

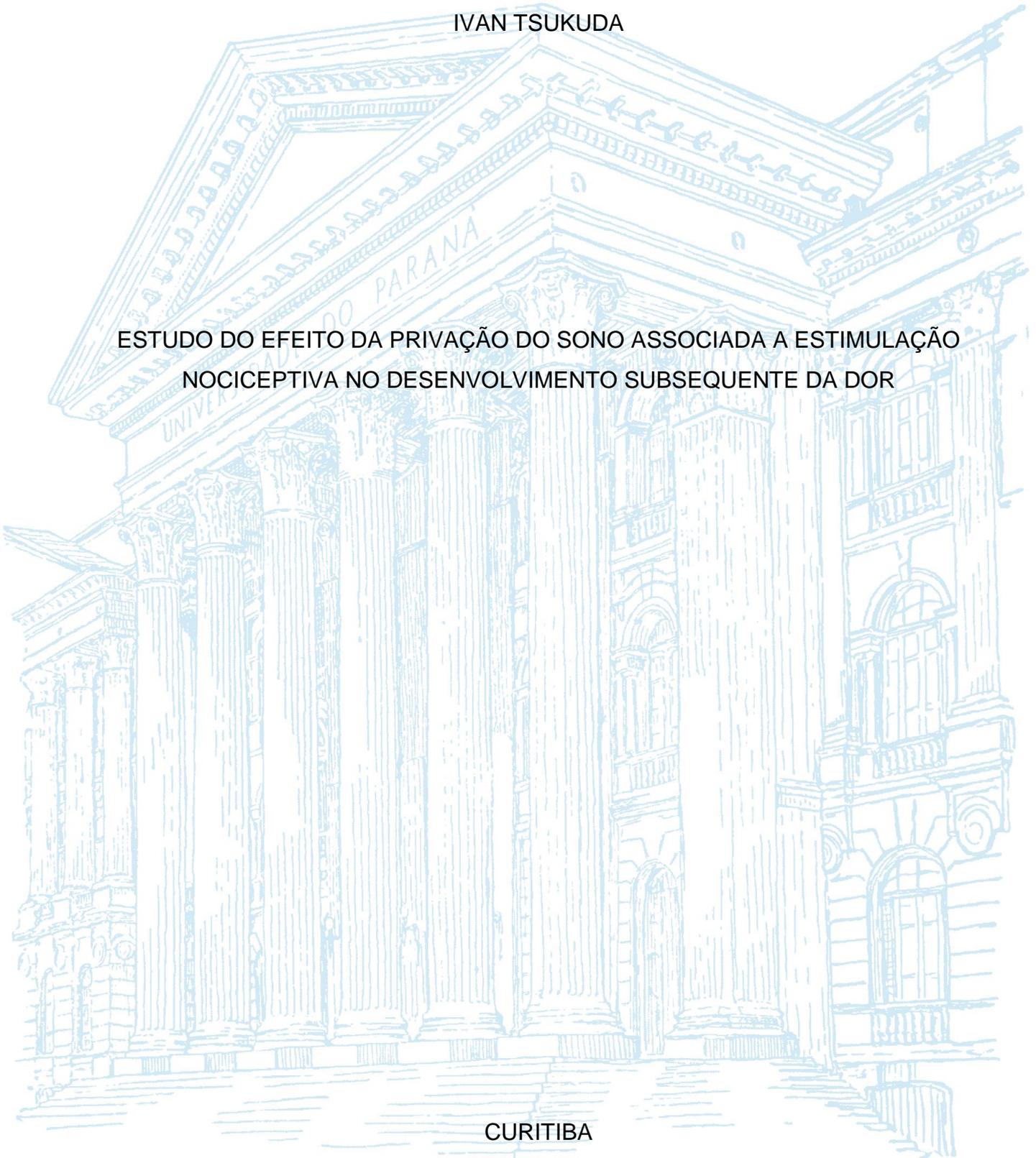
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

IVAN TSUKUDA

ESTUDO DO EFEITO DA PRIVAÇÃO DO SONO ASSOCIADA A ESTIMULAÇÃO
NOCICEPTIVA NO DESENVOLVIMENTO SUBSEQUENTE DA DOR

CURITIBA

2023



IVAN TSUKUDA

ESTUDO DO EFEITO DA PRIVAÇÃO DO SONO ASSOCIADA A ESTIMULAÇÃO
NOCICEPTIVA NO DESENVOLVIMENTO SUBSEQUENTE DA DOR

TCC 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: Profa. Dra. Luana Fischer

CURITIBA

2023

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meu pais, Rosa e Olinto, por todo apoio que tem me fornecido, não só durante meu período na universidade, mas também durante toda minha vida.

Agradeço às amizades realizadas durante o curso de graduação de Biomedicina, em especial à Adrieli, à Beatriz, à Gabrielle, à Jéssica, ao João, ao Marcos, ao Pedro, à Stella e ao William. Não seria possível passar por todo estresse e cansaço da graduação sem o apoio de todos.

Agradeço às amizades feitas durante meu tempo no Laboratório de Neurofisiologia da Dor em especial à Ana, modelo de dedicação e esforço, e por sua paciência ao me ensinar.

Agradeço à Profa. Dra. Luana Fischer, minha orientadora, por seus ensinamentos, paciência e dedicação à pesquisa científica.

Agradeço à Universidade Federal do Paraná pela oportunidade de realizar este curso e a todos os professores pelos ensinamentos.

Agradeço à minha cachorra, Guida, por sua presença em minha vida.

“Quando a ciência, a arte, a literatura e a filosofia são simplesmente a manifestação da personalidade, elas estão em um nível onde são possíveis realizações gloriosas e deslumbrantes, que podem fazer o nome de um homem viver por milhares de anos.”

– Simone Weil em “*La personne et le sacré*”, 1943.

RESUMO

Existe uma clara relação bidirecional entre sono e dor: problemas de sono aumentam a dor e a dor reduz o tempo e a qualidade do sono. No entanto, não há dados na literatura que demonstrem que a diminuição do tempo de sono facilita a transição da dor aguda para a crônica, portanto, um experimento de nosso laboratório, anterior a esse, testou essa hipótese. Ao contrário de nossa hipótese, a restrição de sono (RS) não facilitou a cronificação da dor, e, surpreendentemente induziu uma espécie de efeito protetor, diminuindo a resposta nociceptiva a estímulos subsequentes. Esse é um dado paradoxal e contraintuitivo, uma vez que a literatura, inclusive com dados de nosso laboratório, é unânime em apontar que a diminuição do tempo de sono aumenta a dor. Diante disso, o objetivo deste estudo foi determinar se esse efeito protetor é induzido em outros modelos animais de dor. Para isso, ratos Wistar foram submetidos a 14 dias de RS parcial e a 7 injeções diárias de PGE₂. Assim que os animais se recuperaram, retornando aos valores basais de limiar nociceptivo mecânico, foram submetidos a um de dois novos testes nociceptivos: injeção de capsaicina na pata traseira ou a um modelo de neuropatia orofacial induzida pela constrição do nervo infraorbital (CION). Os grupos que foram previamente submetidos a RS associada às injeções de PGE₂ não desenvolveram hiperalgesia mecânica induzida pela capsaicina, também não desenvolveram hiperalgesia térmica induzida pela CION na região orofacial. Esses dados confirmam nosso achado anterior de que ratos submetidos a RS associada a estimulação nociceptiva persistente desenvolvem uma espécie de resistência a dor frente a estímulos nocivos posteriores. Nada parecido foi relatado na literatura e possíveis mecanismos que ajudem a explicar essas observações estão em investigação em nosso laboratório.

Palavras-chave: Dor crônica; Nocicepção; Restrição de sono; Prostaglandina E₂; Capsaicina; Constrição do nervo infraorbital

LISTA DE GRÁFICOS

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| GRÁFICO 1 – EFEITO DE INJEÇÕES DIÁRIAS DE PGE ₂ POR 14 DIAS..... | 11 |
| GRÁFICO 2 – EFEITO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE RS POR 14 DIAS E INJEÇÕES DIÁRIAS DE PGE ₂ NOS 7 DIAS FINAIS | 12 |
| GRÁFICO 3 – EFEITO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE RS E INJEÇÕES DIÁRIAS DE PGE ₂ SOBRE A RESPOSTA NOCICEPTIVA SUBSEQUENTE..... | 13 |
| GRÁFICO 4 – EFEITO DO BLOQUEIO TARDIO DE RECEPTORES KAPPA OPIOIDES NO NAC NA TRANSIÇÃO DA HIPERALGESIA AGUDA PARA CRÔNICA..... | 22 |
| GRÁFICO 5 – EFEITO DA ATIVAÇÃO DE RECEPTORES KAPPA OPIOIDES NA TRANSIÇÃO DA HIPERALGESIA AGUDA PARA CRÔNICA..... | 23 |
| GRÁFICO 6 – EFEITO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE RS POR 14 DIAS E INJEÇÕES DIÁRIAS DE PGE ₂ NOS 7 DIAS FINAIS NOS GRUPOS DESAFIADOS COM CAPSAICINA..... | 30 |
| GRÁFICO 7 – EFEITO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE RS E ESTIMULAÇÃO NOCICEPTIVA PERSISTENTE SOBRE O DESENVOLVIMENTO SUBSEQUENTE DE NOCICEPÇÃO E HIPERALGESIA INDUZIDAS POR CAPSAICINA..... | 33 |
| GRÁFICO 8 – EFEITO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE RS E ESTIMULAÇÃO NOCICEPTIVA PERSISTENTE SOBRE O DESENVOLVIMENTO SUBSEQUENTE DE DOR NEUROPÁTICA TRIGEMINAL..... | 36 |

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

| | |
|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| A2A | - Receptor de adenosina A2A |
| ACC | - Córtex Cingulado Anterior, do inglês <i>Anterior Cingulate Cortex</i> |
| AINES | - Anti-inflamatórios não esteroidais |
| ANOVA | - Análise de Variância |
| CCK2 | - Receptor de colecistoquinina B, do inglês <i>Cholecystokinin B receptor</i> |
| CEUA | - Comitê de Ética no Uso de Animais |
| CION | - Construção do nervo infraorbital |
| CP | - Procedimento controle |
| D ₁ | - Receptores de Dopamina do tipo D ₁ |
| D ₂ | - Receptores de Dopamina do tipo D ₂ |
| IASP | - Associação Internacional para o Estudo da Dor, do inglês <i>International Association for the Study of Pain</i> |
| NAc | - Núcleo Accumbens |
| PGE ₂ | - Prostaglandina E ₂ |
| RS | - Restrição de sono |
| SNK | - Teste Student-Newman-Keuls |
| TRPV1 | - Receptor de potencial transiente vanilóide 1, do inglês <i>Transient receptor potential vanilloid 1</i> |
| VTA | - Área Tegmentar Ventral, do inglês <i>Ventral Tegmental Area</i> |
| RVM | - Bulbo Rostroventral, do inglês <i>Rostral Ventral Medulla</i> |
| PAG | - Substância cinzenta periaquedutal, do inglês <i>Periaqueductal gray</i> |

SUMÁRIO

| | | |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA | 9 |
| 1.1 | OBJETIVOS | 14 |
| 1.1.1 | Objetivo geral | 14 |
| 1.1.2 | Objetivos específicos..... | 14 |
| 2 | REVISÃO DE LITERATURA | 15 |
| 2.1 | SONO | 15 |
| 2.2 | DOR..... | 17 |
| 2.3 | CRONIFICAÇÃO DA DOR | 18 |
| 2.4 | RELAÇÃO ENTRE DOR E SONO..... | 20 |
| 3 | MATERIAL E MÉTODOS | 24 |
| 3.1 | ANIMAIS..... | 24 |
| 3.2 | RESTRIÇÃO DE SONO | 24 |
| 3.3 | MODELO EXPERIMENTAL DE DOR..... | 25 |
| 3.3.1 | Hiperalgisia inflamatória crônica..... | 25 |
| 3.3.2 | Dor e hiperalgisia induzida por capsaicina | 26 |
| 3.3.3 | Neuropatia trigeminal induzida por constrição do nervo infraorbital | 26 |
| 3.4 | ANÁLISE DE DADOS..... | 27 |
| 3.5 | DESENHO EXPERIMENTAL | 27 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 29 |
| 4.1 | O EFEITO PROTETOR PARADOXAL DA RS ASSOCIADA COM ESTIMULAÇÃO NOCICEPTIVA NO DESENVOLVIMENTO SUBSEQUENTE DA DOR FOI OBSERVADO NO MODELO ANIMAL DE HIPERALGESIA INDUZIDA POR CAPSAICINA..... | 29 |
| 4.1.1 | Progressão do efeito pró-nociceptivo da associação entre RS e PGE ₂ | 29 |
| 4.1.2 | Efeito da injeção de capsaicina após o retorno ao limiar nociceptivo basal . | 31 |
| 4.2 | O EFEITO PROTETOR PARADOXAL DA RS ASSOCIADA COM ESTIMULAÇÃO NOCICEPTIVA NO DESENVOLVIMENTO SUBSEQUENTE DA DOR FOI OBSERVADO NO MODELO ANIMAL DE HIPERALGESIA INDUZIDA PELA CONSTRIÇÃO DO NERVO INFRAORBITAL | 34 |
| 4.2.1 | Progressão da efeito pró-nociceptivo da associação entre RS e PGE ₂ | 34 |
| 4.2.2 | Efeito da CION na sensibilidade térmica facial..... | 34 |
| 5 | CONSIDERAÇÕES FINAIS | 37 |
| | REFERÊNCIAS | 38 |

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A dor crônica é definida pela Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP) como uma dor que perdura por mais de três meses associada à incapacidade funcional e/ou sofrimento emocional (NICHOLAS et al., 2019). Ela é considerada uma das principais fontes de sofrimento humano (GOLDBERG e MCGEE, 2011), prejudicando a realização de atividades diárias, situação profissional e o sono de pacientes (SMITH et al., 2001; HAGEN et al., 2006). O tratamento da dor crônica, em geral, não se mostra efetivo na medida em que os fármacos mais utilizados, como anti-inflamatórios não esteroidais (AINES), acetaminofeno (paracetamol) e opióides, não apresentam bons resultados ao serem usados por longos períodos, além de induzirem diversos efeitos colaterais (KREBS et al., 2018). Conseqüentemente, os gastos com tratamento e perda de produtividade associados à dor são altos e foram estimados entre 560 a 635 bilhões de dólares, apenas nos Estados Unidos em 2010 (GASKIN; RICHARD, 2012), deixando evidente o impacto socioeconômico desta condição.

A dor crônica e os distúrbios relacionados ao sono são problemas de saúde pública mundiais (ARTNER et al., 2013; KIM et al., 2015) e já é bem descrito na literatura sua relação bidirecional, de modo que a carência de sono contribui para o desenvolvimento de dores persistentes e dores persistentes reduzem a qualidade (KARAMAN et al., 2014) e o tempo de sono (HERRERO BABILLONI et al., 2019). Estudos clínicos mostraram que 88% dos pacientes com dor crônica apresentam distúrbios de sono e que pelo menos 50% dos pacientes com problemas no sono apresentam dor crônica (MORIN et al., 2006; CHEATLE et al., 2016). De fato, estudos anteriores de nosso laboratório demonstraram que a privação de sono diminui o limiar nociceptivo em modelos animais (SARDI et al., 2018a; SARDI et al., 2018b). Desse modo, a compreensão dos mecanismos pelos quais a diminuição do tempo de sono aumenta a dor é de suma importância para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas para o tratamento e prevenção da dor.

Portanto, diante da relação bidirecional entre diminuição do tempo de sono e dor, decidimos testar a hipótese de que a privação de sono facilita a transição da dor aguda para a crônica. Para isso, foi utilizado o modelo animal de dor crônica descrito por Ferreira e colaboradores (1990), no qual um estado crônico de hiperalgesia, ou

seja, de diminuição do limiar nociceptivo se estabelece após 14 injeções diárias de Prostaglandina E₂ (PGE₂). A hiperalgesia crônica persiste por, pelo menos, 30 dias sem nenhum tratamento adicional (Gráfico 1). Acontece que a hiperalgesia crônica deste modelo também pode ser induzida com apenas 7 injeções diárias de PGE₂, desde que associadas a intervenções experimentais que facilitam a cronificação da dor (DIAS et al., 2015; VERGARA et al., 2020). Portanto, associamos 14 dias de RS a 7 injeções diárias de PGE₂ para testar a hipótese de que a privação de sono facilita o processo de cronificação da dor. Porém, a hipótese não se confirmou, os animais privados de sono não desenvolveram hiperalgesia crônica após sete injeções diárias de PGE₂ (Gráfico 2).

Diante deste resultado negativo, os animais receberam uma nova injeção de PGE₂ assim que retornaram ao limiar nociceptivo basal para testar se a associação de RS e injeções diárias de PGE₂ poderia resultar em alterações plásticas duradouras no sistema nociceptivo. O comum é que o sistema nociceptivo se torne sensibilizado e responda de forma exagerada a estímulos subsequentes após eventos nociceptivos importantes (FERRARI et al., 2015). No entanto, ao contrário do esperado, a resposta nociceptiva não aumentou, ao contrário diminuiu, impedindo o desenvolvimento subsequente de hiperalgesia aguda e crônica (Gráfico 3). Estes dados sugerem que a RS (14 dias) associado a injeções de PGE₂ (7 dias) dificulta a sensibilização nociceptiva aguda e impede o desenvolvimento subsequente da dor crônica (PESCADOR, 2019). Nós denominamos esse efeito de “efeito protetor paradoxal da RS associada a estimulação nociceptiva no desenvolvimento subsequente da dor”.

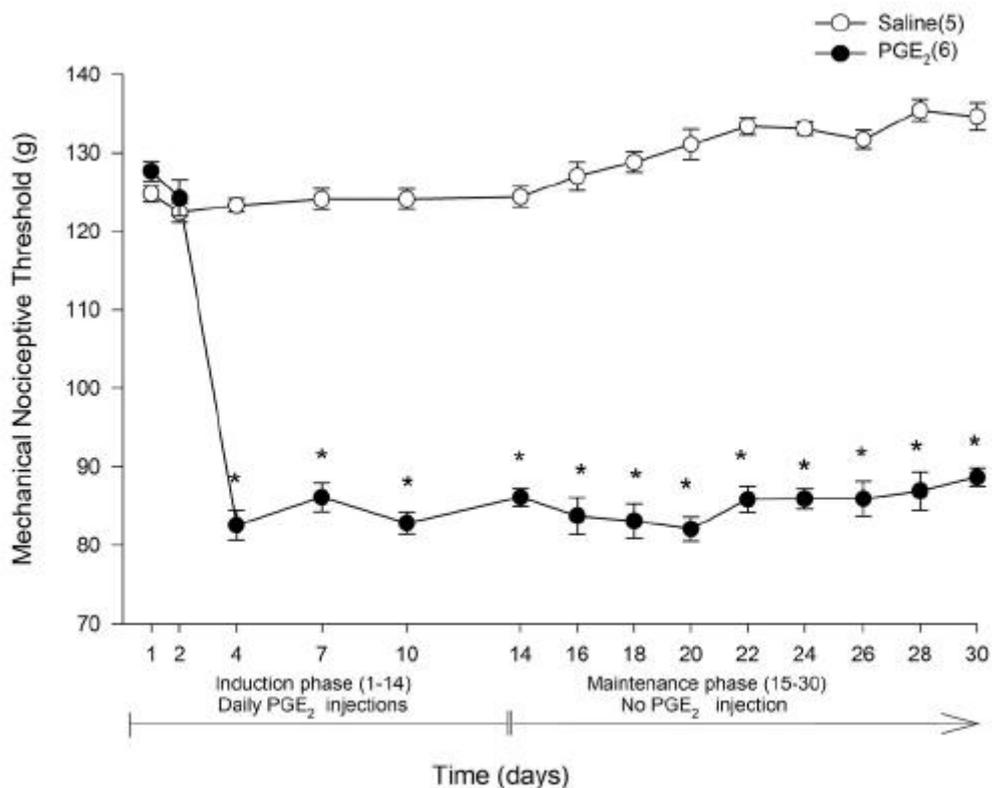


Gráfico 1 – Efeito de injeções diárias de PGE₂ por 14 dias. Injeções subcutâneas diárias por 14 dias induziram um estado crônico hiperagésico que durou por, pelo menos, 30 dias. O símbolo “*” indica limiar mecânico nociceptivo significativamente menor que o grupo controle no mesmo dia (ANOVA de medidas repetidas, seguida pelo teste de Tukey, $p < 0,0002$) (VERGARA et al., 2020).

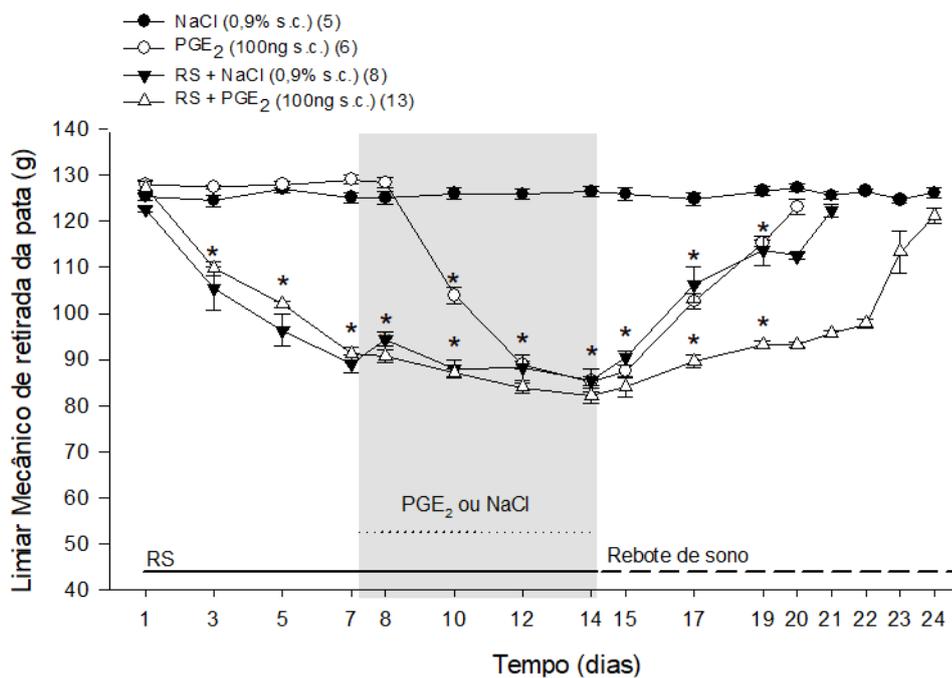


Gráfico 2 – Efeito da associação entre RS por 14 dias e injeções diárias de PGE₂ nos 7 dias finais. A associação entre RS e PGE₂ nos últimos 7 dias não induz um estado de hiperalgesia crônica, porém retarda o retorno ao limiar nociceptivo basal. O símbolo “*” indica redução significativa no limiar nociceptivo em relação ao grupo que recebeu injeção salina (ANOVA de duas vias de medidas repetidas, seguida pelo teste de Tukey, $p < 0,05$) (PESCADOR et al., 2019).

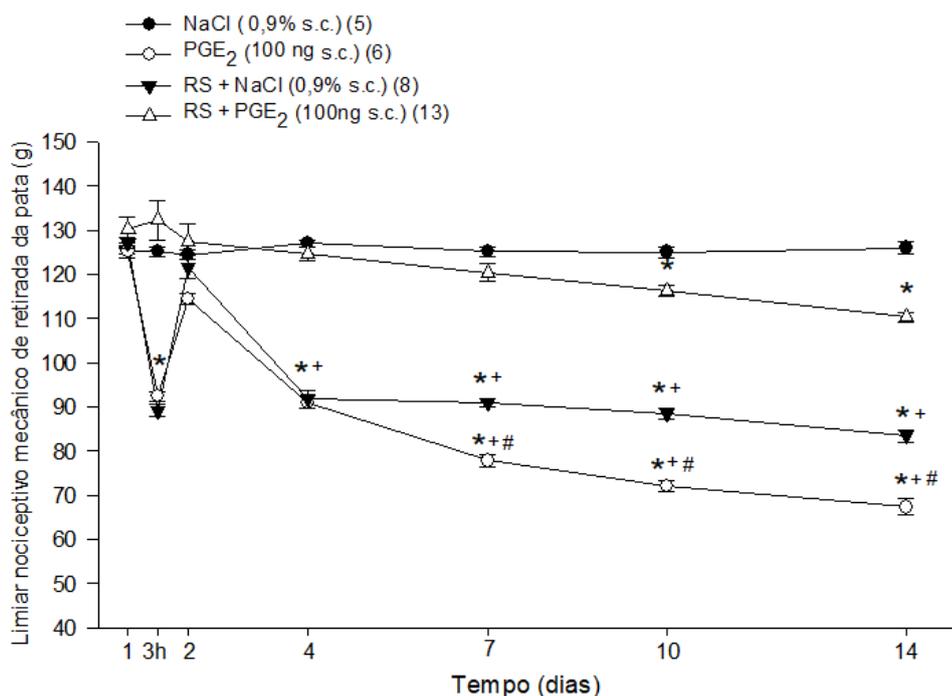


Gráfico 3 – Efeito da associação entre RS e injeções diárias de PGE₂ sobre a resposta nociceptiva subsequente. Assim que cada grupo do gráfico 1 retornou ao limiar nociceptivo basal, foram realizadas novas injeções diárias de PGE₂ por 14 dias. O grupo que anteriormente havia sido privado de sono e recebido as injeções de PGE₂ se tornou resistente ao efeito das novas injeções, seu limiar nociceptivo diminuiu muito pouco ao longo dos dias, atingindo relevância estatística somente no 10º dia. O símbolo “*” indica limiar nociceptivo significativamente menor quando comparado ao grupo NaCl (0,9% s.c.); o símbolo “+” indica limiar nociceptivo significativamente menor quando comparado ao grupo previamente exposto a RS + PGE₂ (100ng s.c.); o símbolo “#” indica limiar nociceptivo significativamente menor quando comparado ao grupo previamente exposto apenas a RS (ANOVA de duas vias de medidas repetidas, seguida pelo teste de Tukey, $p < 0,05$) (PESCADOR et al., 2019).

Esse é um dado paradoxal e contraintuitivo, uma vez que a literatura, inclusive com dados de nosso laboratório, é unânime em apontar que a diminuição do tempo de sono aumenta a dor. Diante disso, o objetivo deste estudo foi determinar se esse efeito protetor é induzido em outros modelos animais de dor, que não dependem da injeção de PGE₂.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

- Determinar se o efeito protetor paradoxal da RS associada com estimulação nociceptiva no desenvolvimento subsequente da dor é observado em outros modelos animais de dor.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Determinar se animais anteriormente submetidos a RS e injeções diárias de PGE₂ apresentam diminuição da resposta nociceptiva e hiperalgésica induzida pela injeção de capsaicina na pata traseira.
- Determinar se animais anteriormente submetidos a RS e injeções diárias de PGE₂ apresentam diminuição da resposta nociceptiva (alodinia térmica) no modelo de dor neuropática trigeminal induzida por constrição no nervo infraorbital.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 SONO

Definido como um estado comportamental de irresponsividade ao ambiente externo e desengajamento perceptivo, o sono é uma mistura complexa de processos comportamentais e fisiológicos (CARSKADON e DEMENT, 2011). Apesar de já ter sido estudado de forma extensa, ainda não há uma resposta definitiva para a sua função, mesmo que avanços tenham sido realizados no estudo de hipóteses (CARSKADON e DEMENT, 2011; FRANK e HELLER, 2019). Dentre as hipóteses, podemos citar sua função no processo de aprendizagem e consolidação da memória (STICKGOLD et al., 2005; RASCH e BORN, 2013), conservação de energia no cérebro pelo glicogênio (KONG et al., 2002), plasticidade sináptica, aumento da síntese de proteínas, peptídeos ou lipídeos importantes para o funcionamento do organismo acordado (FRANK e HELLER, 2019) e eliminação de metabólitos acumulados pelo sistema glnfático (XIE et al., 2013). Além disso, o sono também participa na homeostasia do sistema endócrino e imune pela sua influência no ciclo circadiano, sendo este responsável, junto da duração da vigília prévia, pelo tempo, duração e profundidade do sono (BORBELY, 1982).

A qualidade de sono é dependente de diversos fatores, entre eles, podemos citar a dieta, a realização de atividade física e o uso de estimulantes. Em relação à dieta, a ingestão de proteínas em quantidades muito grandes ou muito pequenas pode dificultar a manutenção do sono (ST-ONGE et al., 2016; BINKS et al., 2020), além disso, a compensação na deficiência de vitaminas e minerais, como as vitaminas B e o zinco, resultam na melhora da qualidade e frequência de sono (O'CALLAGHAN et al., 2018). Por sua vez, a realização de atividades físicas moderadas a intensas também são benéficas para a qualidade (MURRAY et al., 2017) de modo que indivíduos que praticam alguma atividade física tem períodos de sono melhores e mais longos (TSUNODA et al., 2015). Finalmente, o uso de estimulantes como o álcool são considerados ótimos para dormir, porém, seu uso prolongado também é prejudicial. Usuários de álcool tendem a ser mais sonolentos durante o dia (DRUMMOND et al., 1998), podem desenvolver refluxo gastroesofágico, gastrite, a necessidade de urinar mais vezes durante a noite e

sede, levando a interrupção mais frequente do sono (DRUMMOND et al., 1998). Outro estimulante muito consumido é a cafeína e, apesar de possuir o efeito de diminuir o cansaço, seu consumo exagerado pode causar sonolência diurna, diminuição no tempo de sono e aumento na quantidade de cochilos (LANDOLT et al., 1995). Visto a tendência crescente da população em dormir por menos de 6h por noite, o consumo de bebidas e alimentos contendo cafeína também aumentou (O'CALLAGHAN et al., 2018; SHILO et al., 2002), exacerbando seus malefícios.

Esta diminuição na quantidade de sono pode ser explicada pelas crescentes motivações para se manter acordado, levando a um aumento de distúrbios principalmente entre jovens em idade escolar (OWENS et al., 2014) e trabalhadores de turnos noturnos ou rotativos (KECKLUND e AXERLSSON, 2016). De fato, um estudo realizado no Brasil pelo Instituto do Sono (EPISONO) demonstrou que cerca de 76% da população possui pelo menos uma reclamação sobre seu sono, sendo assim, aproximadamente 108 milhões de pessoas sofrem com algum tipo de distúrbio.

A insuficiência do sono causada por essa restrição crônica tem se tornado um problema de saúde e socioeconômico mundial. Estimativas indicam que, só nos Estados Unidos, há uma perda de até 411 bilhões de dólares anualmente por problemas relacionados ao sono (HAFNER et al., 2017) como a diminuição da performance individual, perda de produtividade e aumento dos gastos pelo sistema de saúde (ANDERSEN e TUFIK, 2015). Os distúrbios de sono são variados e podem incluir a insônia, a apneia do sono, a narcolepsia, a síndrome das pernas inquietas e entre outros (BROWN et al., 2012), sendo a insônia o distúrbio mais frequente com cerca de 50% dos adultos relatando insônia ocasional e de 10 a 15% possuindo insônia crônica por pelo menos um mês de acordo com dados do Reino Unido (MORPHY et al., 2007).

Dessa forma, visto a importância do sono para o funcionamento normal do organismo, já é possível imaginar os prejuízos causados pela sua insuficiência. Sonolência diurna, falta de energia, comprometimento cognitivo (BROWN et al., 2012; MCCOY e STRECKER, 2011) e aumento de acidentes são algumas de suas consequências. Além disso, a sua insuficiência pode estar associada ao aumento do risco de desenvolver outras doenças como ansiedade, depressão (NECKELMANN

et al., 2007), demência (SHI et al., 2017; JEE et al., 2020), doenças cardiovasculares (ALTMAN et al., 2012) e diabetes tipo 2 (LARCHER et al., 2015).

2.2 DOR

A dor é definida pela Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP) como uma experiência sensitiva e emocional desagradável a qual está associada, ou semelhante àquela associada, a uma lesão tecidual real ou potencial. Além disso, é sempre uma experiência pessoal e subjetiva, sendo influenciada por fatores sociais, psicológicos e biológicos (RAJA et al., 2020). Apesar de ser uma sensação desagradável, a dor é importantíssima para a sobrevivência, de modo que demarca as limitações do organismo e participa no processo de aprendizagem, mantendo os animais longe de situações que levem a sensações dolorosas e, assim, evita que danos sejam causados ao corpo (LENT et al., 2010).

Semelhante a outras modalidades sensoriais, a dor possui vias específicas (NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, 1985), incluindo receptores nociceptivos e fibras nervosas específicas que transmitem o sinal gerado por estímulos até o sistema nervoso central (NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, 1985). O estímulo nociceptivo é captado pelas fibras A δ (fibras de dor rápida) e C (fibras de dor lenta) que transmitem seu sinal por meio de sinapses, normalmente glutamatérgicas, para um neurônio secundário localizado no corno dorsal da medula espinhal (LENT et al., 2010). A partir desse ponto, os axônios destes neurônios cruzam para o lado oposto da medula e ascendem pelos feixes espinotalâmicos localizados na coluna anterolateral, atingindo os núcleos posterior e ventral posterior do tálamo, onde estão os neurônios de terceira ordem que, finalmente, transmitem o sinal para as áreas S1 e S2 no córtex (LENT et al., 2010).

Diversos são os mecanismos envolvidos na modulação da dor, podendo levar a sua sensibilização ou a sua atenuação. A sensibilização pode ser chamada de alodinia, quando a dor é causada por um estímulo que antes era inócua, ou de hiperalgesia, quando a intensidade de um estímulo que já causa dor aumenta (JENSEN e FINNERUP, 2014). Os mecanismos de modulação podem ser divididos entre centrais e periféricos, sendo que um dos exemplos de mecanismos centrais mais conhecido é o sistema da substância cinzenta periaquedutal e do núcleo

ventromedial da medula espinhal (PAG-RVM). A PAG recebe aferências de vários locais, incluindo da amígdala (HELMSTETTER et al., 1998; GAURIAU e BERNARD, 2002) e do córtex cingulado anterior (ACC) (PETROVIC et al., 2002; EIPPERT et al., 2009), agindo na modulação descendente da dor por meio de suas conexões com a RVM e as conexões desta com os neurônios no corno dorsal da medula, podendo facilitar ou inibir o sinal nociceptivo (LOYD e MURPHY, 2009; LEI et al., 2014). Para realizar seu efeito antinociceptivo, a PAG utilizasse de vias opiodérgicas que, entre outros, atuam em sinapses nociceptivas, hiperpolarizando os neurônios pós-sinápticos e impedindo a liberação de neurotransmissores excitatórios pelos neurônios pré-sinápticos no corno dorsal da medula (LENT et al., 2010). Além disso, é reconhecido que a morfina possui seu efeito analgésico ao atuar no PAG-RVM (LANE et al., 2005), e que o sistema dopaminérgico também está envolvido nesta via ao agir em receptores de dopamina do tipo D1 e D2 na PAG, induzindo um efeito antinociceptivo (TOBALDINI et al., 2017).

Periféricamente, reações inflamatórias causadas por lesões teciduais resultam na sensibilização do local pela ação das substâncias liberadas neste cenário. Por exemplo, as células que foram danificadas liberam bradicinina, uma molécula algogênica, e prostaglandinas, moléculas que geram hiperalgesia ao aproximar terminações nervosas ao seu limiar de excitabilidade (LENT 2010; ZEILHOFER, 2005). Ademais, mastócitos presentes na região também produzem e secretam substâncias algogênicas como a serotonina e a histamina as quais tem seu efeito amplificado pela hiperalgesia local (LENT, 2010).

2.3 CRONIFICAÇÃO DA DOR

Definida clinicamente como uma dor que perdura por mais de três meses associada a incapacidade funcional e/ou sofrimento emocional pela Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP) (NICHOLAS et al., 2019), a dor crônica, apesar de não ser uma doença ou sintoma de alta mortalidade, é uma das principais fontes de sofrimento humano (GOLDBERG; MCGEE, 2011), impactando a vida do paciente em diversos sentidos como em suas atividades diárias, situação profissional e, inclusive, no sono (SMITH et al., 2001; HAGEN et al., 2006). Ao contrário da dor aguda, a dor crônica não possui função fisiológica, deixando de ser

uma necessidade para a sobrevivência e se tornando um fardo a ser tratado (CLAUW et al., 2019).

As condições de dor crônica podem ser resumidas em quatro estágios, os quais podem ser aplicados para qualquer tipo de dor crônica, sendo eles: a presença de fatores de riscos predisponentes (1), associada a uma lesão (2), geram um processo de transição (3) que resulta em um estado estável de dor crônica (4) (BALIKI e APKARIAN, 2015). Essa transição envolve mudanças na plasticidade neuronal e funcional em diversas partes do cérebro, afetando regiões como o neocórtex (APKARIAN et al., 2005), o sistema límbico (amígdala e hipocampo) (APKARIAN e RECKZIEGEL, 2019; MITSI e ZACHARIOU, 2016), o núcleo accumbens (NAc), a área tegmental ventral (VTA) e o córtex pré-frontal (MITSI e ZACHARIOU, 2016), as quais estão envolvidas no processamento e modulação de funções como o afeto, emoção, humor, expectativa, motivação e na lembrança de experiências passadas (MITSI e ZACHARIOU, 2016; BALIKI e APKARIAN, 2015). De fato, muitos pacientes com dor crônica também apresentam outras comorbidades como distúrbios emocionais (p. ex. ansiedade e depressão) e déficits cognitivos (p. ex. comprometimento da memória) que comumente estão envolvidos com mudanças nessas regiões (MITSI e ZACHARIOU, 2016).

O sistema mesolímbico também possui um papel importante na dor crônica, tanto em componentes emocionais da dor (MASSALY et al., 2019; LIU et al., 2019), como em sensoriais (VERGARA et al., 2020). Foi evidenciado que durante o processo de transição da dor aguda para dor crônica, os níveis de dopamina no sistema mesolímbico são reduzidos progressivamente, se mantendo baixos após o estabelecimento da dor crônica. Além disso, a ativação do sistema kappa opioide é um mecanismo importante associado à hipofunção dopaminérgica mesolímbica (MARGOLIS e KARKHANIS, 2019) e evidências demonstram que um aumento na ativação deste sistema está relacionado com a dor crônica (LIU et al., 2019; MASSALY et al., 2019). De fato, a destruição da VTA, assim como o bloqueio do sistema mesolímbico kappa opioide por um antagonista, impede a transição da dor aguda para crônica (Gráfico 4) e, de forma contrária, o uso de um agonista kappa opioide facilita a transição (Gráfico 5) (VERGARA et al., 2020). Em ambos os casos, os tratamentos realizados não afetam a dor aguda nem a manutenção da dor crônica uma vez que já esteja estabelecida, sugerindo que, apesar do sistema

mesolímbico e kappa opioide conduzirem o processo de cronificação, eles não participam da sua manutenção (VERGARA et al., 2020). Portanto, os dados demonstram que o processo de transição da dor aguda para crônica depende, inicialmente, da atividade dopaminérgica mesolímbica. No entanto, conforme a dor se cronifica, a atividade dopaminérgica diminui progressivamente até o estabelecimento da dor crônica, quando ela se mantém baixa (VERGARA et al., 2020).

Apesar de ser um problema de saúde mundial, o tratamento da dor crônica atualmente não se mostra efetivo na medida que os fármacos que são normalmente utilizados, como anti-inflamatórios não esteroidais (AINES), acetaminofeno (paracetamol) e opióides, não apresentam bons resultados no alívio da dor ao serem usados por longos períodos de tempo, além de gerarem diversos efeitos colaterais (KREBS et al., 2018). No caso dos opióides, por exemplo, o uso crônico pode levar ao desenvolvimento de dependência ou adição (JENSEN e FINNERUP, 2007). Visto essa dificuldade, todo ano são grandes os gastos associados a dor crônica. Apenas nos Estados Unidos em 2010, estima-se que os gastos com tratamento e perda de produtividade foram de 560 a 635 bilhões de dólares (GASKIN; RICHARD, 2012), reforçando seu impacto socioeconômico e a importância no aprofundamento do conhecimento sobre o tema.

2.4 RELAÇÃO ENTRE DOR E SONO

A dor crônica e os distúrbios relacionados ao sono são problemas de saúde pública mundiais (ARTNER et al., 2013; KIM et al., 2015) e já é bem descrito na literatura sua relação bidirecional de modo que a carência de sono contribui para o desenvolvimento e aumento (TOMIM et al., 2015; HUANG et al., 2014) de dores persistentes e dores persistentes reduzem a qualidade (KARAMAN et al., 2014) e o tempo (HERRERO BABILLONI et al., 2019) de sono. Estudos clínicos mostraram que 88% dos pacientes com dor crônica apresentam distúrbios de sono e que pelo menos 50% dos pacientes com problemas no sono apresentam dor crônica (MORIN et al., 2006; CHEATLE et al., 2016), além disso, dados sugerem que a privação de sono, assim como ansiedade e depressão, é um dos fatores responsáveis por reduzir a eficácia de analgésicos e prevenir que a recuperação da dor seja bem-

sucedida (LEGRAIN et al., 2011; BALIKI e APKARIAN,2015). De forma consistente, estudos anteriores do laboratório demonstraram que a privação de sono diminui o limiar nociceptivo em modelos animais de ratos (SARDI et al.,2018a; SARDI et al., 2018b).

A relação entre dor e sono já é bem estabelecida, porém os mecanismos envolvidos entre os dois ainda não é totalmente conhecido. Várias áreas que participam na modulação da dor apresentam alterações em estado de restrição de sono como o NAc, o córtex cingulado anterior (ACC) e a PAG (SEMINOWICZ et al., 2019; TOMIM et al., 2015; SARDI et al., 2018b). De fato, um estudo demonstrou evidências de que o efeito pró-nociceptivo observado na restrição do sono está associado ao aumento da inibição GABAérgica da PAG e, assim, das vias descendentes inibitórias da dor, ao mesmo tempo que aumenta a ativação de vias descendentes facilitatórias da dor pela ação dos receptores CCK 2 na RVM (TOMIM et al., 2015). Além disso, há evidências de que o NAc medeia o efeito pró-nociceptivo pelo aumento da ação adenosinérgica nos receptores A2A do NAc e diminuição da atividade em seus receptores D2 decorrido da restrição do sono (SARDI et al., 2018b). Outros sistemas, como o serotoninérgico e noroadrenérgico, também possuem funções na modulação da dor e do sono, porém, ainda não é esclarecido se as alterações causadas pela restrição de sono nesses sistemas estão relacionadas com o efeito hiperalgésico observado nesta condição (HAACK et al., 2020).

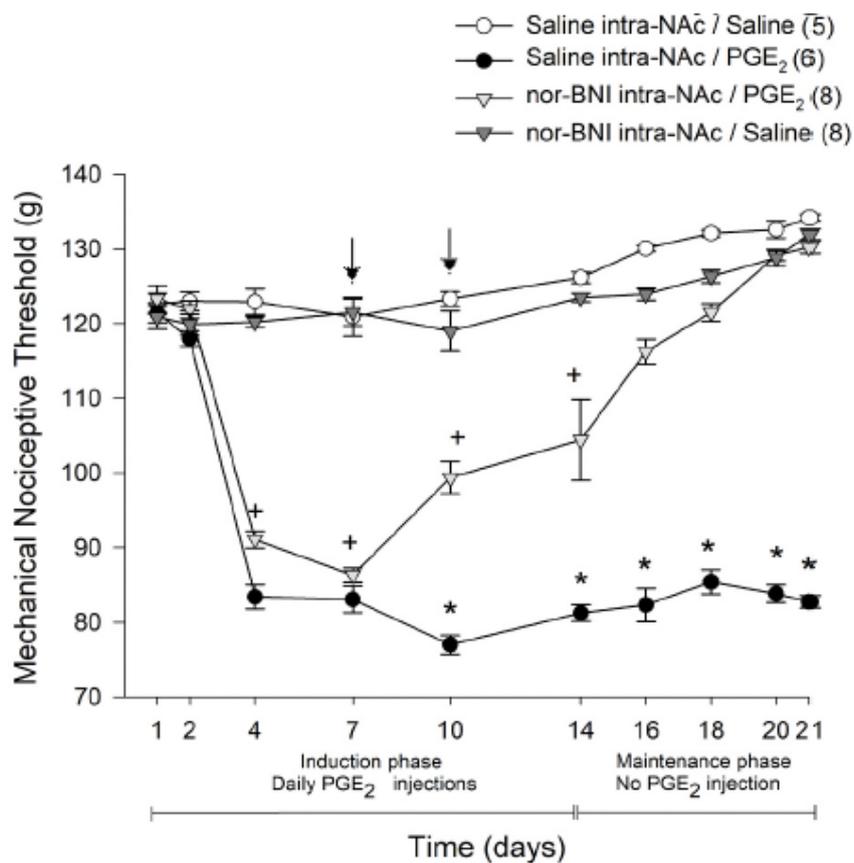


Gráfico 4 – Efeito do bloqueio tardio de receptores kappa opioides no NAc na transição da hiperalgesia aguda para crônica. A micro injeção de nor-BNI (Dicloridrato de norbinaltorfimina), um antagonista kappa opioide de longa ação, no NAc nos dias 7 e 10 da fase de indução (indicado pelas flechas) impediu o desenvolvimento da hiperalgesia crônica. Os símbolos “*” e “+” indicam um limiar mecânico nociceptivo significativamente diferente de todos os outros grupos em um mesmo dia (ANOVA de medidas repetidas, seguida pelo teste de Tukey, $p < 0,0001$) (VERGARA et al., 2020).

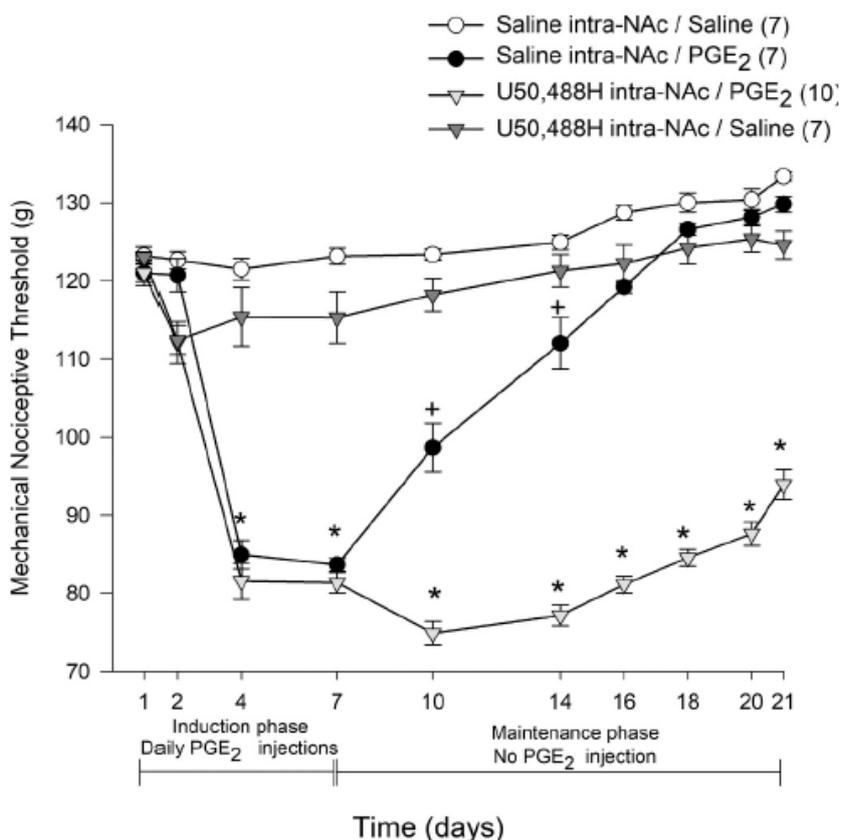


Gráfico 5 – Efeito da ativação de receptores kappa opioides na transição da hiperalgesia aguda para crônica. Apenas 7 injeções diárias de PGE₂ resultaram no estado crônica de hiperalgesia em animais que receberam 7 micro injeções diárias de U50,488 (do inglês, *trans-(1S,2S)-U-50488 hydrochloride hydrate*), um agonista do receptor kappa opioide, no NAc. Em contraste, o limiar nociceptivo de animais que receberam micro injeções de salina retornaram rapidamente aos valores basais. Os símbolos “*” e “+” indicam um limiar nociceptivo mecânico significativamente diferente de todos os outros grupos (ANOVA de medidas repetidas, seguida pelo teste de Tukey, $p < 0,0001$) (VERGARA et al., 2020).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS

Para a realização dos experimentos, foram utilizados ratos Wistar machos, pesando entre 270 g e 300 g, mantidos em gaiola plástica contendo maravalha, em ciclo 12h/12h claro e escuro, com temperatura ambiente de $22^{\circ}\text{C} \pm 2$ e providos de água e comida *ad libitum*. Os procedimentos experimentais conduzidos para obtenção dos resultados apresentados na introdução foram aprovados pelo comitê de ética em pesquisa animal da Universidade Federal do Paraná (CEUA 1279). Os procedimentos experimentais propostos no delineamento deste projeto foram previamente aprovados pelo mesmo comitê. Todos os procedimentos seguiram as diretrizes propostas pelo comitê da IASP para pesquisa em animais conscientes (ZIMMERMANN, 1983). Foi utilizado o mínimo de animais, apenas o necessário para permitir as análises estatísticas (aproximadamente 8 por grupo).

3.2 RESTRIÇÃO DO SONO

A restrição de sono parcial foi realizada a partir do método *Gentle Handling* enriquecido (ALEXANDRE et al., 2017; SARDI et al., 2018a) que consiste em utilizar estímulos gentis e colocar objetos novos na gaiola para manter os animais acordados. Estímulos como: tocar os animais com um pincel de cerdas macias e mover, gentilmente, a caixa de experimentação em movimentos de gangorra, foram utilizados. Durante a restrição de sono, de seis horas diárias (das 7h às 13h) e por um período a depender do desenho experimental, os animais foram mantidos em comunidade em suas gaiolas habituais com água e comida *ad libitum*. Os grupos controle foram mantidos exatamente nas mesmas condições e ambiente, mas livre para dormir.

3.3 MODELO EXPERIMENTAL DE DOR

Todos os testes comportamentais foram conduzidos durante a fase clara, em ambiente controlado. Os animais foram previamente habituados ao experimentador, ao ambiente e aos aparatos de teste.

3.3.1 Hiperalgisia inflamatória crônica

Neste modelo de dor crônica, 14 injeções subcutâneas diárias de PGE₂ na pata traseira do rato induzem uma diminuição crônica no limiar nociceptivo mecânico, definido como hiperalgisia, que persiste por pelo menos 30 dias após a descontinuação das injeções (FERREIRA et al., 1990). Existem duas fases bem definidas neste modelo: a fase de indução e a fase de manutenção.

A fase de indução é definida como o período de 14 dias de injeções diárias de PGE₂, durante o qual a PGE₂ (100 ng/ 30 µL por pata) é injetada na superfície dorsal da pata traseira do rato, sempre após a aferição do limiar nociceptivo mecânico. A fase de manutenção é definida como o período de longa duração após a suspensão das injeções de PGE₂, durante o qual o limiar nociceptivo mecânico permanece baixo, mesmo na ausência de intervenções adicionais. Manipulações experimentais que dificultam a cronificação da dor impedem a manutenção da hiperalgisia crônica após a descontinuação das injeções de PGE₂. Complementarmente, manipulações experimentais que facilitam a cronificação da dor levam a um estado hiperalgésico crônico após apenas 7 injeções diárias de PGE₂ (DIAS et al., 2015; VERGARA et al., 2020).

Baseado nisso, um experimento foi realizado em nosso laboratório associando 14 dias de RS à 7 injeções diárias de PGE₂, resultando no efeito protetor (PESCADOR, 2019). Este mesmo tratamento foi utilizado no desenho experimental do estudo.

A hiperalgisia induzida pela PGE₂ foi quantificada pelo teste de retirada da pata (RANDALL; SELITTO, 1957), que avalia o limiar nociceptivo mecânico. Neste teste, um anagesímetro mecânico (Insight, Brasil) aplica uma força de incremento gradual na face dorsal da pata do animal, até que este retire a pata. Quando a pata é retirada, o valor da força, em gramas, é registrado. Foram realizadas duas a três

medidas e a partir da média desses valores foi definido o valor quantitativo do limiar nociceptivo mecânico.

3.3.2 Dor e hiperalgesia induzida por capsaicina

A injeção subcutânea de capsaicina (1,6 µg / 20 µL) já foi usada como modelo animal de dor (SANTOS et al., 1997). A substância foi primeiramente dissolvida em Tween 80 (50%) e etanol (50%) até a concentração de 50 µg/µL e depois dissolvida em salina 0,9% até a concentração desejada (TOBALDINI et al., 2019). A capsaicina é um agonista do receptor TRPV1 (FRIAS e MERIGHI, 2016) e é caracterizada por induzir comportamentos nociceptivos de lambe e levantar a pata injetada por aproximadamente 5 minutos (SANTOS et al., 1997), além de resultar em hiperalgesia. O teste desafio foi realizado um dia após os animais terem retornado ao seu limiar nociceptivo basal. No dia do teste, os animais foram colocados em uma caixa de experimentação (30 x 30 x 30 cm), com base e laterais espelhadas e frente de vidro. Nela, os animais receberam a injeção de capsaicina e a quantificação do comportamento nociceptivo foi realizada por 5 min, divididos em blocos de 1 min. O número de comportamentos foi utilizada como medida de nocicepção (SANTOS et al., 1997). A hiperalgesia induzida por capsaicina foi quantificada pelo teste de retirada da pata (RANDALL e SELITTO, 1957) descrito acima, 30 min, 1h, 2h e 3h após a injeção.

3.3.3 Neuropatia trigeminal induzida por constrição do nervo infraorbital

A constrição do nervo infraorbital (CION) é amplamente utilizado como modelo de neuropatia trigeminal (CHICHORRO et al., 2006). Sob anestesia induzida por xilazina (10 mg/kg i.p.) e ketamina (10 mg/kg i.p.) foi realizada uma incisão abaixo do olho direito, aproximadamente 3 mm caudal ao conjunto de vibrissas. Após a dissecação dos músculos elevador do lábio superior e masseter, o nervo infraorbital é exposto. Foram realizadas, ao redor do nervo, duas ligaduras frouxas com fio de seda 4,0 separadas a uma distância de 2 mm. Em seguida, o local foi suturado com fio de seda 4,0. Animais controle foram submetidos ao mesmo procedimento, sem a realização da ligadura em volta do nervo.

Para avaliar o limiar nociceptivo térmico da face, uma fonte de calor foi apresentada a 1 cm da superfície facial e a latência de resposta de retirada foi quantificada (GAMBETA et al., 2018).

3.4 ANÁLISE DE DADOS

Os dados obtidos foram analisados e comparados por ANOVA de 1, 2 ou 3 vias com medidas repetidas seguidos pelo teste de Tukey. O nível de significância utilizado foi igual ou menor que 0,05. Os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão da média. A montagem dos gráficos e os cálculos estatísticos foram realizados pelo programa Sigma Plot.

3.5 DESENHO EXPERIMENTAL

Todos os animais incluídos nesse estudo foram submetidos a 14 dias de restrição parcial de sono (ou procedimento controle) associado a 7 injeções diárias de PGE₂ (ou salina). Após esse período inicial, os animais permaneceram sem qualquer manipulação até que o limiar nociceptivo mecânico tenha retornado ao valor basal. Quando esse retorno ocorreu em cada grupo, foram iniciados os experimentos para determinar **se o efeito protetor é observado no modelo de nocicepção e hiperalgesia induzidas por capsaicina e no modelo de dor neuropática induzido pela constrição do nervo infraorbital (CION).**

a. Determinar se o efeito protetor é observado no modelo animal de dor e hiperalgesia induzida por capsaicina

Este experimento foi realizado com os seguintes grupos: RS + PGE₂ (100 ng / 30 μ L), RS + NaCl (0,9% / 30 μ L), procedimento controle (CP) + PGE₂ (100 ng / 30 μ L) e CP + NaCl (0,9% / 30 μ L). No dia seguinte ao retorno do limiar nociceptivo basal, foi realizado o desafio, sendo assim, os grupos receberam injeções de capsaicina (1,6 μ g / 20 μ L) e seu comportamento nociceptivo e a hiperalgesia induzida foram quantificados.

b. Determinar se o efeito protetor é observado no modelo animal de dor neuropática induzida pela CION

Este experimento foi realizado com seguintes grupos: RS + PGE₂ (100 ng / 30 µL) + CION, RS + NaCl (0,9% / 30 µL) + CION, CP + PGE₂ + CION, CP + NaCl + CION, RS + PGE₂ + SHAM e CP + NaCl + SHAM. No 18º dia (4º dia de rebote), a cirurgia de CION ou SHAM foi realizada. No 2º e 5º dia pós-cirurgia, foi realizado o desafio onde a sensibilidade térmica dos grupos foi medida.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 O EFEITO PROTETOR PARADOXAL DA RS ASSOCIADA COM ESTIMULAÇÃO NOCICEPTIVA NO DESENVOLVIMENTO SUBSEQUENTE DA DOR FOI OBSERVADO NO MODELO ANIMAL DE HIPERALGESIA INDUZIDA POR CAPSAICINA

4.1.1 Progressão do efeito pró-nociceptivo da associação entre RS e PGE₂

A RS e as injeções de PGE₂, isoladamente ou associadas diminuíram progressivamente o limiar nociceptivo. Quando esse tratamento foi interrompido, o limiar nociceptivo retornou lentamente ao basal em um período de até 10 dias (Gráfico 6, ANOVA de medidas repetidas seguida pelo teste de Tukey, $F_{\text{condição de sono}} (1,1) = 718,651, p < 0,0001$; $F_{\text{injeção na pata}} (1,1) = 141,622, p < 0,0001$; $F_{\text{tempo}} (1,14) = 270,098, p < 0,0001$; $F_{\text{condição de sono} \times \text{injeção na pata}} (1,1) = 36,598, p < 0,0001$; $F_{\text{tempo} \times \text{condição de sono}} (1,14) = 113,449, p < 0,0001$; $F_{\text{tempo} \times \text{injeção na pata}} (1,12) = 83,831, p < 0,0001$; $F_{\text{condição de sono} \times \text{injeção na pata} \times \text{tempo}} (1,10) = 48,978, p < 0,001$). Portanto, assim como observado nos resultados previamente obtidos pelo laboratório, a RS não facilitou a transição da dor aguda para a crônica.

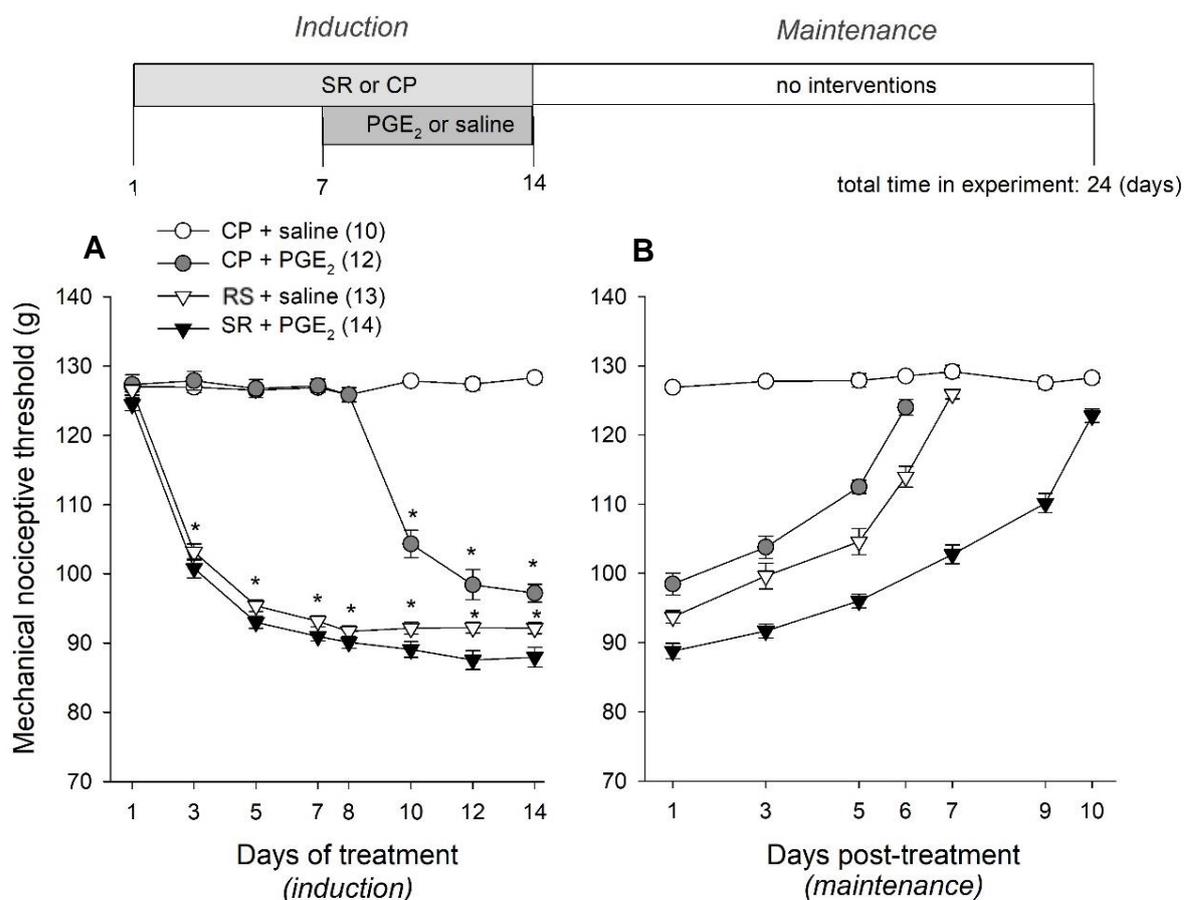


Gráfico 6 – Efeito da associação entre RS por 14 dias e injeções diárias de PGE₂ nos 7 dias finais nos grupos desafiados com capsaicina. As injeções de PGE₂ ou de salina foram realizadas sempre no começo da RS e depois da aferição do limiar nociceptivo. O símbolo “*” indica redução significativa do limiar nociceptivo em comparação ao grupo controle (NaCl) (ANOVA de duas vias de medidas repetidas, seguida pelo teste de Tukey, $p < 0,05$).

O sistema dopaminérgico mesolímbico medeia o efeito pró-nociceptivo da restrição do sono e a transição da dor aguda para a crônica (DIAS et al., 2015; SARDI et al., 2018a; SARDI et al., 2018b; VERGARA et al., 2020), mas dados de nosso laboratório, suportados por outros da literatura, indicam que mudanças neuroplásticas opostas podem estar em curso durante a RS e a transição da dor aguda para crônica. Embora exista alguma discrepância na literatura, dados sugerem que a privação de sono leva à hipofunção dopaminérgica no estriado ventral por meio da diminuição da expressão de receptores D2 nos neurônios do

núcleo accumbens (NAc) (VOLKOW et al., 2012). Isso ocorre, possivelmente, pela internalização dos receptores D2 de dopamina sinalizada pela ativação de receptores A2A de adenosina, molécula em concentrações elevadas em situações de restrição de sono (HUANG et al., 2013). De fato, um estudo de nosso laboratório demonstrou que o efeito pró-nociceptivo da privação de sono depende do aumento da atividade dos receptores A2A e diminuição da atividade dos receptores D2 no NAc (SARDI et al., 2018b). Já o processo de cronificação da dor, recruta a atividade dopaminérgica mesolímbica. Dados de nosso laboratório mostraram que a transição da dor aguda para a crônica depende do aumento da atividade dopaminérgica mesolímbica, mas uma vez estabelecida a dor crônica, sua manutenção independe dessa atividade (VERGARA et al., 2020). De fato, a dor crônica é caracterizada por hipofunção do sistema dopaminérgico mesolímbico (MARTIKAINEN et al., 2015; WOOD et al., 2007). Dessa forma, enquanto a transição da dor aguda para a crônica requer atividade dopaminérgica mesolímbica (VERGARA et al., 2020), a RS parece reduzi-la. Esse possível estado dopaminérgico antagônico poderia ajudar a explicar a razão pela qual o processo de cronificação da dor não foi facilitado pela RS.

4.1.2 Efeito da injeção de capsaicina após o retorno ao limiar nociceptivo basal

Até então, o efeito protetor observado pela combinação da RS e estimulação nociceptiva tinha sido demonstrado na hiperalgesia aguda e crônica induzida por PGE₂ (Gráfico 3). Para determinar se este efeito se estende além da resposta nociceptiva induzida por PGE₂, testamos sua expressão em outros dois modelos animais de dor.

A capsaicina é um agonista do receptor TRPV1 (do inglês, *transient receptor potential vanilloid 1*). Quando injetada em tecido subcutâneo, ela induz nocicepção espontânea por um curto período seguido de hiperalgesia. Após o retorno ao limiar nociceptivo basal, os animais previamente submetidos a 14 dias de RS associados a 7 dias de injeções diárias de PGE₂ receberam uma injeção subcutânea de capsaicina (1,6 µg). Esses animais desenvolveram nocicepção espontânea similar aos grupos controle, sob a forma de *flinches* de pata (levantamento rápido da pata que recebeu a injeção) (Gráfico 7 – A, ANOVA seguida pelo teste de Tukey, F_{condição de sono} (1,33) = 3,29, p = 0,07; F_{injeção na pata} (1,33) = 0,17, p = 0,67; F_{condição de sono x}

injeção na pata (1,33) = 1,34, $p = 0,25$), mas não desenvolveram hiperalgesia em resposta à capsaicina, em contraste com animais controle e com aqueles submetidos apenas a RS ou as injeções de PGE₂ (Gráfico 7 – B, ANOVA de medidas repetidas seguida pelo teste de Tukey, $F_{\text{condição de sono}} (1,1) = 18,51$, $p = 0,0001$; $F_{\text{injeção na pata}} (1,1) = 10,79$, $p = 0,002$; $F_{\text{tempo}} (1,4) = 135,54$, $p < 0,0001$; $F_{\text{condição de sono} \times \text{injeção na pata}} (1,1) = 135,54$, $p < 0,0001$; $F_{\text{injeção na pata} \times \text{tempo}} (1,4) = 19,28$, $p = 0,0001$; $F_{\text{condição de sono} \times \text{tempo}} (1,4) = 17,37$, $p < 0,0001$; $F_{\text{condição de sono} \times \text{injeção na pata} \times \text{tempo}} = 13,15$, $p < 0,0001$). Este achado sugere que um histórico prévio de restrição de sono de longo prazo associada à estimulação nociceptiva não afeta a nocicepção espontânea induzida por capsaicina, porém, pode proteger contra um subsequente desenvolvimento de hiperalgesia induzida por capsaicina.

Os mecanismos de sensibilização nociceptiva resultantes em hiperalgesia e alodinia variam amplamente. Apesar da hiperalgesia induzida por PGE₂ e capsaicina agirem por diferentes mecanismos (FERREIRA et al., 1993; MOTTA et al., 2009; SCHWARTZ et al., 2008), os dois recrutam mecanismos inflamatórios para induzir hiperalgesia. Assim, foi indagado se o efeito protetor também pode ser observado na sensibilização induzida por dano neuropático.

Portanto, a constrição do nervo infraorbital (CION) do modelo de dor neuropática trigeminal foi escolhido já que também induz a sensibilização da região orofacial, uma região ainda não testada.

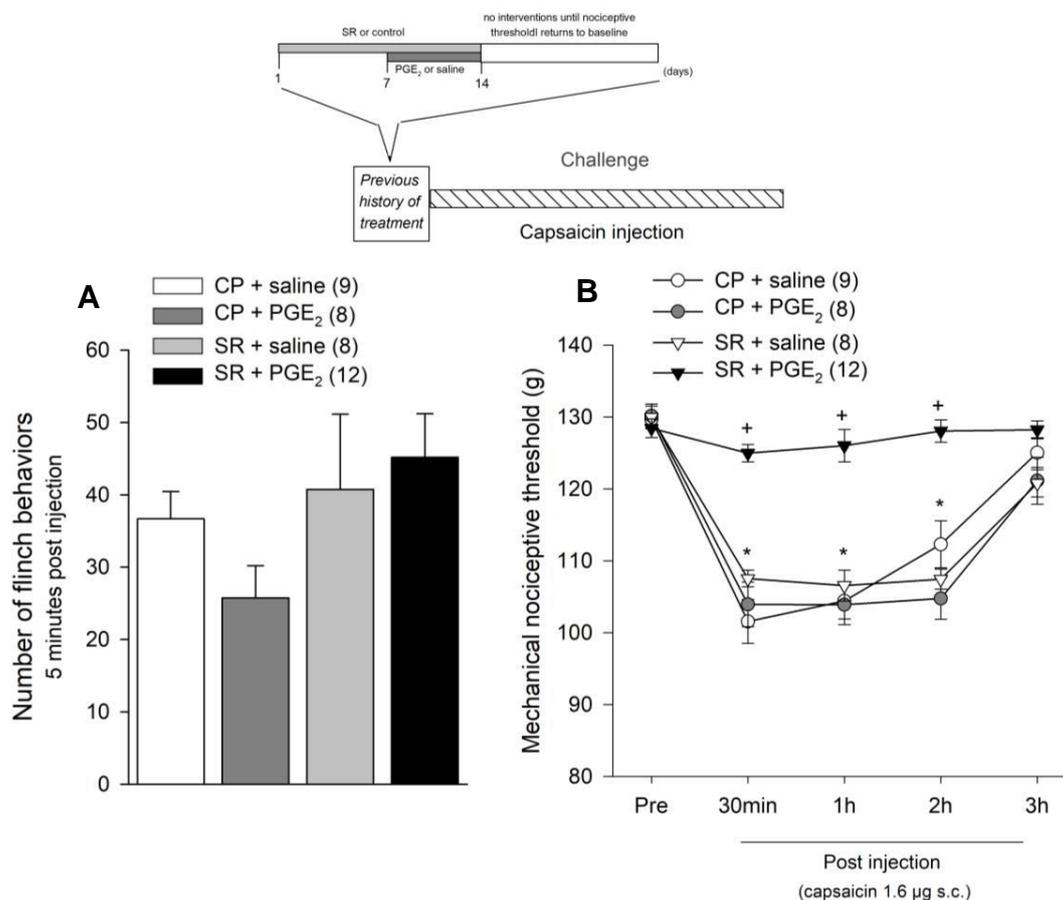


Gráfico 7 – Efeito da associação entre RS e estimulação nociceptiva persistente sobre o desenvolvimento subsequente de nocicepção e hiperalgesia induzidas por capsaicina. Após o retorno do limiar basal, o limiar nociceptivo foi mensurado primeiramente (pré-injeção) e, em seguida, os animais foram injetados na pata esquerda com capsaicina (1,6 µg/ 20 µL). Após a injeção, medidas do limiar nociceptivo foram realizadas 30min, 1h, 2h e 3h depois. É possível observar que o efeito protetor foi constatado nesse modelo animal visto a diferença entre o grupo submetido a RS associado a injeções de PGE₂ e os outros (B). Em contrapartida, não houve diferenças significativas na contagem de “flinches” total (A). O símbolo “*” indica que o limiar nociceptivo está significativamente menor quando comparado ao grupo “RS + PGE₂” (ANOVA de duas vias de medidas repetidas, seguida pelo teste de Tukey, $p < 0,05$).

4.2 O EFEITO PROTETOR PARADOXAL DA RS ASSOCIADA COM ESTIMULAÇÃO NOCICEPTIVA NO DESENVOLVIMENTO SUBSEQUENTE DA DOR FOI OBSERVADO NO MODELO ANIMAL DE HIPERALGESIA INDUZIDA PELA CONSTRIÇÃO DO NERVO INFRAORBITAL

4.2.1 Progressão do efeito pró-nociceptivo da associação entre RS e PGE₂

Assim como o resultado da capsaicina e resultados anteriores do laboratório (PESCADOR, 2019), a RS diminuiu progressivamente o limiar nociceptivo junto das injeções de PGE₂ e, quando esse tratamento foi interrompido, o limiar nociceptivo retornou lentamente ao basal em um período de até 10 dias. Dessa forma, estando de acordo com os dados previamente obtidos (Gráficos 2 e 6).

4.2.2 Efeito da CION na sensibilidade térmica facial

A constrição crônica do nervo infraorbital (CION) vem sendo amplamente usado como um modelo de dor neuropática trigeminal. Animais submetidos a 14 dias de RS associados com 7 dias de injeções diárias de PGE₂ na pata traseira (e seus controles) foram testados utilizando a latência de resposta de retirada térmica orofacial antes do experimento e no dia 14; a CION foi realizada no dia 18 e o desenvolvimento de alodinia neuropática térmica foi avaliada 2 e 5 dias depois.

A latência de retirada térmica na região orofacial diminuiu significativamente por conta da RS, mostrando pela primeira vez que a diminuição na quantidade de sono aumenta a sensibilidade térmica na região orofacial. Ao contrário, apenas as injeções diárias de PGE₂ na pata traseira não diminuíram a latência de retirada (Gráfico 8, ANOVA de duas vias de medidas repetidas, $F_{\text{condição de sono}}(1,35) = 18,05$, $p > 0,001$; $F_{\text{injeção na pata}}(1,35) = 0,21$, $p = 0,64$; $F_{\text{tempo}}(1,35) = 112,09$, $p < 0,0001$; $F_{\text{condição de sono} \times \text{injeção na pata}}(1,35) = 0,21$, $p = 0,65$; $F_{\text{condição de sono} \times \text{tempo}}(1,35) = 43,75$, $p < 0,0001$; $F_{\text{injeção na pata} \times \text{tempo}}(1,35) = 0,06$, $\eta^2 = 0,81$; $F_{\text{condição de sono} \times \text{injeção na pata} \times \text{tempo}}(1,35) = 0,16$, $p = 0,69$).

A CION diminuiu significativamente a latência de retirada térmica orofacial, caracterizando alodinia neuropática, exceto em animais previamente submetidos a 14 dias de RS associados a 7 dias de injeções diárias de PGE₂ na pata traseira, neste caso, não houve diferenças significativas em relação aos grupos SHAM

(Gráfico 8, ANOVA de três vias de medidas repetidas, $F_{\text{condição de sono}} (1,1) = 0,36$, $p = 0,55$; $F_{\text{injeção na pata}} (1,1) = 4,86$, $p < 0,05$; $F_{\text{cirurgia}} (1,1) = 16,94$, $p < 0,001$; $F_{\text{tempo}} (1,1) = 0,29$, $p = 0,59$; $F_{\text{condição de sono x injeção na pata}} (1,1) = 3,40$, $p = 0,07$; $F_{\text{condição de sono x cirurgia}} (1,1) = 55,74$, $p = 0,11$; $F_{\text{condição de sono x tempo}} (1,1) = 1,64$, $p = 0,21$; $F_{\text{injeção na pata x tempo}} (1,1) = 0,71$, $p = 0,41$; $F_{\text{cirurgia x tempo}} (1,1) = 0,22$, $p = 0,64$; $F_{\text{condição de sono x injeção na pata x cirurgia x tempo}} (1,3) = 2,74$, $p = 0,07$). Esse achado sugere que um histórico prévio de RS de longo termo associado à estimulação nociceptiva pode proteger contra o desenvolvimento subsequente de dor neuropática trigeminal.

Os resultados apresentados do modelo da capsaicina e da CION sugerem que a sensibilização nociceptiva induzida por um agente inflamatório e dano neuropático é dificultada em animais submetidos a RS de longo termo associado à estimulação nociceptiva. Embora os mecanismos deste efeito protetor ainda não estejam elucidados, a partir deste estudo foi possível distinguir algumas características. Primeiro, a associação da RS com estimulação nociceptiva não facilita a transição da dor aguda para crônica, possivelmente pelo estado dopaminérgico antagônico entre a RS e o processo de cronificação da dor. E segundo, o efeito protetor é específico para a sensibilização nociceptiva visto que a nocicepção espontânea induzida pela capsaicina se manteve intacta.

Importante notar que os dados apresentados devem ser interpretados com atenção, visto que a diminuição do tempo de sono não deve ser considerada como uma abordagem terapêutica potencial. Estes resultados devem servir como um novo ponto de partida para o avanço do nosso entendimento em relação às adaptações neuronais que surgem das complexas interações entre a diminuição do tempo de sono e o processamento nociceptivo.

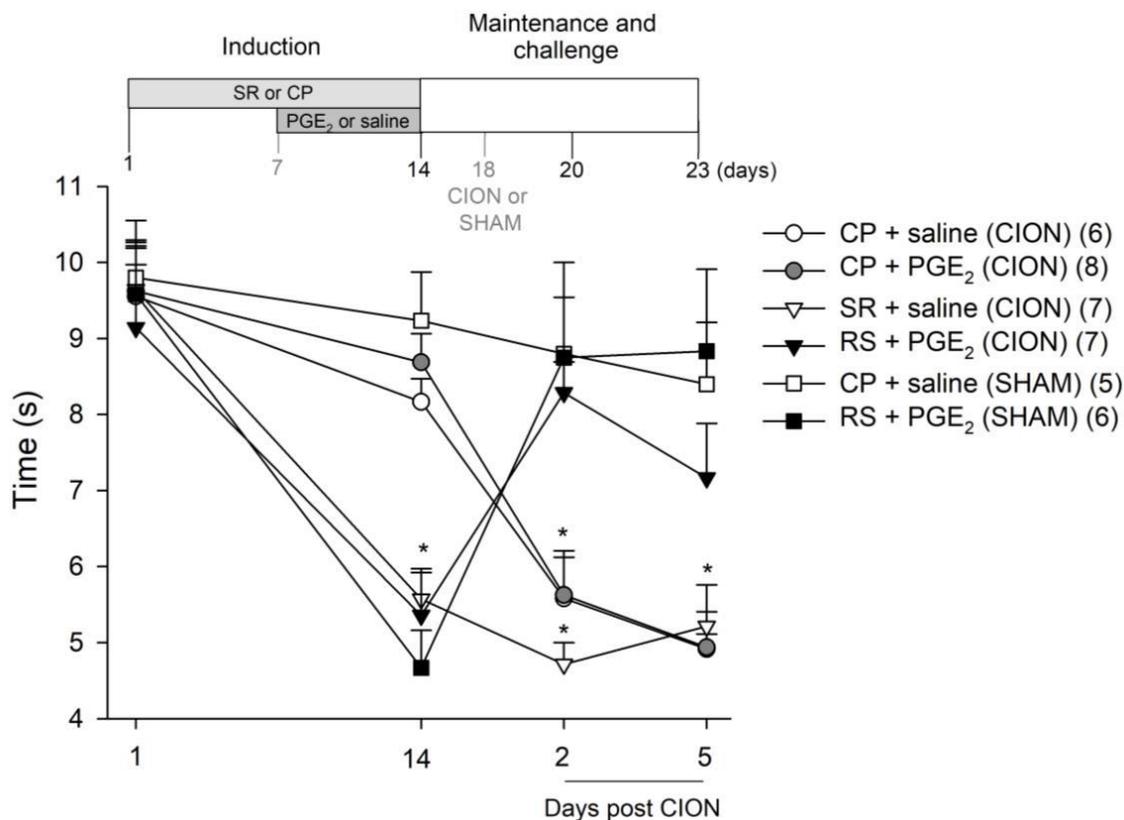


Gráfico 8 – Efeito da associação entre RS e estimulação nociceptiva persistente sobre o desenvolvimento subsequente de dor neuropática trigeminal. A sensibilidade térmica foi medida nos dias 1, 14, 20 (2º dia pós-cirurgia) e 23 (5º dia pós-cirurgia). No 14º dia, é possível constatar o efeito da RS na sensibilidade facial devido a diferença significativa entre eles e os controles. É possível observar o efeito protetor no 2º e 5º dia pós-cirurgia visto a diferença entre o grupo tratado com RS associado a injeções de PGE₂ e os outros (com exceção dos grupos SHAM). O símbolo “*” indica que o tempo perto da fonte térmica foi significativamente menor quando comparado ao grupo “RS + PGE₂” (ANOVA de duas vias de medidas repetidas, seguida de teste de Tukey, $p < 0,05$ (fase de indução) e ANOVA de três vias de medidas repetidas, seguida pelo teste de Tukey, $p < 0,05$ (fase de manutenção)).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A dor crônica e os distúrbios relacionados ao sono são problemas de saúde mundiais (ARTNER et al., 2013; KIM et al., 2015) e já é bem descrito na literatura sua relação bidirecional, de modo que a carência de sono contribui para o desenvolvimento de dores persistentes e dores persistentes reduzem a qualidade (KARAMAN et al., 2014) e o tempo de sono (HERRERO BABILLONI et al., 2019). Apesar disso, não há dados que demonstrem que a RS facilita a transição da dor aguda para a crônica, assim, um experimento de nosso laboratório testou essa hipótese. Ao contrário da nossa hipótese, a RS não facilitou a transição para a dor crônica e, surpreendentemente, induziu uma forma de efeito protetor, diminuindo a resposta nociceptiva a estímulos subsequentes. Em vista deste resultado paradoxal e contraintuitivo, este trabalho pretendeu caracterizar este efeito, determinando sua presença em modelos animais de dor induzida por capsaicina e dor neuropática trigeminal induzida por CION.

A partir dos experimentos realizados, foi possível demonstrar que o efeito protetor é observado na hiperalgesia induzida por capsaicina e CION, porém, não é observada na nocicepção espontânea induzida por capsaicina. Dessa forma, os resultados sugerem que as alterações plásticas neurais decorrentes da RS associado a estimulação nociceptiva persistente, que geram o efeito protetor, alteram o processamento nociceptivo de modo que impedem o desenvolvimento de hiperalgesia, mas preservam a nocicepção espontânea.

O efeito protetor é um dado inédito na literatura, portanto, este estudo trabalhou a fim de elucidar algumas de suas características. Visto a crescente demanda e dificuldade do tratamento de dores crônicas, o estudo deste efeito pode representar uma linha de pesquisa alternativa importante para entender os mecanismos envolvidos na modulação da dor. Pelos mesmos motivos, como perspectivas futuras, aprofundar o entendimento dos mecanismos centrais e periféricos envolvidos neste efeito e sua possível aplicação clínica são de extrema importância para aliviar os impactos da dor na saúde mundial.

REFERÊNCIAS

ALTMAN, N. G.; SCHOPFER, E.; JACKSON, N.; et al. Sleep Duration versus Sleep Insufficiency as Predictors of Cardiometabolic Health Outcomes. **Sleep Medicine**, v. 13, n. 10, p. 1261-1270, 2012. Elsevier B. V.

ANDERSEN, M. L.; TUFIK, S. Sleep and the Modern Society. **Journal of Sleep Disorders and Therapy**, v. 4, n. 5, p. 5-6, 2015.

APKARIAN, A. V.; BUSHNELL, M. C.; TREEDE, R.; et al. Human brain mechanisms of pain perception and regulation in health and disease. **European Journal of Pain**, v. 9, n. 4, p. 463-484, 2005. Elsevier Ltd.

APKARIAN, A. V.; RECKZIEGEL, D. Peripheral and central viewpoints of chronic pain, and translational implications. **Neuroscience Letters**, v. 702, p. 3-5, 2019.

ARTNER, J.; CAKIR, B.; SPIEKERMANN, J.; et al. Prevalence of sleep deprivation in patients with chronic neck and back pain: a retrospective evaluation of 1016 patients. **Journal of Pain Research**, v. 6, p. 1-6, 2013. Dove Medical Press Ltd.

BALIKI, M. N.; APKARIAN, A. V. Nociception, pain, negative moods and behavior selection. **Neuron**, v. 87, n. 3, p. 474-491, 2015.

BHAVE, G.; ZHU, W.; WANG, H.; et al. cAMP-Dependent Protein Kinase Regulates Desensitization of the Capsaicin Receptor (VR1) by Direct Phosphorylation. **Neuron**, v. 35, p. 721-731, 2002. Cell Press.

BINKS, H.; VINCENT, G. E.; GUPTA, C.; et al. Effects of Diet on Sleep: A Narrative Review. **Nutrients**, v. 12, n. 4, p. 1-18, 2020.

BORBELY, A. A. A two process model of sleep regulation. **Hum Neurobiol**, v. 1, p. 195-204, 1982.

BRAGE, S.; IHLEBAEK, C.; NATVIG, B.; et al. Musculoskeletal disorders as causes of sick leave and disability benefits. **Tidsskr Nor Laegeforen**, v. 130, n. 23, p. 2369-2370, 2010.

BROWN, R. E.; BASHEER, R.; MCKENNA, J. T.; et al. Control of sleep and wakefulness. **Physiological Reviews**, v. 92, n. 3, p. 1087-1187, 2012.

CARSKADON, M. A.; DEMENT, W. C. Monitoring and staging human sleep. **Principles and practice of sleep medicine**. 5th edition. St. Louis: Elsevier Saunders, 2011.

CHEATLE, M. D.; FOSTER, S.; PINKETT, A.; et al. Assessing and Managing Sleep Disturbance in Patients with Chronic Pain. **Anesthesiology Clinics**, v. 34, n. 2, p. 379-393, 2016. Elsevier Inc.

CHICHORRO, J.; ZAMPRONIO A.; SOUZA, G. P.; et al. Orofacial cold hyperalgesia due to infraorbital nerve constriction injury in rats: Reversal by endothelin receptor antagonist but not non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Pain**, v. 123, n. 1-2, p. 64-74, 2006. Elsevier B.V.

DIAS, E. V.; SARTORI, C. R.; MARIÃO, P. R.; et al. Nucleus accumbens dopaminergic neurotransmission switches its modulatory action in chronification of inflammatory hyperalgesia. **European Journal of Neuroscience**, v. 42, n. 7, p. 2380-2389, 2015. Federation of European Neuroscience Societies and John Wiley & Sons Ltd.

DRUMMOND, S. P. A.; GILLIN, J. C.; SMITH, T. L.; et al. The Sleep of Abstinent Pure Primary Alcoholic Patients: Natural Course and Relationships to Relapse. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 22, n. 8, 1796-1802, 1998. The Research Society on Alcoholism.

EIPPERT, F.; BINGEL, U.; SCHOELL, E. D.; et al. Activation of the Opioidergic Descending Pain Control System Underlies Placebo Analgesia. **Neuron**, v. 63, n. 4, p. 533-543, 2009. Elsevier Inc.

FERREIRA, S. H.; LORENZETTI, B. B.; CAMPOS, D. I. D. Induction, blockade and restoration of a persistent hypersensitive state. **Pain**, v. 42, n. 3, p. 365-371, 1990. Elsevier.

FERREIRA, S. H.; LORENZETTI, B. B.; POOLE, S. Bradykinin initiates cytokine-mediated inflammatory hyperalgesia. **British Journal of Pharmacology**, v. 110, n. 3, p. 1227-1231, 1993. Macmillan Press Ltd.

FRANK, M. G.; HELLER, H. C. The Function(s) of Sleep. **Handbook of Experimental Pharmacology**, p. 3-34, 2019. Springer International Publishing AG.

FRIAS, B.; MERIGHI, A. Capsaicin, Nociception and Pain. **Molecules**, v. 21, n. 797, 2016.

GAURIAU, C.; BERNARD, J. Pain pathways and parabrachial circuits in the rat. **Experimental Physiology**, v. 87, n. 2, p. 251-258, 2002. The Physiological Society.

GASKIN, D. J.; RICHARD, P. The Economic Costs of Pain in the United States. **The Journal of Pain**, v. 13, n. 8, p. 715-724, 2012. Elsevier.

GOLDBERG, D. S.; MCGEE, S. J. Pain as a global public health priority. **BMC Public Health**, v. 11, n. 770, p. 1-5, 2011.

HAACK, M.; SIMPSON, N.; SETHNA, N.; et al. Sleep deficiency and chronic pain: potential underlying mechanisms and clinical implications. **Neuropsychopharmacology**, v. 45, n. 1, p. 205-216, 2020.

HAFNER, M.; STEPANEK, M.; TAYLOR, J.; et al. Why Sleep Matters – The Economic Costs of Insufficient Sleep: A Cross-Country Comparative Analysis. **Rand Health Q**, v. 6, n. 4, 2017.

HAGEN, E. M.; SVENSEN, E.; ERIKSEN, H. R.; et al. Comorbid Subjective Health Complaints in Low Back Pain. **Spine**, v. 31, n. 13, p. 1491-1495, 2006. Lippincott Williams & Wilkins, Inc.

HELMSTETTER, F. J.; TERSHNER, S. A.; POORE, L. H.; et al. Antinociception following opioid stimulation of the basolateral amygdala is expressed through the periaqueductal gray and rostral ventromedial medulla. **Brain Research**, v. 779, n. 1-2, p. 104-118, 1998. Elsevier Science B. V.

HERRERO BABILONI, A.; KONINCK, B. P.; BEETZ, G.; et al. Sleep and pain: recent insights, mechanisms, and future directions in the investigation of this relationship. **Journal of Neural Transmission**, v. 127, n. 4, p. 647-660, 2019. Springer-Verlag GmbH Austria.

HUANG, C.; CHIANG, R. P.; CHEN, C.; et al. Sleep Deprivation Aggravates Median Nerve Injury-Induced Neuropathic Pain and Enhances Microglial Activation by Suppressing Melatonin Secretion. **Sleep**, v. 37, n. 9, p. 1513-1523, 2014.

HUANG, L.; WU, D.; ZHANG, L.; et al. Modulation of A2a receptor antagonist on D2 receptor internalization and ERK phosphorylation. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 34, n. 10, p. 1292-1300, 2013.

JEE, H. J.; SHIN, W.; JUNG, H. J.; et al. Impact of Sleep Disorder as a Risk Factor for Dementia in Men and Women. **Biomolecules and Therapeutics**, v. 28, n. 1, p. 58-73, 2020. The Korean Society of Applied Pharmacology.

JENSEN, T. S.; FINNERUP, N. B. Management of neuropathic pain. **Current Opinion in Supportive and Palliative Care**, v. 1, p. 126-131, 2007. Lippincott Williams and Wilkins.

JENSEN, T. S.; FINNERUP, N. B. Allodynia and hyperalgesia in neuropathic pain: clinical manifestations and mechanism. **The Lancet Neurology**, v. 13, n. 9, p. 924-935, 2014.

KARAMAN, S.; KARAMAN, T.; DOGRU, S.; et al. Prevalence of sleep disturbance in chronic pain. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 18, p. 2475-2481, 2014.

KECKLUND, G.; AXELSSON, J. Health consequences of shift work and insufficient sleep. **BMJ**, v. 355, p. 1-13, 2016.

KILLGORE, W. D. S.; RUPP, T. L.; GRUGLE, N. L.; et al. Effects of dextroamphetamine, caffeine and modafinil on psychomotor vigilance test performance after 44h of continuous wakefulness. **Journal of Sleep Research**, v. 17, n. 3, p. 309-321, 2008.

KIM, S. H.; LEE, D. H.; YOON, K. B.; et al. Factors Associated with Increased Risk for Clinical Insomnia in Patients with Chronic Neck Pain. **Pain Physician**, v. 18, n. 6, p. 593-598, 2015.

KONG, J.; SHEPEL, P. N.; HOLDEN, C. P.; et al. Brain Glycogen Decreases with Increased Periods of Wakefulness: Implications for Homeostatic Drive to Sleep. **Journal of Neuroscience**, v. 22, n. 13, p. 5581-5587, 2002. Society for Neuroscience.

KREBS, E. E.; GRAVELY, A.; NUGENT, S.; et al. Effect of Opioid vs Nonopioid Medications on Pain-Related Function in Patients With Chronic Back Pain or Hip or Knee Osteoarthritis Pain The SPACE Randomized Clinical Trial. **Journal of the American Medical Association**, v. 319, n. 9, p. 872-882, 2018.

LANDOLT, H.; WERTH, E.; BORBÉLY, A. A.; et al. Caffeine intake (200 mg) in the morning affects human sleep and EEG power spectra at night. **Brain Research**, v. 675, p. 67-74, 1995. Elsevier Science B. V.

LANE, D. A.; PATEL, P. A.; MORGAN, M. M. Evidence for an intrinsic mechanism of antinociceptive tolerance within the ventrolateral periaqueductal gray of rats. **Neuroscience**, v. 135, n. 1, p. 227-234, 2005. Elsevier Ltd.

LARCHER, S.; BENHAMOU, P.; PÉPIN, J.; et al. Sleep habits and diabetes. **Diabetes and Metabolism**, v. 41, n. 4, p. 263-271, 2015. Elsevier Masson SAS.

LEGRAIN, V.; IANNETTI, G. D.; PLAGHKI, L.; et al. The pain matrix reloaded – A salience detection system for the body. **Progress in Neurobiology**, v. 93, p. 111-124, 2011. Elsevier Ltd.

LEI, J.; SUN, T.; LUMB, B. M.; et al. Roles of the periaqueductal gray in descending facilitatory and inhibitory controls of intramuscular hypertonic saline induced muscle nociception. **Experimental Neurology**, v. 257, p. 88-94, 2014. Elsevier Inc.

LENT, R. **Cem bilhões de neurônios?**. 2ª edição. São Paulo: Atheneu: 2010.

LIU, S.; PICKENS, S.; BURMA, N. E.; et al. Kappa opioid receptors drive a tonic aversive component of chronic pain. **Journal of Neuroscience**, v. 39, n. 21, p. 4162-4178, 2019.

LOLIS, F. Estudo dos mecanismos envolvidos na interação entre restrição de sono e dor crônica. Monografia de graduação (Bacharel em Biomedicina) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2021.

LOPSHIRE, J. C.; NICOL, G. D. The cAMP Transduction Cascade Mediates the Prostaglandin E2 Enhancement of the Capsaicin-Elicited Current in Rat Sensory Neurons: Whole-Cell and Single-Channel Studies. **Journal of Neuroscience**, v. 18, n. 16, p. 6081-6092, 1998. Society for Neuroscience.

LOYD, D. R.; MURPHY, A. Z. The Role of the Periaqueductal Gray in the Modulation of Pain in Males and Females: Are the Anatomy and Physiology Really that Different?. **Neural Plasticity**, 2009. Hindawi Publishing Corporation.

MARTIKAINEN, I. K.; NUECHTERLEIN, E. B.; PECIÑA, M.; et al. Chronic back pain is associated with alterations in dopamine neurotransmission in the ventral striatum. **Journal of Neuroscience**, v. 35, n. 27, p. 9957-9965, 2015.

MARGOLIS, E. B.; KARKHANIS A. N. Dopaminergic cellular and circuit contributions to kappa opioid receptor mediated aversion. **Neurochemistry International**, v. 129, p. 1-28, 2019.

MASSALY, N.; COPITS, B. A.; WILSON-POE, A. R.; et al. Pain-induced negative affect is mediated via recruitment of the nucleus accumbens kappa opioid system. **Physiology & behavior**, v. 102, n. 3, p. 564-573, 2019.

MCCOY, J. G.; STRECKER, R. E. The cognitive cost of sleep lost. **Neurobiol Learn Mem**, v. 96, n. 4, p. 564-582, 2011.

MITSI, V.; ZACHARIOU, V. Modulation of pain, nociception, and analgesia by the brain reward center. **Neuroscience**, v. 338, p. 81-92, 2016. Elsevier Ltd.

MORIN, C. M.; BOOTZIN, R. R.; BUYASSE, D. J.; et al. Psychological And Behavioral Treatment Of Insomnia: Update Of The Recent Evidence (1998-2004). **Sleep**, v. 29, n. 11, p. 1398-1414, 2006.

MORPHY, H.; DUNN, K. M.; LEWIS, M.; et al. Epidemiology of insomnia: a longitudinal study in a UK population. **Sleep**, v. 30, n. 3, p. 274-280, 2007.

MOTTA, E. M.; CHICHORRO, J. G.; RAE, G. A. Role of ETA and ETB endothelin receptors on endothelin-1-induced potentiation of nociceptive and thermal hyperalgesic responses evoked by capsaicin in rats. **Neuroscience Letters**, v. 457, n. 3, p. 146-150, 2009. Elsevier Ireland Ltd.

MURRAY, K.; GODBOLE, S.; NATARAJAN, L.; et al. The relations between sleep, time of physical activity, and time outdoors among adult women. **PLoS ONE**, v. 12, n. 9, p. 1-13, 2017.

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. Research Briefing Panel on Pain and Pain Management. **National Academy Press**, 1985.

NECKELMANN, D.; MYKLETUN, A.; DAHL, A. A. Chronic Insomnia as a Risk Factor for Developing Anxiety and Depression. **Sleep**, v. 30, n. 7, p. 873-880, 2007.

NICHOLAS, M.; VLAEYEN, J. W. S.; RIEF, W; et al. The IASP classification of chronic pain for ICD-11: chronic primary pain. **Pain**, v.160, n. 1, p. 28-37, 2019.

O'CALLAGHAN, F.; MUURLINK, O.; REID, N. Effects of caffeine on sleep quality and daytime functioning. **Risk Management and Healthcare Policy**, v. 11, p. 263-271, 2018. Dove Medical Press Limited.

OWENS, J. Insufficient Sleep in Adolescents and Young Adults: Na Update on Causes and Consequences. **Pediatrics**, v. 134, n. 3, p. 921-932, 2014. American Academy of Pediatrics.

PESCADOR, A. C. Impacto da restrição de sono sobre o processo de cronificação da dor em ratos. Monografia de graduação (Bacharel em Biomedicina) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2019.

PETROVIC, P.; KALSO, E.; PETERSSON, K. M.; et al. Placebo and Opioid Analgesia – Imaging a Shared Neuronal Network. **Science**, v. 295, n. 5560, p. 1737-1740, 2002.

RAJA, S. N.; CARR, D. B.; COHEN, M.; et al. Definição revisada de dor pela Associação Internacional para o Estudo da Dor: conceitos, desafios e compromissos. **Physical therapy**, v. 100, n. 12, p. 2077-2078, 2020.

RANDALL, L. O.; SELITTO, J. J. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. **Arch Int Pharmacodyn Ther.** 1957.

RASCH, B.; BORN, J. About sleep's role in memory. **Physiological Reviews**, v. 93, n. 2, p. 681-766, 2013. American Physiological Society.

SANTOS, A. R. S.; CALIXTO, J. B. Further evidence for the involvement of tachykinin receptor subtypes in formalin and capsaicin models of pain in mice. **Neuropeptides**, v. 31, n. 4, p. 381-389, 1997.

SARDI, N. F.; LAZZARIM, M. K.; GUILHEN, V. A.; et al. Chronic sleep restriction increases pain sensitivity over time in a periaqueductal gray and nucleus accumbens dependent manner. **Neuropharmacology**, v. 139, 2018.

SARDI, N. F.; TOBALDINI, G.; MORAIS, R. N.; et al. Nucleus Accumbens mediates the pronociceptive effect of sleep deprivation: the role of adenosine A2A and dopamine D2 receptors. **Pain**, v. 159, n. 1, 2018.

SEMINOWICZ, D. A.; REMENIUK, B.; KRIMMEL S. R.; et al. Pain-Related Nucleus Accumbens Function: Modulation by Reward and Sleep Disruption. **Pain**, v. 160, n. 5, p. 1196-1207, 2019.

SHI, L.; CHEN, S.; MA, M.; et al. Sleep disturbances increase the risk of dementia: a systematic review and meta-analysis. **Sleep Medicine Reviews**, 2017.

SHILO, L.; SABBAAH, H.; HADARI, R.; et al. The effects of coffee consumption on sleep and melatonin secretion. **Sleep Medicine**, v. 3, n. 3, p. 271-273, 2002. Elsevier Science B. V.

SMITH, B. H.; ELLIOTT A. M.; CHAMBERS, W. A.; et al. The impact of chronic pain in the community. **Family Practice**, v. 18, n. 3, p. 292-299, 2001. Oxford University Press.

ST-ONGE, M.; MIKIC, A.; PIETROLUNGO, C. A. Effects of diet on sleep quality. **Advances in Nutrition**, v. 7, n. 5, p. 938-949, 2016. American Society for Nutrition.

STICKGOLD, R. Sleep-dependent memory consolidation. **Nature**, v. 437, n. 7063, p. 1272-1278, 2005. Nature Publishing Group.

SCHWARTZ, E. S.; LEE, I.; CHUNG, K.; et al. Oxidative stress in the spinal cord is an important contributor in capsaicin-induced mechanical secondary hyperalgesia in mice. **Pain**, v. 138, n. 3, p. 514-524, 2008.

TOBALDINI, G.; REIS, R. A.; SARDI, N. F.; et al. Dopaminergic mechanisms in periaqueductal gray-mediated antinociception. **Behavioural Pharmacology**, v. 29, p. 225-233, 2017. Wolters Kluwer Health, Inc.

TOBALDINI, G.; ANDERSEN, E. O. L.; POLATO, J. J.; et al. Pain and stress: functional evidence that supra-spinal mechanisms involved in pain-induced analgesia mediate stress-induced analgesia. **Behavioural Pharmacology**, 2019. Wolters Kluwer Health, Inc.

TOMIM, D. H.; PONTAROLLA, F. M.; BERTOLINI, J. F.; et al. The Pronociceptive Effect of Paradoxical Sleep Deprivation in Rats: Evidence for a Role of Descending Pain Modulation. **Molecular Neurobiology**, v. 53, n. 3, p. 1706-1717, 2015. Springer Science.

TSUNODA, K.; KITANO, N.; KAI, Y.; et al. Prospective Study of Physical Activity and Sleep in Middle-Aged and Older Adults. **American Journal of Preventive Medicine**, v. 48, n. 6, p. 662-673, 2015. Elsevier Inc.

VANEGAS, H.; SCHAIBLE, H. Prostaglandins and cyclooxygenases in the spinal cord. **Progress in Neurobiology**, v. 64, n. 4, p. 327-363, 2001. Elsevier Science Ltd.

VERGARA, F.; SARDI, N. F.; PESCADOR, A. C.; et al. Contribution of mesolimbic dopamine and kappa opioid system to the transition from acute to chronic pain. **Neuropharmacology**, v. 178, 2020. Elsevier Ltd.

VOLKOW, N. D.; TOMASI, D.; WANG, G.; et al. Evidence That Sleep Deprivation Downregulates Dopamine D2R in Ventral Striatum in the Human Brain. **Journal of Neuroscience**, v. 32, n. 19, p. 6711-6717, 2012.

WOOD, P. B.; SCHWEINHARDT, P.; JAEGER, E; et al. Fibromyalgia patients show an abnormal dopamine response to pain. **European Journal of Neuroscience**, v. 25, n. 12, p. 3576-3582, 2007. Federation of European Neuroscience Societies and Blackwell Publishing Ltd.

XIE, L.; KANG, H.; XU, Q.; et al. Sleep Drives Metabolite Clearance from the Adult Brain. **Science**, v. 342, n. 6156, p. 373-377, 2013.

ZEILHOFER, H. U. The glycinergic control of spinal pain processing. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 62, n. 18, p. 2027-2035, 2005. Birkhauser Verlag.

ZIMMERMANN, M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. **Pain**, v. 16, n. 2, p. 109-110, 1983. Lippincott-Raven Publishers.