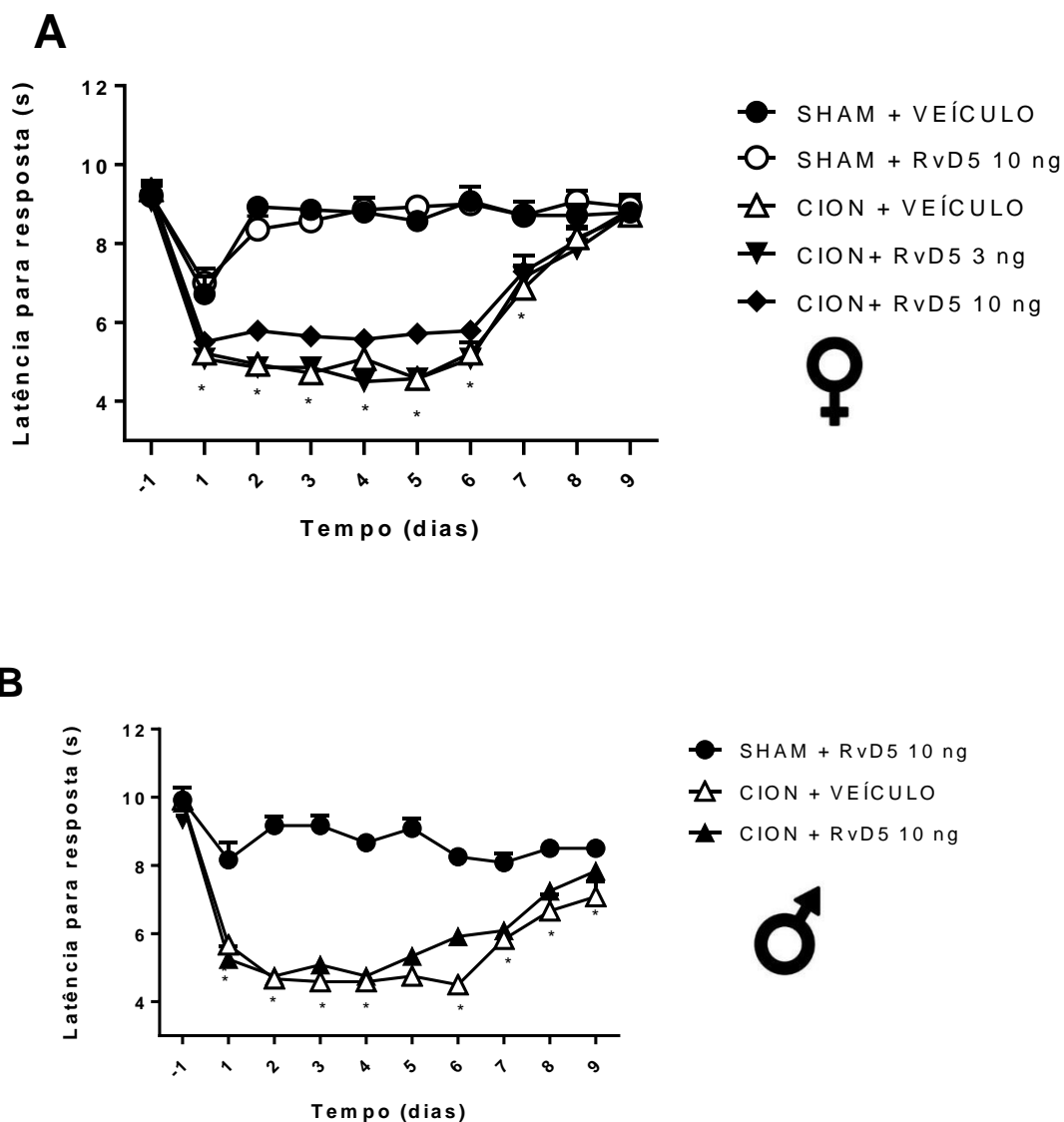
4 RESULTADOS

4.1 EFEITO DO TRATAMENTO SISTÊMICO COM RvD5

Primeiramente, avaliamos o efeito do tratamento sistêmico (i.p.) com RvD5 na hiperalgesia térmica induzida por CION (Figura 4). A hiperalgesia térmica em fêmeas (gráfico A) se estendeu até o sétimo dia pós cirúrgico, porém não pudemos observar diferença estatística entre os animais CION tratados com RvD5 em ambas as doses e veículo. Da mesma forma, o tratamento sistêmico com RvD5 na maior dose em animais SHAM não alterou a latência para resposta ao estímulo térmico. Com esses resultados em fêmeas, foi avaliado o efeito da RvD5 na hiperalgesia térmica em machos (gráfico B), dessa vez utilizando apenas a maior dose da RvD5 (10 ng). A hiperalgesia térmica desses animais se estendeu até o oitavo dia pós cirúrgico, porém também não foi observado diferenças estatísticas entre os animais CION tratados com RvD5 e veículo.

Uma vez que não encontramos diferenças significativas na hiperalgesia térmica de machos e fêmeas tratados com a RvD5 sistemicamente, o protocolo da administração intraperitoneal com a avaliação da hiperalgesia mecânica não foi realizado.

FIGURA 4 – EFEITO DO TRATAMENTO SISTÊMICO (I.P.) COM RVD5 NA HIPERALGESIA TÉRMICA INDUZIDA POR CONSTRIÇÃO DO NERVO INFRAORBITAL.



NOTA: O limiar térmico basal dos animais foi avaliado e em seguida, foram submetidos à constrição do nervo (CION) ou ao procedimento controle (SHAM). O tratamento com veículo ou RvD5 (3 e 10 ng/200 μ l) ocorreu nos dias 1, 3, 5 e 7 após a cirurgia, enquanto o limiar térmico foi avaliado diariamente até o nono dia pós a cirurgia.

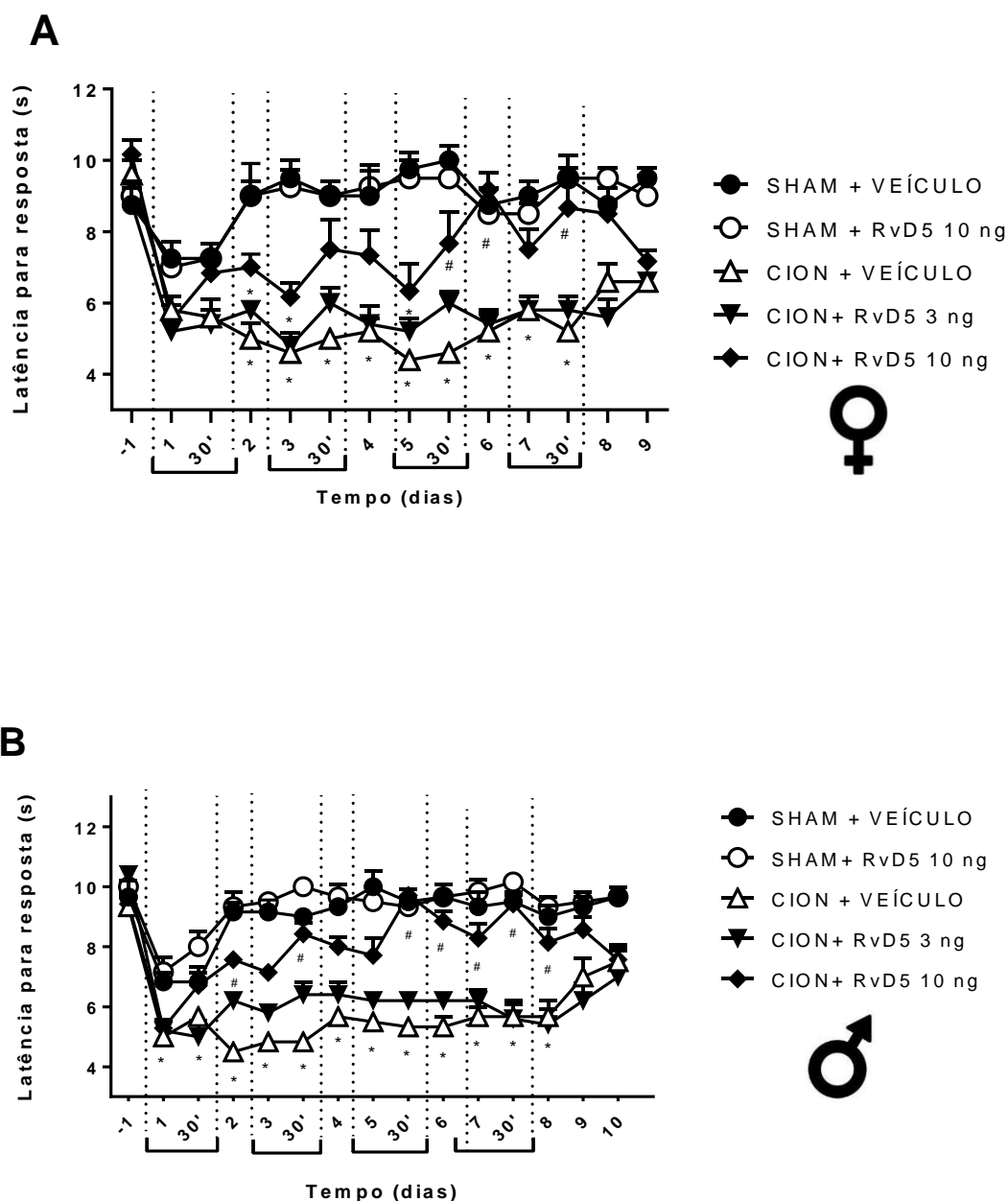
LEGENDA: **A)** Resultados obtidos em ratos fêmeas. **B)** Resultados obtidos em ratos machos. Os dados estão representados como média \pm erro padrão, onde $p < 0,05$ * comparando com SHAM + veículo, # comparando com CION hiperalgésico + veículo. ANOVA de duas vias seguido pelo teste *post-hoc* de Bonferroni.

4.2 EFEITO DO TRATAMENTO SUBARACNÓIDEO COM RVD5 NA HIPERALGESIA TÉRMICA

Com isso, o experimento seguinte foi a avaliação do efeito da RvD5 com a injeção medular subaracnóide com o objetivo de atingir o subnúcleo *caudalis* (Figura 5). Na avaliação da hiperalgisia térmica em fêmeas (gráfico A), podemos observar que a hiperalgisia induzida pela cirurgia se estendeu até o sétimo dia pós cirúrgico, sendo que uma diferença estatística foi observada entre as fêmeas CION tratadas com Rvd5 10 ng e CION tratadas com veículo no 5º dia pós cirúrgico, meia hora após a injeção que se estendeu até o sétimo dia após o tratamento. As fêmeas CION que receberam a dose de RvD5 3 ng não apresentaram diferenças significativas de comportamento quando comparadas com as fêmeas CION tratadas com veículo.

Já a hiperalgisia térmica provocada pela cirurgia em machos (gráfico B) se estendeu até o oitavo dia pós cirúrgico. Os animais CION tratados com a maior dose de RvD5 (10 ng) apresentaram diferenças significativas no tempo de latência para resposta quando comparados aos animais CION tratados com veículo, nos dias 2 (meia hora após a injeção), 3, 5 (meia hora após a injeção), 6, 7 e 8. A dose de 3 ng não foi capaz de modificar a hiperalgisia térmica provocada pela cirurgia nos animais machos. Nesse modelo, a injeção medular subaracnóide com RvD5 não alterou a latência de resposta basal ao estímulo térmico em animais SHAM de ambos os sexos.

FIGURA 5 - EFEITO DA INJEÇÃO MEDULAR SUBARACNÓIDE COM RVD5 NA HIPERALGESIA TÉRMICA INDUZIDA POR CONSTRIÇÃO DO NERVO INFRAORBITAL



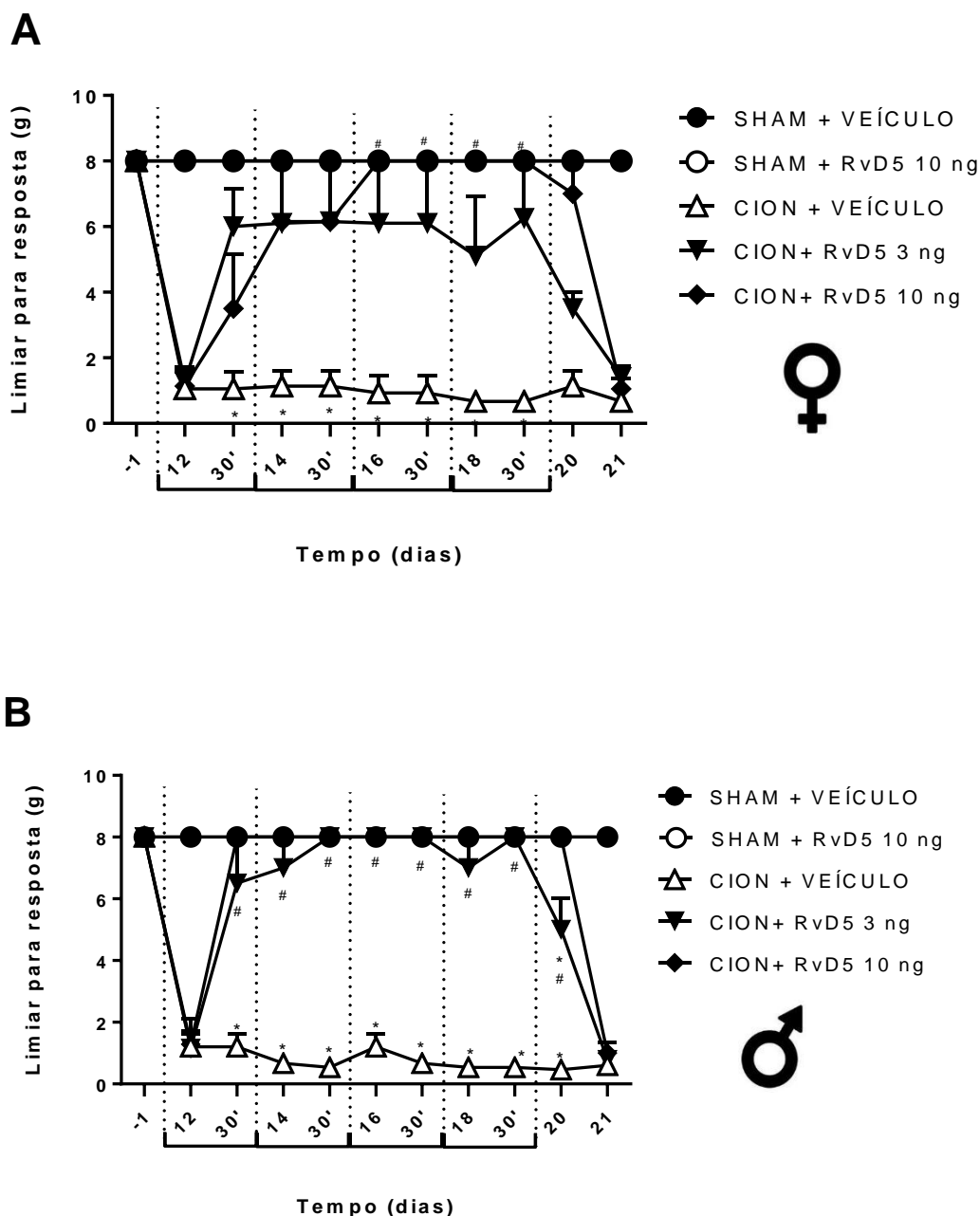
NOTA: O limiar térmico basal dos animais foi avaliado e em seguida, foram submetidos à constrição do nervo (CION) ou ao procedimento controle (SHAM). O tratamento com veículo ou RvD5 (3 e 10 ng/5 μ l) ocorreu nos dias 1, 3, 5 e 7 após a cirurgia, enquanto o limiar térmico foi avaliado diariamente e 30 minutos após a injeção até o nono dia pós a cirurgia.

LEGENDA: **A)** Resultados obtidos em ratos fêmeas. **B)** Resultados obtidos em ratos machos. No gráfico, as medidas realizadas após 30 minutos da injeção estão evidenciadas com no eixo x como 30' demarcadas dentro do espaço do dia da avaliação. Os dados estão representados como média \pm erro padrão, onde $p < 0,05$ * comparando com SHAM + veículo, # comparando com CION hiperalgésico + veículo. ANOVA de duas vias seguido pelo teste *post-hoc* de Bonferroni.

4.3 EFEITO DO TRATAMENTO SUBARACNÓIDEO COM RvD5 NA HIPERALGESIA MECÂNICA

Como a analgesia foi observada na avaliação da hiperalgesia térmica, o próximo passo foi avaliar o efeito da RvD5 na hiperalgesia mecânica induzida por CION (Figura 6). Diferentemente da hiperalgesia térmica, o desenvolvimento da hiperalgesia mecânica pós CION é mais tardio, porém mais duradouro (CHICHORRO et al., 2006). Portanto, a hiperalgesia mecânica foi avaliada no 12º dia pós cirúrgico e novamente no 21º dia pós cirúrgico, sendo que em ambos os dias não há diferença no limiar mecânico dos animais CION veículos e tratados com RvD5. A redução da hiperalgesia foi observada nos dias 16 a 18, meia hora após o tratamento nas fêmeas (gráfico A) tratadas com RvD5 na dose de 10 ng, porém os animais tratados com a dose de 3 ng não apresentaram diferença significativa no limiar quando comparados com os animais CION tratados com veículo. Já os grupos de animais machos (gráfico B) tratados com ambas as doses de RvD5 apresentaram uma reversão da hiperalgesia no período correspondente ao 12º dia, meia hora após a injeção, até o 20º dia pós cirúrgico. É possível afirmar que, assim como nos outros testes, a administração de RvD5 foi incapaz de alterar o limiar mecânico dos animais SHAM, tanto machos quanto fêmeas.

FIGURA 6: EFEITO DA INJEÇÃO MEDULAR SUBARACNÓIDEA COM RVD5 NA HIPERALGESIA MECÂNICA INDUZIDA POR CONSTRIÇÃO DO NERVO INFRAORBITAL.



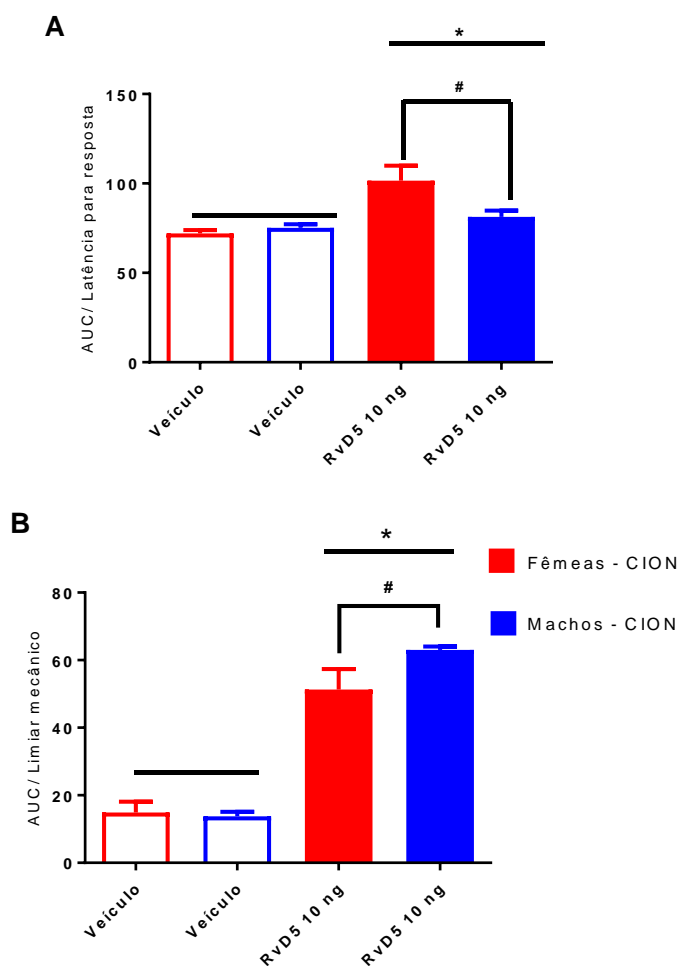
NOTA: O limiar mecânico basal dos animais foi avaliado e em seguida, foram submetidos à constrição do nervo (CION) ou ao procedimento controle (SHAM). O tratamento com veículo ou RvD5 (3 e 10 ng/5 μ l) ocorreu nos dias 12, 14, 16 e 18 após a cirurgia, juntamente com a avaliação do limiar mecânico antes e 30 minutos após a injeção. Ao fim do experimento, no vigésimo dia pós-cirúrgico, foi realizada a avaliação final do limiar mecânico.

LEGENDA: **A)** Resultados obtidos em ratos fêmeas. **B)** Resultados obtidos em ratos machos. No gráfico, as medidas realizadas após 30 minutos da injeção estão evidenciadas com no eixo x como 30' demarcadas dentro do espaço do dia da avaliação. Os dados estão representados como média \pm erro padrão, onde $p < 0,05$ * comparando com SHAM + veículo, # comparando com CION hiperalgésico + veículo. ANOVA de duas vias seguido pelo teste *post-hoc* de Bonferroni.

4.3.1 Análise da Área sob a Curva

Para efeito de comparação entre a diferença dos resultados obtidos com a injeção de RvD5 subaracnóidea entre machos e fêmeas, realizamos a análise da área sob a curva dos testes de hiperalgesia térmica e mecânica. Foram analisados para essa comparação os dados de pós-tratamento dos animais CION tratados com veículo ou com RvD5 10 ng de ambos os sexos (Figura 7). Com esses dados, podemos observar que as fêmeas obtiveram uma redução mais significativa da hiperalgesia térmica, enquanto os machos obtiveram maior redução da hiperalgesia mecânica. Em ambas as análises, as fêmeas e machos CION tratados com veículo não apresentaram diferenças entre si.

FIGURA 7: COMPARAÇÃO DA ÁREA SOBRE A CURVA ENTRE OS RESULTADOS OBTIDOS NOS PROTOCOLOS DE HIPERALGESIA TÉRMICA E MECÂNICA ENTRE FÊMEAS E MACHOS



LEGENDA: A) Resultados obtidos na avaliação da hiperálgia térmica entre animais CION tratados com veículo ou RvD5 10 ng/ 5 µL de ambos os sexos no período compreendido entre o primeiro dia até o oitavo dia pós-cirúrgico, dados de pós tratamento. B) Resultados obtidos na avaliação da hiperálgia mecânica entre animais CION tratados com veículo ou RvD5 10 ng/ 5 µL de ambos os sexos no período compreendido entre o 12º até o 18º dia pós-cirúrgico, dados de pós-tratamento. Primeiramente, com os dados em tabelas tipo coluna, foi obtido a área sobre a curva de cada animal, então, dessa análise é realizado ANOVA de uma via seguido pelo teste *post hoc* de Bonferroni, comparando a média de cada coluna com as médias das outras colunas. Os dados estão representados como média ± erro padrão, onde $p < 0,05$, onde * representa uma diferença estatística significativa comparada com o CION-veículo enquanto # representa diferença estatística entre machos e fêmeas tratados com RvD5.

5 Discussão

Nossos resultados corroboram os achados encontrados na literatura acerca da eficácia dos lipídeos pró-resolutivos na dor crônica (DZHEN-ZHONG XU et al., 2008; LUO et al., 2019; XU et al., 2013; ZHANG et al., 2018) em machos, porém pouco se sabe sobre a atuação dos lipídeos pró-resolução em fêmeas.

Um estudo com modelo de injeção de formalina intraplantar identificou uma redução do comportamento nociceptivo em camundongos machos tratados com uma única dose de RvD5 10 ng intratecal na fase II do teste de formalina; esse resultado não foi observado em camundongos fêmeas. Nesse mesmo estudo, em modelo crônico de neuropatia induzida por quimioterápico, uma única injeção de RvD5 100 ng intratecal reverteu a hiperalgesia em machos, mas não em fêmeas (LUO et al., 2019). Dois mecanismos são propostos pelos autores desse trabalho. O primeiro envolve as interações neuro-imunes, em que a regulação da dor pela micróglia espinhal ocorre apenas em machos (SORGE et al., 2015), e o segundo trata-se do potencial das resolvinas em bloquear receptores do tipo TRPV1 e TRPA1, visto que animais *knock-out* para esses receptores não respondem ao tratamento com RvD5 (LUO et al., 2019).

Apesar dos diversos estudos analisando as diferenças sexuais na percepção da dor (FILLINGIM et al., 2009; MOGIL, 2020; RILEY et al., 1998) os mecanismos subjacentes ainda não são claros, e parecem envolver vários fatores biológicos. Além disso, esse dimorfismo sexual pode variar entre diferentes linhagens de camundongos e ratos, com relação ao estímulo nociceptivo ou medida avaliada (MOGIL, 2012).

Além das doses utilizadas, outra diferença marcante entre os modelos é a quantidade de administrações da RvD5. Enquanto o estudo de Luo et al. (2019) utiliza uma única administração com avaliação de 6 horas consecutivas, nossos experimentos utilizam um protocolo de tratamento de 4 dias e avaliação até 9 dias após o início do tratamento. Inclusive a reversão da hiperalgesia nas fêmeas é observado em um período mais tardio de tratamento.

Quanto à administração de RvD5 intraperitoneal, podemos considerar algumas hipóteses para a não eficácia. Em primeiro lugar, comparado com o encontrado na literatura em modelo de lesão de nervo com resultados em doses de 100 ng intraperitoneal (LUO et al., 2019; XU et al., 2013), a dose de RvD5 administrada

sistemicamente é baixa para garantir uma reversão da hiperalgesia. Apesar da existência de um estudo utilizando a administração intraperitoneal com resultados expressivos em inflamação com doses ainda menores em camundongos, esse protocolo utiliza um modelo de inflamação intestinal, sendo a injeção intraperitoneal considerada uma injeção local, além da diferença entre espécies utilizadas (GOBETTI et al., 2017). Associado a isso, temos a característica lipídica desses mediadores, que facilita a interação dessas moléculas com diversos tipos celulares, de maneira que a administração sistêmica atinge diversos alvos inespecíficos para o nosso modelo de dor crônica orofacial. Com isso, a biotransformação desses lipídeos, que resulta na formação de metabólitos inativos pela desidrogenação (SERHAN et al., 1995), também pode ser uma explicação para a não efetividade dessas moléculas, já que as impedem de atingir altas concentrações em sítios de processamento orofaciais específicos.

Nossos protocolos de injeção intraperitoneal e a injeção subaracnóidea no *caudalis* utilizaram as mesmas doses de RvD5, de forma que, com a injeção sistêmica, a concentração de resolvina que atinge o subnúcleo *caudalis* é muito baixa comparada com a injeção diretamente sobre a estrutura. Podemos concluir, então, que a injeção de RvD5 diretamente no subnúcleo *caudalis* é mais específica que a injeção intraperitoneal (sistêmica) e, portanto, observamos resultados apenas com a injeção subaracnóidea no *caudalis* e não com a injeção intraperitoneal. Inclusive, a via intratecal, região estruturalmente análoga ao subnúcleo *caudalis*, é a via de administração de mediadores lipídicos de muitos estudos, principalmente daqueles que envolvem modelos de dor (LUO et al., 2019; XU et al., 2010; XU et al., 2013; ZHANG et al., 2018).

Desse modo, com a injeção medular de RvD5, foi possível observar efeitos analgésicos tanto na hiperalgesia térmica quanto mecânica em machos e fêmeas na maior dose de RvD5 administrada (10 ng). Já a dose de 3 ng apresentou resultados significativos apenas na hiperalgesia mecânica em machos, o que sugere maior sensibilidade desses animais ao tratamento. Com isso, a dose de 10 ng foi escolhida para a análise da área sobre a curva dos testes de hiperalgesia térmica e mecânica, permitindo um comparativo entre as respostas de ambos os sexos. Nessa análise, enquanto as fêmeas obtiveram maior eficácia no teste da hiperalgesia térmica, os machos obtiveram na hiperalgesia mecânica, o que pode ser explicado por diferentes

mecanismos de processamento da dor entre os sexos. Ademais, a avaliação comportamental antes e meia hora após a injeção permitiu a observação do efeito analgésico de uma administração de RvD5 que permaneceu por mais de 48 horas após a injeção, sendo que não foi identificado a presença de tolerância, e ainda, o tratamento com RvD5 não foi capaz de alterar o limiar basal de animais SHAM em ambos os sexos.

Outra observação que merece ser destacada é a eficácia maior da RvD5 na avaliação da hiperalgesia mecânica, visto que os animais apresentaram uma abolição da hiperlagesia mecânica. Estudos já demonstraram a eficácia da RvD5 no tratamento de dores crônicas, sendo inclusive superior aos outros representantes da série D de resolvinas (LUO et al., 2019; ZHANG et al., 2018). Porém, este é o primeiro estudo que avaliou o efeito da RvD5 tanto na hiperalgesia térmica quanto mecânica, fornecendo este comparativo.

Sendo assim, nossos resultados estão de acordo com o que mostra o estudo de Luo et al. (2019), em que ocorre a reversão da hiperalgesia mecânica induzida por quimioterápico pelo tratamento intratecal com a RvD5. Porém, em contraste com o nosso estudo e como discutido anteriormente, esse efeito só foi observado em machos. O fato de que machos e fêmeas foram responsivos ao tratamento com RvD5 no modelo de dor neuropática trigeminal é de grande relevância, considerando que em humanos várias condições dolorosas orofaciais acometem mais mulheres do que homens (DE TOLEDO et al., 2016).

Estudos já têm evidenciado a contribuição da citocina pró-inflamatória IL-6 em diversos modelos de dor, mais especificamente em dores neuropáticas, em que sua dosagem sérica está elevada em pacientes que sofrem desta condição (CLARK et al., 2013). Ademais, foi demonstrado que uma administração intratecal de IL-6 promove hiperalgesia mecânica e térmica, enquanto o tratamento com anticorpo monoclonal anti-IL-6 reverte essa condição (ZHUO, 2016). Além disso, é importante mencionar que a administração de RvD5 é capaz de inibir a produção de IL-6 *in vitro* (CHUN et al., 2020). Portanto, como perspectivas futuras, nosso objetivo é analisar os níveis da citocina pró-inflamatória IL-6 no subnúcleo *caudalis* no modelo de dor neuropática orofacial, bem como a influência do tratamento com RvD5 nesse parâmetro.

6 CONCLUSÃO

Como conclusão, esse estudo é a primeira demonstração do papel analgésico da RvD5 em modelo de dor neuropática trigeminal, e além de indicar que esse lipídeo pode representar uma potencial molécula terapêutica para o tratamento de dores crônicas trigeminais, evidencia que machos e fêmeas são susceptíveis ao efeito da RvD5. Estudos adicionais são necessários para avaliar o potencial antinociceptivo da RvD5 em outros modelos de dor orofacial, bem como para investigar os mecanismos subjacentes a este efeito.

REFERÊNCIAS

- ARAYA, E. I.; CLAUDINO, R. F.; PIOVESAN, E. J.; CHICHORRO, J. G. Trigeminal Neuralgia: Basic and Clinical Aspects. **Current Neuropharmacology**, v. 18, n. 2, p. 109–119, 2019.
- BANG, S.; KIM, Y. S.; LEE, S.; et al. Prevalence of common causes of neuropathic pain in Korea : population-based observational study. **Journal of International Medical Research**, v. 48, n. 7, p. 1–10, 2019.
- BAZAN, N. G.; CALANDRIA, J. M.; SERHAN, C. N. Rescue and repair during photoreceptor cell renewal mediated by docosahexaenoic acid-derived neuroprotectin D1. **Journal of Lipid Research**, v. 51, p. 2018–2031, 2010.
- BUSHNELL, M. C.; ČEKO, M.; LOW, L. Cognitive and emotional control of pain and its disruption in chronic pain. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 7, n. 14, p. 502–511, 2013.
- CALDER, P. C. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: Nutrition or pharmacology? **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 75, n. 3, p. 645–662, 2013.
- CHEN, G.; ZHANG, Y.; QADRI, Y. J.; et al. Microglia in Pain: Detrimental and protective roles in pathogenesis and resolution of pain. **Neuron**, v. 100, n. 6, p. 1292–1311, 2019.
- CHIANG, N.; FREDMAN, G.; BÄCKHED, F.; et al. Infection regulates pro-resolving mediators that lower antibiotic requirements. **Nature letter**, v. 484, p. 2–7, 2012.
- CHICHORRO, J. G.; PORRECA, F.; SESSLE, B. Mechanisms of craniofacial pain. **Cephalalgia**, v. 37, n. 7, p. 613-626, 2017.
- CHICHORRO, J. G.; ZAMPRONIO, A. R.; CABRINI, D. A.; FRANCO, C. R. C.; RAE, G. A. Mechanisms operated by endothelin ET A and ET B receptors in the trigeminal ganglion contribute to orofacial thermal hyperalgesia induced by infraorbital nerve constriction in rats q. **Neuropeptides**, v. 43, n. 2, p. 133–142, 2009.
- CHICHORRO, J. G.; ZAMPRONIO, A. R.; PETTO SOUZA, G. E.; RAE, G. A. 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.
- CHUN, H.-W.; LEE, JINTAK; PHAM, T.-H.; et al. Resolvin D5, a Lipid Mediator, Inhibits Production of Interleukin-6 and CCL5 Via the ERK-NF-κB Signaling Pathway in Lipopolysaccharide- Stimulated THP-1 Cells. **Journal of Molecular Biology**, v. 30, n. 1, p. 85–92, 2020.
- CLARK, A. K.; OLD, E. A.; MALCANGIO, M. Neuropathic pain and cytokines: Current perspectives. **Journal of Pain Research**, v. 6, p. 803–814, 2013.

COLLOCA, L.; LUDMAN, T. Neuropathic Pain. **Nature Reviews**, v. 3, n. 6, p. 0–19, 2017.

CROFFORD, L. J. Chronic Pain: Where The Body Meets The Brain. **Transactions of the American Clinical and Climatological Association**, v. 126, p. 167–183, 2015.

CRUCCU, G.; GRONSETH, G.; ALKSNE, J.; et al. AAN-EFNS guidelines on trigeminal neuralgia management. **European Journal of Neurology**, v. 15, n. 10, p. 1013–1028, 2008.

DALLI, J.; ZHU, M.; VLASENKO, N. A.; et al. The novel 13S,14S-epoxy-maresinis converted by human macrophages to maresin 1 (MaR1), inhibits leukotriene A4 hydrolase (LTA4H), and shifts macrophage phenotype. **FASEB Journal**, v. 27, n. 7, p. 2573–2583, 2013.

DZHEN-ZHONG XU; BERTA, X.-J. L. T.; PARK, C.-K.; et al. Neuroprotectin/Protectin D1 protects neuropathic pain in mice after nerve trauma. **Bone**, v. 23, n. 1, p. 1–7, 2008.

EL-TALLAWY, H. N.; FARGHALY, W. M.; RAGEH, T. A.; et al. Prevalence of trigeminal neuralgia in Al-Quseir city (Red sea Governorate), Egypt. **Clinical Neurology and Neurosurgery**, v. 115, n. 9, p. 1792–1794, 2013.

FATTORI, V.; PINHO-RIBEIRO, F. A.; STAURENGO-FERRARI, L.; et al. The specialised pro-resolving lipid mediator maresin 1 reduces inflammatory pain with a long-lasting analgesic effect. **British Journal of Pharmacology**, v. 176, n. 11, p. 1728–1744, 2019.

FILLINGIM, R. B.; KING, C. D.; RIBEIRO-DASILVA, M. C.; et al. Sex, Gender, and Pain: A Review of Recent Clinical and Experimental Findings. **The Journal of Pain**, v. 10, n. 5, p. 447–485, 2009.

FREYNHAGEN, R.; BARON, R.; GOCKEL, U.; TÖLLE, T. R. Pain DETECT: A new screening questionnaire to identify neuropathic components in patients with back pain. **Current Medical Research and Opinion**, v. 22, n. 10, p. 1911–1920, 2006.

GAGNON, M.; BERGERON, M. J.; LAVERTU, G.; CASTONGUAY, A. Chloride extrusion enhancers as novel therapeutics for neurological diseases. **Nature Medicine**, v. 19, n. 11, p. 1524–1528, 2014.

GAMBETA, E.; CHICHORRO, J. G.; W. ZAMPONI, G. Trigeminal neuralgia: An overview from pathophysiology to pharmacological treatments. **Molecular Pain**, v. 16, 2020.

GIAMBERARDINO, M. A.; JAMISON, R. N.; ASSESSMENT, P.; et al. Epidemiology and Impact of Neuropathic Pain. **PAIN - CLINICAL UPDATES**, v. XVIII, n. 7, p. 1–6, 2010. Disponível em: <https://s3.amazonaws.com/rdcms-iasp/files/production/public/Content/ContentFolders/Publications2/PainClinicalUpdate>

s/Archives/PCU_18-7_final_1390260761555_9.pdf.

GOBBETTI, T.; DALLI, J.; COLAS, R. A.; et al. Protectin D1n-3 DPA and resolvin D5n-3 DPA are effectors of intestinal protection. **Proceedings of National Academy of Science**, v. 114, n. 15, p. 1–6, 2017.

GRONERT, B. K.; GEWIRTZ, A.; MADARA, J. L.; SERHAN, C. N. Identification of a Human Enterocyte Lipoxin A 4 Receptor That Is Regulated by Interleukin (IL)-13 and Interferon γ and Inhibits Tumor Necrosis Factor α -induced IL-8 Release. **Journal of Experimental Medicine**, v. 187, n. 8, p. 4–13, 1998.

GUSTORFF, B.; DORNER, T.; GRISOLD, W.; LAWRENCE, K. Prevalence of self-reported neuropathic pain and impact on quality of life: a prospective representative survey. **Acta Anaesthesiologica Scandinavica**, v. 52, n. 1, p. 132–136, 2010.

HEINRICHER, M.; TVARES, I.; LEITH, J.; LUMB, B. Descending control of nociception: specificity, recruitment and plasticity. **Brain Research Reviews**, v. 60, n. 1, p. 214–225, 2009.

HONG, S.; GRONERT, K.; DEVCHAND, P. R.; MOUSSIGNAC, R. L.; SERHAN, C. N. Novel docosatrienes and 17S-resolvins generated from docosaehaenoic acid in murine brain, human blood, and glial cells: Autacoids in anti-inflammation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 17, p. 14677–14687, 2003.

HUANG, L.; WANG, C. F.; SERHAN, C. N.; STRICHARTZ, G. Enduring prevention and transient reduction of postoperative pain by intrathecal resolvin D1. **Pain**, v. 152, n. 3, p. 557–565, 2011.

HUCHO, T.; LEVINE, J. D. Signaling Pathways in Sensitization: Toward a Nociceptor Cell Biology. **Neuron**, v. 55, n. 3, p. 365–376, 2007.

JI, R.; NACKLEY, A.; HUH, Y.; MAIXNER, W. Neuroinflammation and central sensitization in chronic and widespread pain. **Anesthesiology**, v. 129, n. 2, p. 343–366, 2019.

JI, R.; XU, Z.; STRICHARTZ, G.; SERHAN, C. N. Emerging roles of resolvins in the resolution of inflammation and pain. **Trends in Neurosciences**, v. 34, n. 11, p. 599–609, 2011.

LEKNES, S.; TRACEY, I. A common neurobiology for pain and pleasure. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 9, p. 314–320, 2008.

LEVY, B. D.; CLISH, C. B.; SCHMIDT, B.; et al. Lipid mediator class switching during acute inflammation: signals in resolution. **Nature Immunology**, v. 2, n. 7, p. 612–619, 2001.

LIMA-GARCIA, J. F.; DUTRA, R. C.; DA SILVA, K. A. B. S.; et al. The precursor of resolvin D series and aspirin-triggered resolvin D1 display anti-hyperalgesic properties in adjuvant-induced arthritis in rats. **British Journal of Pharmacology**, v. 164, n. 2, p. 278–293, 2011.

- LIU, M. X.; ZHONG, J.; XIA, L.; DOU, N. N.; LI, S. T. A correlative analysis between inflammatory cytokines and trigeminal neuralgia or hemifacial spasm. **Neurological Research**, v. 41, n. 4, p. 335–340, 2019. Taylor & Francis.
- LUO, X.; GU, Y.; TAO, X.; SERHAN, C. N.; JI, R. R. Resolvin D5 Inhibits Neuropathic and Inflammatory Pain in Male But Not Female Mice : Distinct Actions of D-Series Resolvins in Chemotherapy- Induced Peripheral Neuropathy. **Frontiers in Pharmacology**, v. 10, n. July, p. 1–9, 2019.
- MAARBJERG, S.; DI STEFANO, G.; BENDTSEN, L.; CRUCCU, G. Trigeminal neuralgia - Diagnosis and treatment. **Cephalalgia**, v. 37, n. 7, p. 648–657, 2017.
- MARCHESELLI, V. L.; HONG, S.; LUKIW, W. J.; et al. Novel Docosanoids Inhibit Brain Ischemia-Reperfusion-mediated Leukocyte Infiltration and Pro-inflammatory Gene Expression. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 44, p. 43807–43817, 2003.
- MARCHESELLI, V. L.; MUKHERJEE, P. K.; ARITA, M.; et al. Neuroprotectin D1/Protectin D1 Stereoselective and Specific Binding With Human Retinal Pigment Epithelial Cells and Neutrophils. **Prostaglandins Leukotrienes & Essential Fatty Acids**, v. 82, n. 1, p. 1–17, 2011.
- MELEK, L. N.; DEVINE, M.; RENTON, T. The psychosocial impact of orofacial pain in trigeminal neuralgia patients: a systematic review. **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 47, n. 7, p. 869–878, 2018.
- MOGIL, J. S. Sex differences in pain and pain inhibition: multiple explanations of a controversial phenomenon. **Nature Reviews**, v. 13, n. Box 1, p. 859–866, 2012.
- MOGIL, J. S. Qualitative sex differences in pain processing: emerging evidence of a biased literature. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 21, n. 7, p. 353–365, 2020.
- MORRIS, T.; STABLES, M.; COLVILLE-NASH, P.; et al. Dichotomy in duration and severity of acute inflammatory responses in humans arising from differentially expressed proresolution pathways. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 107, n. 19, p. 8842–8847, 2010.
- NONES, C. F. M.; CLAUDINO, R. F.; FERREIRA, L. E. N.; et al. Descending facilitatory pain pathways mediate ongoing pain and tactile hypersensitivity in a rat model of trigeminal neuropathic pain. **Neuroscience Letters**, v. 644, p. 18–23, 2017.
- NURMIKKO, T. J.; ELDRIDGE, P. R. Trigeminal neuralgia-pathophysiology , diagnosis and current treatment. **British Journal of Anaesthesia**, v. 87, n. 1, p. 117–132, 2001.
- OSSIPOV, M.; MORIMURA, K.; PORRECA, F. Descending pain modulation and chronification of pain. **National Institute os Health - Author Manuscript**, v. 8, n. 2, p. 143–151, 2015.
- PARK, C. K.; LÜ, N.; XU, Z. Z.; et al. Resolving TRPV1- and TNF- α -mediated spinal

cord synaptic plasticity and inflammatory pain with neuroprotectin D1. **Journal of Neuroscience**, v. 31, n. 42, p. 15072–15085, 2011.

PARK, J.; LANGMEAD, C. J.; RIDDY, D. M. New Advances in Targeting the Resolution of Inflammation: Implications for Specialized Pro-Resolving Mediator GPCR Drug Discovery. **ACS Pharmacology and Translational Science**, v. 3, n. 1, p. 88–106, 2020.

PATEL, R.; DICKENSON, A. H. Neuronal hyperexcitability in the ventral posterior thalamus of neuropathic rats : modality selective effects of pregabalin. **Journal of Neurophysiology**, p. 159–170, 2016.

RILEY, J. L.; ROBINSON, M. E.; WISE, E. A.; MYERS, C. D.; FILLINGIM, R. B. Sex differences in the perception of noxious experimental stimuli : a meta-analysis. **PAIN**, v. 74, p. 181–187, 1998.

SERHAN, C., CHIANG N., V. D. T. Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. **Nature Reviews Immunology**, v. 8, n. 5, p. 349–361, 2008.

SERHAN, B. C. N.; CLISH, C. B.; BRANNON, J.; et al. Novel Functional Sets of Lipid-derived Mediators with Antiinflammatory Actions Generated from Omega-3 Fatty Acids via Cyclooxygenase 2 – Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs and Transcellular Processing. **Journal of Experimental Medicine**, v. 192, n. 8, p. 1197–1204, 2000.

SERHAN, C. N. Resolution phase of inflammation: Novel endogenous anti-inflammatory and proresolving lipid mediators and pathways. **Annual Review of Immunology**, v. 25, p. 101–137, 2007.

SERHAN, C. N.; CHIANG, N. Endogenous pro-resolving and anti-inflammatory lipid mediators : a new pharmacologic genus. **British Journal of Pharmacology**, v. 153, p. 200–215, 2008.

SERHAN, C. N.; DALLI, J.; KARAMNOV, S.; et al. Macrophage proresolving mediator maresin 1 stimulates tissue regeneration and controls pain. **The FASEB Journal**, v. 26, n. 4, p. 1755–1765, 2012.

SERHAN, C. N.; GOTLINGER, K.; HONG, S.; et al. Anti-Inflammatory Actions of Neuroprotectin D1/Protectin D1 and Its Natural Stereoisomers: Assignments of Dihydroxy-Containing Docosatrienes. **The Journal of Immunology**, v. 176, n. 3, p. 1848–1859, 2006.

SERHAN, C. N.; HONG, S.; GRONERT, K.; et al. Resolvins : A Family of Bioactive Products of Omega-3 Fatty Acid Transformation Circuits Initiated by Aspirin Treatment that Counter Proinflammation Signals. **Journal of Experimental Medicine**, v. 196, n. 8, p. 1025–1037, 2002.

SERHAN, C. N.; MADDOX, J. J. F.; PETASIS, N. A.; et al. Design of Lipoxin Stable Analogs That Block Transmigration and Adhesion of Human Neutrophils.

Biochemistry, v. 34, p. 14609–14615, 1995.

SERHAN, C. N.; YANG, R.; MARTINOD, K.; et al. Maresins: Novel macrophage mediators with potent antiinflammatory and proresolving actions. **Journal of Experimental Medicine**, v. 206, n. 1, p. 15–23, 2009.

SORGE, R. E.; MAPPLEBECK, J. C. S.; ROSEN, S.; et al. Different immune cells mediate mechanical pain hypersensitivity in male and female mice. **Nature Neuroscience**, , n. June, p. 1–5, 2015.

SOROKIN, A. V.; NORRIS, P. C.; ENGLISH, J. T.; et al. Identification of proresolving and inflammatory lipid mediators in human psoriasis. **Journal of Clinical Lipidology**, v. 12, n. 4, p. 1047–1060, 2018.

SVENSSON, C. I.; ZATTONI, M.; SERHAN, C. N. Lipoxins and aspirin-triggered lipoxin inhibit inflammatory pain processing. **Journal of Experimental Medicine**, v. 204, n. 2, p. 245–252, 2007.

DE TOLEDO, I. P.; CONTI RÉUS, J.; FERNANDES, M.; et al. Prevalence of trigeminal neuralgia: A systematic review. **Journal of the American Dental Association**, v. 147, n. 7, p. 570- 576.e2, 2016.

TSUDA, M.; BEGGS, S.; SALTER, M. W.; INOUE, K. Microglia and Intractable Chronic Pain. **GLIA**, v. 61, p. 55–61, 2013.

WERZ, O.; GERSTMEIER, J.; LIBREROS, S.; et al. Human macrophages differentially produce specific resolvin or leukotriene signals that depend on bacterial pathogenicity. **Nature Communications**, v. 9, n. 1, p. 1–12, 2018.

WIFFEN, P. J.; DERRY, S.; MOORE, R. A.; MCQUAY, H. J. Carbamazepine for acute and chronic pain in adults. **Europe PMC Funders Group**, , n. 8, 2014.

WOOLF, C. J.; MA, Q. Nociceptors-Noxious Stimulus Detectors. **Neuron**, v. 55, n. 3, p. 353–364, 2007.

XU, Z. Z.; BERTA, T.; JI, R. R. Resolvin E1 inhibits neuropathic pain and spinal cord microglial activation following peripheral nerve injury. **Journal of Neuroimmune Pharmacology**, v. 8, n. 1, p. 37–41, 2013.

XU, Z. Z.; ZHANG, L.; LIU, T.; et al. Resolvins RvE1 and RvD1 attenuate inflammatory pain via central and peripheral actions. **Nature Medicine**, v. 16, n. 5, p. 592–597, 2010.

YANG, Y.; WANG, Y.; LI, S.; et al. Mutations in SCN9A , encoding a sodium channel alpha subunit, in patients with primary erythralgia. **Journal of Medical Genetics**, v. 41, p. 171–174, 2004.

ZHANG, L.; TERRANDO, N.; XU, Z. Z.; et al. Distinct analgesic actions of DHA and DHA-derived specialized pro-resolving mediators on post-operative pain after bone fracture in mice. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, n. MAY, p. 1–10, 2018.

ZHUO, M. Neural Mechanisms Underlying Anxiety-Chronic Pain Interactions. **Trends in Neurosciences**, v. 39, n. 3, p. 136–145, 2016.