

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - FISIOLOGIA E  
FARMACOLOGIA

Bárbara Formiga Gonçalves de Queiroz

**ESTUDO SOBRE A PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA DOPAMINÉRGICO NA  
MODULAÇÃO ENDÓGENA PERIFÉRICA DA DOR**

BELO HORIZONTE

2025

Bárbara Formiga Gonçalves de Queiroz

**ESTUDO SOBRE A PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA DOPAMINÉRGICO NA  
MODULAÇÃO ENDÓGENA PERIFÉRICA DA DOR**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Fisiologia e Farmacologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas, com área de concentração em Farmacologia.

**Orientador: Prof. Dr. Igor Dimitri Gama Duarte**

BELO HORIZONTE

2025

043

Queiroz, Bárbara Formiga Gonçalves de.

Estudo sobre a participação do sistema dopaminérgico na modulação endógena periférica da dor [manuscrito] / Bárbara Formiga Gonçalves de Queiroz. – 2025.

148 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Prof. Dr. Igor Dimitri Gama Duarte.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Farmacologia.

1. Farmacologia. 2. Dor. 3. Dopamina. 4. Receptores Dopaminérgicos. 5. Inflamação. 6. Analgésicos Opioides. 7. Canabinoides. I. Duarte, Igor Dimitri Gama. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 612:615



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
Programa de Pós-graduação em Fisiologia e Farmacologia

**Folha de Aprovação**

**"Estudo Sobre A Participação do Sistema Dopaminérgico na Modulação Endógena Periférica da Dor"**

**BÁRBARA FORMIGA GONÇALVES DE QUEIROZ**

Tese de Doutorado defendida e aprovada, no dia **14 de maio de 2025**, pela Banca Examinadora constituída pelos seguintes professores:

**Profa. Dra. Luciene Bruno Vieira** - ICB/UFMG

**Profa. Dra. Camila Megale de Almeida Leite** - ICB/UFMG

**Prof. Dr. Igor Dimitri Gama Duarte - Orientador** - ICB/UFMG

**Profa. Dra. Luciana Souza Guzzo Costa** - Faculdade de Farmácia/UFJF

**Profa. Dra. Cristina da Costa Oliveira** - Faculdade de Saúde Santo Agostinho /FASA

**Belo Horizonte, 14 de maio de 2025**



Documento assinado eletronicamente por **Luciene Bruno Vieira, Professor(a)**, em 29/05/2025, às 15:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Camila Megale de Almeida Leite, Professora do Magistério Superior**, em 29/05/2025, às 15:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luciana Souza Guzzo Costa, Usuário Externo**, em 29/05/2025, às 15:40, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Igor Dimitri Gama Duarte, Professor do Magistério Superior**, em 29/05/2025, às 21:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

---



Documento assinado eletronicamente por **Cristina da Costa Oliveira, Usuária Externa**, em 05/06/2025, às 23:54, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

---



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **4252794** e o código CRC **DE49AE35**.

---

## **Agradecimentos**

Ao meu orientador, professor Igor Dimitri Gama Duarte, minha maior e profunda gratidão pela orientação, pela confiança em mim depositada, pela acolhida no laboratório, incentivo e por todo conhecimento transmitido, sempre com tanta paciência, dedicação e alegria. Seus ensinamentos, sua humildade, sensatez e solidariedade serão levadas comigo para além da minha jornada acadêmica.

Agradeço em especial a Professora Janetti Francischi por ter me apresentado o meio acadêmico, dando início a toda essa trajetória.

Agradeço aos professores do Laboratório de Dor e Analgesia, Prof. Thiago Roberto Lima Romero e Profa. Andrea de Castro Perez por estarem presentes e contribuírem sempre que preciso.

Agradeço a todos os companheiros de bancada do Laboratório de Dor e Analgesia: Danielle Diniz, Daniel Portela, Douglas Lamounier, Giovanna Bauer, Lívia Rodrigues, Marla Calazans, Sandro Arnaud e Yasmin Emília, por toda ajuda e prontidão, colaborando sempre que necessário. Em especial agradeço aos meus amigos Wallace Barra, Audrey Irie, Amanda Gonzaga e Flávia Fonseca. Sou grata não só pelo conhecimento compartilhado, mas também pela amizade que construímos. Vocês tornaram os dias difíceis mais fáceis, leves e (muito) divertidos!

Agradeço à Profa. Cleida Aparecida de Oliveira, Profa. Vivian Vasconcelos Costa, Celso Martins Queiroz Junior, Letícia Cardoso dos Santos e novamente aos meus amigos Wallace Barra e Amanda Gonzaga pela parceria nos últimos experimentos.

Aos funcionários: bioteristas, funcionários do Cebio, da secretaria do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Fisiologia e Farmacologia, e em especial a técnica Adriane, nossa mãezona.

Agradeço aos órgãos de fomento Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de

Nível Superior (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

Aos animais de experimentação por doarem suas vidas pelo nosso trabalho e em prol da ciência.

Aos meus pais Carlos e Neuda e minhas irmãs Larissa e Débora por todo apoio nos momentos difíceis.

Finalmente, agradeço ao meu marido Bernardo Piccinin por todo apoio, compreensão e incentivo.

## RESUMO

**Introdução:** A experiência final da dor é resultante da ativação da via nociceptiva e da modulação da nocicepção por diferentes sistemas analgésicos. Considerando que o sistema dopaminérgico tem sido amplamente relacionado à modulação da dor, tanto em nível central quanto periférico, o objetivo do presente estudo foi investigar sobre a participação da dopamina (DA) endógena e dos receptores dopaminérgicos na modulação periférica da dor de origem inflamatória e neuropática. Adicionalmente, avaliou-se o envolvimento do sistema dopaminérgico na antinocicepção induzida por opioides e canabinoides. **Métodos:** Foram utilizados camundongos Swiss machos (CEUA 129/2021). A indução da dor inflamatória foi feita através da administração de carragenina (CG) e dos mediadores inflamatórios  $\text{TNF}\alpha$ , CXCL-1, IL-1 $\beta$ ,  $\text{PGE}_2$  e noradrenalina (NA). A dor neuropática foi induzida através do modelo de constrição crônica do nervo ciático (CCI). Para estudo da antinocicepção dos opioides e canabinoides, foram utilizados os agonistas DAMGO, SNC-80, Bremazocina, Anandamida (AEA) e 2-araquidonilglicerol (2-AG). O sistema dopaminérgico endógeno foi avaliado pela administração de inibidores de recaptação e degradação de DA (GBR 12783 e Nitecapona), além dos antagonistas seletivos dos receptores dopaminérgicos ( $\text{D}_2$  – Remoxiprida,  $\text{D}_3$  – U 99194 e  $\text{D}_4$  – L-745,870). A medida do limiar nociceptivo foi mensurada através do teste de retirada de pata. **Resultados:** A dor inflamatória induzida por dose máxima de CG,  $\text{TNF}\alpha$ , CXCL-1 e IL-1 $\beta$  foi revertida pela administração de GBR 12783 e Nitecapona. Dose submáxima de CG causou hiperalgesia intermediária que foi potencializada pela administração dos antagonistas  $\text{D}_2$  e  $\text{D}_4$ . A dor intermediária de dose submáxima de  $\text{TNF}\alpha$  foi potencializada apenas pelo antagonista de receptores  $\text{D}_2$ . Em relação a CXCL-1 e IL-1 $\beta$ , os três antagonistas de receptores dopaminérgicos ( $\text{D}_2$ ,  $\text{D}_3$  e  $\text{D}_4$ ) foram capazes de potencializar a dor. Diferentemente, os inibidores e antagonistas dopaminérgicos não promoveram alteração no limiar nociceptivo dos animais pré-sensibilizados por  $\text{PGE}_2$  ou NA. A administração do inibidor da receptação de DA – GBR 12783 reverteu a dor neuropática de animais que foram submetidos a CCI. Além disso, a administração dos antagonistas de receptores  $\text{D}_2$ ,  $\text{D}_3$  potencializaram a dor neuropática, enquanto que o antagonista de receptores  $\text{D}_4$  não promoveu nenhum efeito. Adicionalmente, a antinocicepção intermediária induzida por dose submáxima dos agonistas opioides DAMGO, SNC-80 e Bremazocina foi

potencializada pela administração de GBR 12783 e quando utilizados os antagonistas de receptores D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub> houve reversão dessa antinocicepção. Similarmente, o inibidor da recaptação de DA GBR 12783, potencializou a antinocicepção do endocanabinoide 2-AG, que foi revertida pelos antagonistas dopaminérgicos D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub>. De forma contrária, GBR 12783 não foi capaz de potencializar a antinocicepção de AEA. **Conclusão:** Os resultados obtidos sugerem um importante papel para o sistema dopaminérgico endógeno na modulação de diferentes tipos de dor em nível periférico e além disso, apontam para o envolvimento da DA endógena e dos receptores dopaminérgicos na antinocicepção induzida por dois sistemas analgésicos importantes: o sistema opioide e canabinoide. A possibilidade terapêutica de modulação da dor através de ativação das vias endógenas poderia fornecer uma nova ferramenta para o controle não só da dor inflamatória, mas para outros tipos refratárias aos tratamentos convencionais.

**Palavras-chave:** dopamina; dor; modulação endógena; receptores dopaminérgicos; inflamação; dor neuropática; opioides; canabinoides

## ABSTRACT

**Introduction:** The final pain experience results from activating the nociceptive pathway and the modulation of nociception by different analgesic systems. Considering that the dopaminergic system has been widely related to pain modulation, both at central and peripheral levels, the present study aimed to investigate the participation of endogenous dopamine (DA) and dopaminergic receptors in the peripheral modulation of pain of inflammatory and neuropathic origin. Additionally, the involvement of the dopaminergic system in antinociception induced by opioids and cannabinoids was evaluated. **Methods:** Male Swiss mice (CEUA 129/2021) were used. Inflammatory pain was induced through the administration of carrageenan (CG) and the inflammatory mediators  $\text{TNF}\alpha$ , CXCL-1, IL-1 $\beta$ , PGE<sub>2</sub>, and norepinephrine (NA). Neuropathic pain was induced through the chronic sciatic nerve constriction (CCI) model. To study the antinociception of opioids and cannabinoids, the agonists DAMGO, SNC-80, Bremazocine, Anandamide (AEA), and 2-arachidonylglycerol (2-AG) were used. The endogenous dopaminergic system was evaluated by the administration of DA reuptake and degradation inhibitors (GBR 12783 and Nitecapone), in addition to selective dopaminergic receptor antagonists (D<sub>2</sub> - Remoxipride, D<sub>3</sub> - U 99194 and D<sub>4</sub> - L-745,870). The nociceptive threshold was measured through the paw withdrawal test. **Results:** Inflammatory pain induced by maximum doses of CG,  $\text{TNF}\alpha$ , CXCL-1, and IL-1 $\beta$  was reversed by the administration of GBR 12783 and Nitecapone. Submaximal doses of CG caused intermediate hyperalgesia that was potentiated by the administration of D<sub>2</sub> and D<sub>4</sub> antagonists. The intermediate pain of submaximal  $\text{TNF}\alpha$  doses was potentiated only by the D<sub>2</sub> receptor antagonist. Regarding CXCL-1 and IL-1 $\beta$ , the three dopamine receptor antagonists (D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>, and D<sub>4</sub>) were able to potentiate pain. In contrast, dopaminergic inhibitors and antagonists did not promote changes in the nociceptive threshold of animals pre-sensitized by PGE<sub>2</sub> or NA. The administration of the DA reuptake inhibitor – GBR 12783 reversed the neuropathic pain of animals that were subjected to CCI. Furthermore, the administration of D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub> receptor antagonists potentiated neuropathic pain, while the D<sub>4</sub> receptor antagonist did not promote any effect. Additionally, the intermediate anti-nociception induced by submaximal doses of the opioid agonists DAMGO, SNC-80, and Bremazocine was potentiated by the administration of GBR 12783 and when D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub> receptor antagonists were used,

this antinociception was reversed. Similarly, the DA reuptake inhibitor GBR 12783 potentiated the antinociception of the endocannabinoid 2-AG, which was reversed by dopaminergic D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub> antagonists. Conversely, GBR 12783 was not able to potentiate the antinociception of AEA. **Conclusion:** The results obtained suggest an important role for the endogenous dopaminergic system in the modulation of different types of pain at the peripheral level and, in addition, point to the involvement of endogenous DA and dopaminergic receptors in the antinociception induced by two important analgesic systems: the opioid and cannabinoid systems. The therapeutic possibility of pain modulation through the activation of endogenous pathways could provide a new tool for controlling not only inflammatory pain but also other types of pain that are refractory to conventional treatments.

**Keywords:** dopamine; pain; endogenous modulation; dopamine receptors; inflammation; neuropathic pain; opioids; cannabinoids

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. Mecanismos fisiológicos da dor nociceptiva.....                                                                                                                                                                                                           | 22 |
| Figura 2. Vias ascendente da dor e descendente modulatória.....                                                                                                                                                                                                     | 24 |
| Figura 3. Ativação do nociceptor e sensibilização periférica .....                                                                                                                                                                                                  | 26 |
| Figura 4. Sensibilização central.....                                                                                                                                                                                                                               | 27 |
| Figura 5. Mecanismos fisiopatológicos da dor neuropática.....                                                                                                                                                                                                       | 29 |
| Figura 6. Vias dopaminérgicas no sistema nervoso central.....                                                                                                                                                                                                       | 32 |
| Figura 7. Neurotransmissão dopaminérgica.....                                                                                                                                                                                                                       | 34 |
| Figura 8. Sinalização intracelular dos receptores dopaminérgicos .....                                                                                                                                                                                              | 35 |
| Figura 9. Via de administração dos fármacos .....                                                                                                                                                                                                                   | 45 |
| Figura 10. Diagrama representativo da cascata de mediadores inflamatórios induzidos pela administração de CG em camundongos.....                                                                                                                                    | 46 |
| Figura 11. Teste algesimétrico de mensuração do limiar nociceptivo mecânico da pata de camundongos .....                                                                                                                                                            | 48 |
| Figura 12. Protocolo experimental para avaliação do inibidor da recaptação de DA (GBR 12783) frente a hiperalgesia induzida por carragenina (CG) .....                                                                                                              | 50 |
| Figura 13. Protocolo experimental para avaliação do efeito dos inibidores da recaptação (GBR 12783) e degradação (Nitecapona) de DA frente a hiperalgesia induzida pelos diferentes mediadores inflamatórios .....                                                  | 51 |
| Figura 14. Protocolo experimental para avaliação do efeito dos antagonistas dos receptores de DA frente a hiperalgesia induzida por dose submáxima de CG e dos mediadores inflamatórios .....                                                                       | 52 |
| Figura 15. Protocolo experimental para avaliação do efeito do inibidor da recaptação de DA (GBR 12783) e do antagonista de receptores dopaminérgicos D <sub>2</sub> (Remoxiprida) frente a hiperalgesia máxima e submáxima induzida por diferentes doses de NA..... | 52 |
| Figura 16. Protocolo experimental para avaliação do efeito do inibidor da recaptação de DA e dos antagonistas de receptores dopaminérgicos frente a antinocicepção induzida por opioides.....                                                                       | 53 |
| Figura 17. Técnica cirúrgica de constrição do nervo ciático (CCI) .....                                                                                                                                                                                             | 54 |
| Figura 18. Protocolo experimental para avaliação da participação do sistema dopaminérgico na modulação endógena periférica da dor neuropática .....                                                                                                                 | 55 |
| Figura 19. Efeito do inibidor da recaptação de DA GBR 12783 frente a hiperalgesia induzida por CG .....                                                                                                                                                             | 61 |
| Figura 20. Curva temporal do efeito antinociceptivo do inibidor da recaptação de DA GBR 12783, em diferentes doses, frente a hiperalgesia induzida por CG .....                                                                                                     | 62 |
| Figura 21. Exclusão do efeito antinociceptivo sistêmico de GBR 12783.....                                                                                                                                                                                           | 64 |

|                                                                                                                                                                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 22. Curva temporal do efeito antinociceptivo do inibidor da degradação de DA Nitecapona, em diferentes doses, frente a hiperalgesia induzida por CG.....                                                       | 66 |
| Figura 23. Exclusão do efeito antinociceptivo sistêmico de Nitecapona .....                                                                                                                                           | 67 |
| Figura 24. Efeito do antagonista de receptores D <sub>2</sub> dopaminérgicos Remoxiprida na antinocicepção mediada pelo inibidor da degradação de DA Nitecapona frente a hiperalgesia induzida por CG .....           | 68 |
| Figura 25. Efeito dos inibidores da recaptação e degradação de DA GBR 12783 e Nitecapona, frente a hiperalgesia induzida por TNF $\alpha$ . ....                                                                      | 70 |
| Figura 26. Efeito dos inibidores da recaptação e degradação de DA GBR 12783 e Nitecapona, frente a hiperalgesia induzida por CXCL-1 .....                                                                             | 71 |
| Figura 27. Efeito dos inibidores da recaptação e degradação de DA GBR 12783 e Nitecapona, frente a hiperalgesia induzida por IL-1 $\beta$ .....                                                                       | 72 |
| Figura 28. Efeito do inibidor da recaptação de DA GBR 12783 frente a hiperalgesia induzida por PGE <sub>2</sub> .....                                                                                                 | 73 |
| Figura 29. Efeito do inibidor da recaptação de DA GBR 12783 frente a hiperalgesia induzida pela NA.....                                                                                                               | 74 |
| Figura 30. Efeito temporal do antagonista de receptores D <sub>2</sub> Remoxiprida frente a hiperalgesia induzida por dose submáxima de CG.....                                                                       | 77 |
| Figura 31. Efeito dos antagonistas de receptores dopaminérgicos D <sub>2</sub> Remoxiprida, D <sub>3</sub> U 99194 e D <sub>4</sub> L-745,870 frente a hiperalgesia induzida por dose submáxima de CG .....           | 78 |
| Figura 32. Efeito dos antagonistas de receptores dopaminérgicos D <sub>2</sub> Remoxiprida, D <sub>3</sub> U 99194 e D <sub>4</sub> L-745,870 frente a hiperalgesia induzida por dose submáxima de TNF $\alpha$ ..... | 79 |
| Figura 33. Efeito dos antagonistas de receptores dopaminérgicos D <sub>2</sub> Remoxiprida, D <sub>3</sub> U 99194 e D <sub>4</sub> L-745,870 frente a hiperalgesia induzida por dose submáxima de CXCL-1 .....       | 80 |
| Figura 34. Efeito dos antagonistas de receptores dopaminérgicos D <sub>2</sub> Remoxiprida, D <sub>3</sub> U 99194 e D <sub>4</sub> L-745,870 frente a hiperalgesia induzida por dose submáxima de IL-1 $\beta$ ..... | 81 |
| Figura 35. Efeito do antagonista de receptores dopaminérgicos D <sub>2</sub> Remoxiprida frente a hiperalgesia induzida por dose submáxima de PGE <sub>2</sub> .....                                                  | 82 |
| Figura 36. Efeito do antagonista de receptores dopaminérgicos D <sub>2</sub> Remoxiprida frente a hiperalgesia induzida por dose submáxima de NA .....                                                                | 83 |
| Figura 37. Curva tempo-resposta do limiar nociceptivo após cirurgia de constrição do nervo ciático .....                                                                                                              | 85 |

|                                                                                                                                                                                                                                    |            |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>Figura 38. Efeito do inibidor da recaptação de DA GBR 12783 frente a dor neuropática</b>                                                                                                                                        | <b>87</b>  |
| <b>Figura 39. Efeito dos antagonistas de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> Remoxiprida, D<sub>3</sub> U 99194 e D<sub>4</sub> L-745,870 frente a dor neuropática</b>                                                         | <b>89</b>  |
| <b>Figura 40. Efeito do inibidor da recaptação de DA GBR 12783 sobre a antinocicepção induzida por dose submáxima do agonista <math>\mu</math>-opioide DAMGO</b>                                                                   | <b>91</b>  |
| <b>Figura 41. Efeito do inibidor da recaptação de dopamina GBR 12783 sobre a antinocicepção induzida por dose submáxima do agonista <math>\delta</math>-opioide SNC 80</b>                                                         | <b>92</b>  |
| <b>Figura 42. Efeito do inibidor da recaptação de dopamina GBR 12783 sobre a antinocicepção induzida por dose submáxima do agonista <math>\kappa</math>-opioide Bremazocina</b>                                                    | <b>93</b>  |
| <b>Figura 43. Efeito dos antagonistas de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> Remoxiprida, D<sub>3</sub> U 99194 e D<sub>4</sub> L-745,870 na antinocicepção induzida pelo agonista <math>\mu</math>-opioide DAMGO.</b>         | <b>95</b>  |
| <b>Figura 44. Efeito dos antagonistas de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> Remoxiprida, D<sub>3</sub> U 99194 e D<sub>4</sub> L-745,870 na antinocicepção induzida pelo agonista <math>\delta</math>-opioide SNC 80.</b>     | <b>96</b>  |
| <b>Figura 45. Efeito dos antagonistas de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> Remoxiprida, D<sub>3</sub> U 99194 e D<sub>4</sub> L-745,870 na antinocicepção induzida pelo agonista <math>\kappa</math>-opioide Bremazocina</b> | <b>97</b>  |
| <b>Figura 46. Efeito do inibidor da recaptação de dopamina GBR 12783 na antinocicepção induzida por dose submáxima do agonista canabinoide AEA</b>                                                                                 | <b>99</b>  |
| <b>Figura 47. Efeito do inibidor da recaptação de dopamina GBR 12783 na antinocicepção induzida por dose submáxima do agonista canabinoide 2-AG</b>                                                                                | <b>100</b> |
| <b>Figura 48. Efeito dos antagonistas de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> Remoxiprida, D<sub>3</sub> U 99194 e D<sub>4</sub> L-745,870 na antinocicepção induzida por 2-AG</b>                                              | <b>101</b> |
| <b>Figura 49. Efeito dos inibidores da recaptação e degradação de DA administrado isoladamente</b>                                                                                                                                 | <b>102</b> |
| <b>Figura 50. Efeito dos antagonistas dos receptores dopaminérgicos administrado isoladamente</b>                                                                                                                                  | <b>103</b> |
| <b>Figura 51. Análise qualitativa da localização de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> pelo método de imunohistoquímica após administração de CG</b>                                                                          | <b>106</b> |
| <b>Figura 52. Análise qualitativa da localização de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> pelo método de imunohistoquímica após administração de CG</b>                                                                          | <b>106</b> |
| <b>Figura 53. Análise qualitativa da localização de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> pelo método de imunohistoquímica após administração de PGE<sub>2</sub></b>                                                             | <b>107</b> |

|                                                                                                                                                |            |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>Figura 54. Análise qualitativa da localização de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> pelo método de imunohistoquímica CCI .....</b>     | <b>108</b> |
| <b>Figura 55. Representação esquemática dos mecanismos envolvidos na modulação endógena periférica da dor pelo sistema dopaminérgico. ....</b> | <b>124</b> |

## **LISTA DE TABELAS**

|                                                                                                                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tabela 1. Resumo dos resultados do estudo sobre a participação do sistema dopaminérgico endógeno na modulação periférica da dor inflamatória e neuropática</b> |     |
| .....                                                                                                                                                             | 104 |
| <b>Tabela 2. Resumo dos resultados da avaliação da participação do sistema dopaminérgico endógeno na antinocicepção periférica de opioides e canabinoides</b>     |     |
| .....                                                                                                                                                             | 104 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**2-AG** - 2-araquidonilglicerol

**5-HT** - Serotonina

**AC** – adenilato ciclase

**AEA** - anandamida

**AINEs** – Anti-inflamatórios não esteroides

**AMPc** - monofosfato cíclico de adenosina

**ANOVA** - análise de variância (do inglês *analysis of variance*)

**ASIC** – Canais iônicos sensíveis a ácido (do inglês *Acid-sensitive ion channels*)

**ATP** - adenosina trifosfato

**BDNF** - fator neurotrófico derivado do cérebro (do inglês *brain-derived neurotrophic factor*)

**Ca<sup>2+</sup>** - Cálcio

**CAPES** - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

**CB<sub>1</sub>** – receptor canabinoide tipo 1

**CB<sub>2</sub>** - receptor canabinoide tipo 2

**CCI** - constrição do nervo ciático (do inglês *chronic constriction injury*)

**CEBIO** - Centro de Bioterismo do Instituto de Ciências Biológicas

**CEUA** - Comissão de Ética no Uso de Animais

**CG** - carragenina

**CGRP** – Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (do inglês *Calcitonin gene-related peptide*)

**CNPq** - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

**COMT** - Catecol-O-Metil Transferase

**DA** - Dopamina

**DAT** – Transportador de dopamina

**DDC** – enzima dopa-descarboxilase

**DMSO** - dimetilsulfóxido

**DP** - Doença de Parkinson

**DRG** - gânglio da raiz dorsal (do inglês *dorsal root ganglion*)

**EPM** - erro padrão da média

**FAPEMIG** - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais

**GABA** - ácido gama-aminobutírico (do inglês *gamma-aminobutyric acid*)

**GDR** – Gânglio da raiz dorsal (do inglês *dorsal root ganglion*)

**HVA** - ácido homovanílico

**IASP** - Associação Internacional para o Estudo da Dor (do inglês *International Association for the Study of Pain*)

**ICB** - Instituto de Ciências Biológicas

**I.P** – intraperitoneal

**I.P.L.** - intraplantar

**IUPHAR** – União Internacional de Farmacologistas (do inglês *International Union of Pharmacologists*)

**K<sup>+</sup>** - Potássio

**MAO** – Monoamina oxidase

**n** - número de animais experimentais

**NA** – noradrenalina

**Na<sup>+</sup>** - Sódio

**NGF** - fator de crescimento nervoso (do inglês *Nerve Growth Factor*)

**ns** – não estatisticamente significativo

**PAG** - substância cinzenta periaquedutal (do inglês *periaqueductal grey*)

**PGE<sub>2</sub>** - prostaglandina E<sub>2</sub>

**PKA** – proteína quinase A

**S.B.** – subcutânea

**SNC** - sistema nervoso central

**SP** – Sustância P

**TH** – enzima tirosina hidroxilase

**TRPA** - receptor de potencial transitório anquirina

**TRPV** - receptor de potencial transitório vaniloide

**UFMG** - Universidade Federal de Minas Gerais

**VMAT** - transportador de monoaminas vesicular

**Δ** – delta

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO .....</b>                                                                                                     | <b>20</b> |
| 1.1 Considerações gerais sobre o estudo da dor.....                                                                            | 20        |
| 1.2 Tipos de dor e mecanismos fisiopatológicos.....                                                                            | 21        |
| 1.3 Dopamina.....                                                                                                              | 31        |
| <b>2. JUSTIFICATIVA.....</b>                                                                                                   | <b>39</b> |
| <b>3. OBJETIVOS .....</b>                                                                                                      | <b>41</b> |
| 3.1 Objetivos Gerais.....                                                                                                      | 41        |
| 3.2 Objetivos específicos .....                                                                                                | 41        |
| <b>4. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>                                                                                             | <b>43</b> |
| 4.1 Animais .....                                                                                                              | 43        |
| 4.2 Drogas e solventes .....                                                                                                   | 45        |
| 4.3 Teste de retirada de pata .....                                                                                            | 48        |
| 4.4 Protocolo experimental .....                                                                                               | 50        |
| 4.5 Modelo de indução de dor neuropática (CCI) .....                                                                           | 54        |
| 4.6 Ensaio de imunohistoquímica para avaliação da localização de receptores dopaminérgicos.....                                | 56        |
| 4.7 Análise estatística .....                                                                                                  | 58        |
| <b>5. RESULTADOS .....</b>                                                                                                     | <b>60</b> |
| 5.1 Participação da dopamina endógena na modulação periférica da dor inflamatória induzida por CG.....                         | 60        |
| 5.2 Participação da dopamina endógena na modulação periférica da dor inflamatória induzida pelos mediadores inflamatórios..... | 69        |
| 5.3 Estudo sobre a identificação dos receptores dopaminérgicos no evento de modulação da dor inflamatória .....                | 75        |
| 5.4 Participação do sistema dopaminérgico na modulação periférica da dor neuropática .....                                     | 84        |

|                                                                                                                             |            |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 5.5 Participação do sistema dopaminérgico endógeno na antinocicepção induzida por opioides .....                            | 90         |
| 5.6 Participação do sistema dopaminérgico endógeno na antinocicepção induzida por canabinoides.....                         | 98         |
| 5.7 Controle dos fármacos e veículos utilizados para avaliação do sistema dopaminérgico .....                               | 102        |
| 5.8 Resumo dos resultados dos ensaios farmacológicos .....                                                                  | 104        |
| 5.9 Estudo qualitativo da localização dos receptores dopaminérgicos em tecido de pata pelo método de imunohistoquímica..... | 105        |
| <b>6. DISCUSSÃO .....</b>                                                                                                   | <b>110</b> |
| <b>7. CONCLUSÕES .....</b>                                                                                                  | <b>124</b> |
| <b>REFERÊNCIAS.....</b>                                                                                                     | <b>126</b> |
| <b>ANEXOS .....</b>                                                                                                         | <b>145</b> |
| Anexo I - Protocolo de aprovação do projeto pelo Comitê de Ética no Uso de Animais .....                                    | 145        |
| Anexo II - Publicação relacionada ao trabalho .....                                                                         | 146        |

## ***Introdução***



## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Considerações gerais sobre o estudo da dor

A dor é conceituada pela Associação Internacional para o Estudo da dor (IASP, 2020) como uma “*experiência sensorial e emocional desagradável associada, ou semelhante àquela associada, a uma lesão tecidual real ou potencial*”, sendo uma experiência pessoal e individual, com grande carga afetiva e subjetiva (Raja et al., 2020). Embora seja relacionada a uma experiência negativa devido a seus efeitos deletérios e incapacitantes, a dor faz parte de um sistema fisiológico de proteção.

Definida como um fenômeno complexo, que envolve diversos mecanismos, alterações fisiológicas e sensações somáticas, associadas a componentes psicológicos e comportamentais, a dor constitui um sinal de alerta, cuja função é ajudar a proteger o organismo. Este alerta desencadeia uma série de reações de adaptação, de ordem fisiológica, autonômica e motora, visando afastar o organismo da causa da agressão (Millan, 1999), desenvolvendo reações que tem por objetivo evitar ou reduzir os estímulos que a estejam causando, e como consequência limitar possíveis danos, além de auxiliar no processo de cura (Le Bars et al., 2001; Nesse e Schulkin, 2019; Santiago, 2022).

Embora a dor como componente protetor seja essencial para autopreservação dos organismos vivos, sua persistência pode causar danos, extrapolando sua função protetora. Estados dolorosos prolongados tornam-se patologias, comprometendo a qualidade de vida e promovendo impactos deletérios na saúde física, mental, social e econômica de seus portadores, tornando-se um problema de saúde pública (Hecke et al., 2013; Anastas et al., 2019). Assim, o contínuo investimento em pesquisas científicas que visam o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes se torna fundamental nesse contexto.

Diferentes tipos de dor como a dor nociceptiva, inflamatória ou neuropática resultam de mecanismos distintos. Alguns desses mecanismos são específicos de uma condição dolorosa e outros podem estar presentes concomitantemente ou podem ser expressos em momentos diferentes durante o desenvolvimento de uma síndrome dolorosa (Scholz e Woolf, 2002; Woolf, 2010). Por isso, o detalhamento dos mecanismos fisiopatológicos da dor é considerado importante para o desenvolvimento de terapêuticas mais específicas.

## **1.2 Tipos de dor e mecanismos fisiopatológicos**

### **1.2.1 Dor nociceptiva**

A dor nociceptiva, protetora e transitória, é importante no processo de prevenção e faz parte do sistema de proteção fisiológico, essencial para detectar e minimizar o contato com estímulos potencialmente nocivos. Pode ser desencadeada por estímulos como grandes alterações de temperatura e traumas mecânicos. O estímulo nocivo é captado na periferia por receptores específicos e posteriormente encaminhado para os centros superiores onde a informação será interpretada como dor (Basbaum et al., 2009). A seguir serão descritos o substrato anatômico e os mecanismos fisiológicos da dor nociceptiva (Figura 1).

Inicialmente, o estímulo nocivo é captado por fibras especializadas, os chamados nociceptores, encontrados na pele, mucosa, membranas, tecido conjuntivo de órgãos viscerais, ligamentos e cápsulas articulares, periósteo, músculos, tendões e vasos arteriais (Almeida et al., 2004). Esses receptores são terminações nervosas livres presentes em neurônios aferentes de primeira ordem (ou fibras aferentes primárias), e apresentam um limiar de ativação relativamente alto, sendo ativados apenas por estímulos intensos. Possuem propriedades biofísicas e moleculares que lhes permitem detectar seletivamente e responder a estímulos potencialmente prejudiciais, de natureza mecânica, química ou térmica (Cesare e McNaughton, 1997; Basbaum et al., 2009). Os neurônios aferentes primários possuem um ramo axonal periférico e

outro central, que inerva o órgão-alvo e a medula espinhal, respectivamente (Basbaum et al., 2009), estando seus corpos celulares localizados no gânglio da raiz dorsal (do inglês *dorsal root ganglion* – DRG).

Os estímulos nocivos promovem uma série de alterações eletrofisiológicas, gerando um potencial receptor e um potencial de ação, processo denominado transdução. As propriedades biofísicas dos canais iônicos determinam a excitabilidade dos nociceptores, uma vez que a abertura de canais para Na<sup>+</sup> resulta em despolarização e potencial de ação (Raouf et al., 2010). Esse potencial gerado periféricamente é transmitido pelas fibras aferentes primárias até a medula espinhal. A liberação de neurotransmissores por essas fibras irá ativar os neurônios de segunda ordem no corno dorsal da medula, que cruzam a medula para ascender pelo trato espinotalâmico. Ao projetar suas fibras ao tálamo, fazem sinapse com neurônios de terceira ordem. No tálamo, neurônios de terceira ordem transmitem a informação ao córtex somatossensorial, onde ocorre a percepção da dor. A via ascendente acima descrita representa a via clássica, mas existem outras possíveis, envolvendo estruturas anatômicas diferentes (Besson, 1999; Millan 1999).

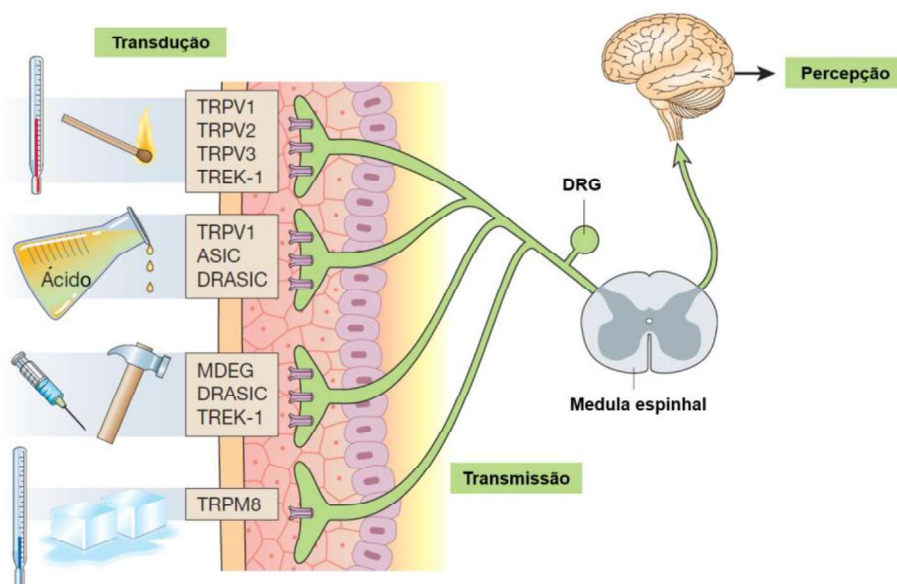


**Figura 1. Mecanismos fisiológicos da dor nociceptiva:** Estímulos nocivos são transduzidos em potencial de ação nos terminais periféricos de nociceptores de fibras C e Aδ por receptores específicos sensíveis a temperatura, estímulos mecânicos e químicos. Essa atividade é conduzida (transmissão) para a medula espinhal e, posteriormente, para vias centrais superiores, onde a informação será interpretada como dor (do inglês *dorsal root ganglion* – DRG; figura modificada de Scholz e Woolf, 2002).

As fibras do tipo A $\delta$  e C são as principais responsáveis pela condução do estímulo doloroso (Mense, 1983; Almeida et al., 2004; Dubin e Patapoutian, 2010). As fibras C, amielínicas e de condução lenta, são responsáveis pela propagação da dor lenta, difusa e que persiste mesmo após a remoção do estímulo. As fibras A $\delta$ , mielínicas, são responsáveis pela condução da dor rápida, aguda e pontual (Julius e Basbaum, 2001; Meyer et al., 2008).

Após serem transmitidas ao corno dorsal da medula espinhal, as informações nociceptivas estão sujeitas a um processamento por diversos mecanismos que podem inibir ou facilitar a passagem da informação nociceptiva para os centros superiores (Millan, 2002). Existem mecanismos de regulação ascendente e descendente da transmissão dos estímulos nociceptivos, determinando assim a intensidade da dor. A modulação ascendente age na transmissão periférica para o cérebro, já a descendente modula a transmissão no sentido contrário (Basbaum et al., 2009).

Melzack e Wall, em 1965, postularam a teoria chamada de “portão da dor”, sugerindo que fibras aferentes primárias e neurônios de projeção têm a capacidade de modular a sinalização nociceptiva antes que seja enviada aos centros supraespinhais. Tal modulação ocorre pela ativação das fibras táteis A $\beta$ , as quais, uma vez estimuladas, ativam interneurônios inibitórios presentes na substância gelatinosa do corno dorsal da medula espinhal, que, por sua vez, inibem a transmissão nociceptiva (Melzack e Wall, 1965). Posteriormente, Wall sugeriu o envolvimento de estruturas superiores na modulação endógena da dor, demonstrando que sua modulação não estava restrita à região dorsal da medula espinhal (Wall, 1967). Adicionalmente, Reynolds (1969) mostrou que a estimulação elétrica da substância cinzenta periaquedutal (PAG) foi capaz de induzir analgesia em animais submetidos a procedimentos cirúrgicos sem a necessidade de outro meio anestésico. Posteriormente foram descritas várias outras estruturas supraespinhais envolvidas na modulação da dor. Dentre elas podemos citar o hipotálamo, o núcleo rostral ventromedial, o núcleo parabraquial, o locus coeruleus, o núcleo do trato solitário e o núcleo reticular dorsal (Millan, 2002). Uma vez estimulados, esses sítios ativam as vias

descendentes modulatórias projetadas ao corno dorsal da medula espinhal, modulando a transmissão das fibras aferentes (Figura 2).

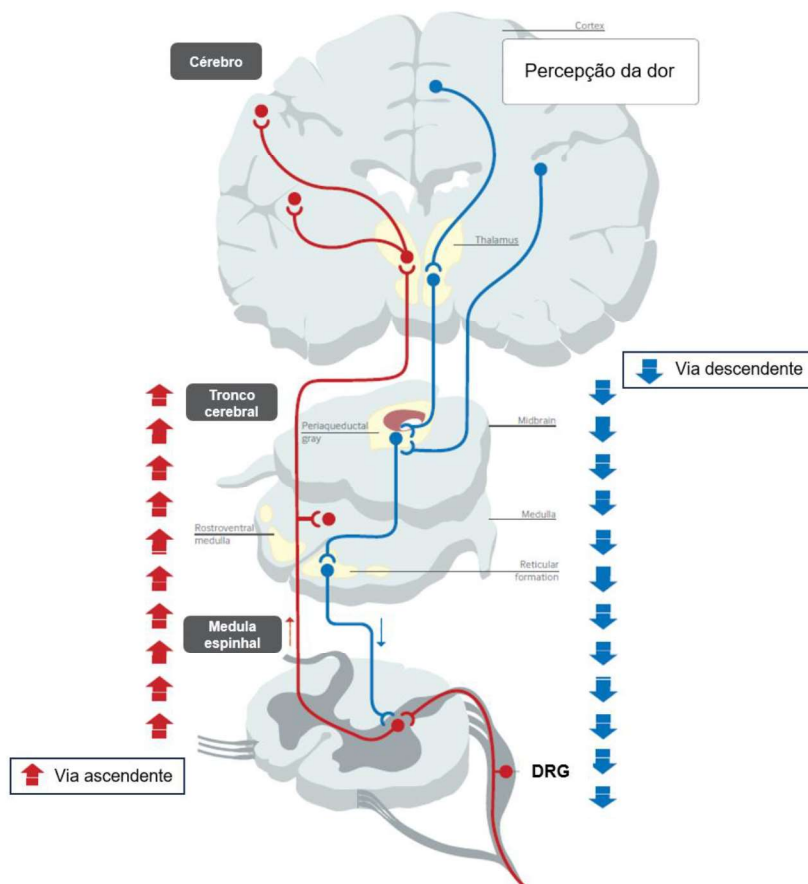


**Figura 2. Vias ascendente da dor e descendente modulatória:** Em vermelho = via ascendente da dor. Em azul = via descendente modulatória. A informação nociceptiva aferente entra na medula espinhal por meio dos neurônios aferentes primários cujos corpos celulares estão localizados no gânglio da raiz dorsal (DRG). Os neurônios de projeção de ordem secundária ascendem nos tratos espinotalâmicos e espinorreticulares contralaterais e retransmitem o sinal para centros corticais. Vias descendentes projetam-se da substância cinzenta periaquedutal (PAG) para o corno dorsal e modulam a transmissão da dor (modificado de Cohen e Mao, 2014).

### **1.2.2 Dor inflamatória**

A inflamação se configura como uma resposta tecidual desencadeada após algum tipo de injúria, seja de natureza química, térmica, mecânica ou biológica, que promove uma série de alterações fisiológicas, a fim de realizar o reparo dos tecidos danificados (Chandrasoma, 1998; Sherwood e Toliver-Kinsky, 2004). Algumas dessas alterações correspondem ao recrutamento de células de defesa (mastócitos, macrófagos e neutrófilos) e a liberação de mediadores inflamatórios. Estes mediadores (dentre os quais podemos citar as citocinas, aminas vasoativas, neuropeptídeos e prostanoídes) são provenientes, dentre outros, de células de defesa, terminais periféricos das fibras aferentes primárias, do plasma (Richardson e Vasko, 2002) e são responsáveis pelos principais sinais e sintomas que caracterizam a inflamação: calor, rubor, edema, perda de função e dor, foco do presente estudo.

A dor inflamatória se manifesta como dor espontânea ou hipersensibilidade. A dor espontânea ocorre pela ativação direta dos nociceptores por mediadores inflamatórios. Já a hipersensibilidade à dor é a consequência de alterações que ocorrem após o processo de transdução, tanto nos terminais periféricos quanto nos neurônios do corno dorsal (Woolf, 1983). Após algum tipo de injúria, seja mecânica ou devido à infecção, isquemia, crescimento tumoral ou processos autoimunes, ocorre uma série de alterações que promovem a diminuição do limiar de ativação dos nociceptores. Esse aumento na sensibilidade dos terminais periféricos no tecido inflamado é denominado sensibilização periférica (Figura 3) e contribui para a hipersensibilidade (Basbaum et al., 2009, Woolf, 2010). Estímulos que normalmente causariam dor leve agora provocam dor intensa (hiperalgesia) e sensações normalmente indolores agora promovem dor (alodínia). A hipersensibilidade à dor ajuda a proteger os tecidos lesionados de danos adicionais, auxiliando no processo de cura (Scholz e Woolf, 2002).

A liberação de mediadores inflamatórios, oriundos das células lesionadas e de células imunes, origina uma “sopa inflamatória” que contém citocinas pró-inflamatórias como a interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), fator de necrose

tumoral  $\alpha$  ( $\text{TNF}\alpha$ ), prostaglandina  $\text{E}_2$  ( $\text{PGE}_2$ ), bradicinina, fator de crescimento nervoso (do inglês *Nerve Growth Factor* - NGF), aminas, dentre outros (Julius e Basbaum, 2001; Scholz e Woolf, 2002; Richardson e Vasko, 2002) responsáveis por ativar ou modificar a resposta dos nociceptores.

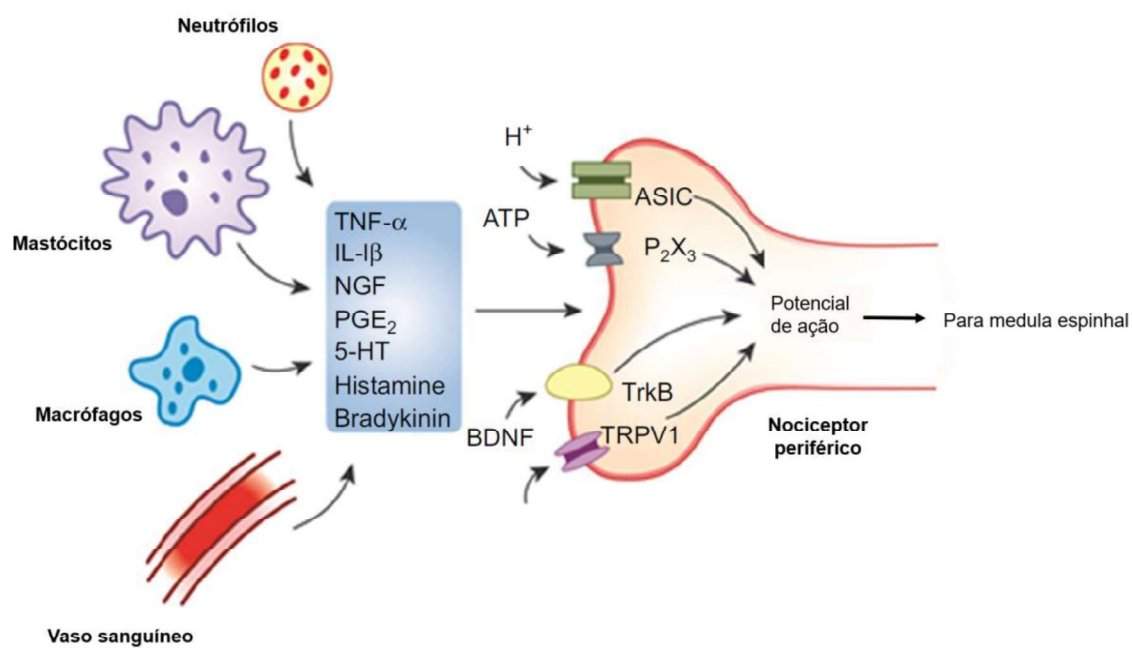


**Figura 3. Ativação do nociceptor e sensibilização periférica:** Células do tecido lesado e células de defesa liberam mediadores inflamatórios que criam uma 'sopa inflamatória' que ativa ou modifica as propriedades dos nociceptores, causando sensibilização periférica (modificado de Dureja et al., 2017).

Após ativação dos nociceptores, ocorre, no terminal axonal central das fibras aferentes primárias, a liberação de neurotransmissores e neuromoduladores como glutamato, Substância P (SP) e o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) e aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias responsáveis pelo processo de sensibilização central (Woolf, 1983; Figura 4). A sensibilização central é o aumento da atividade dos neurônios do corno dorsal da medula espinhal, após estímulos nocivos periféricos (Ji et al., 2003). O aumento da transmissão sináptica pelo aumento da excitabilidade neuronal diminui o limiar de dor. Após o início da sensibilização central, os neurônios sensoriais respondem aos estímulos inócuos abaixo do limiar de ativação e faz com que a dor se espalhe para regiões além do local danificado. Esse processo geralmente é reversível,

porém quando persistente pode levar a doença inflamatória crônica (Dureja et al., 2017).

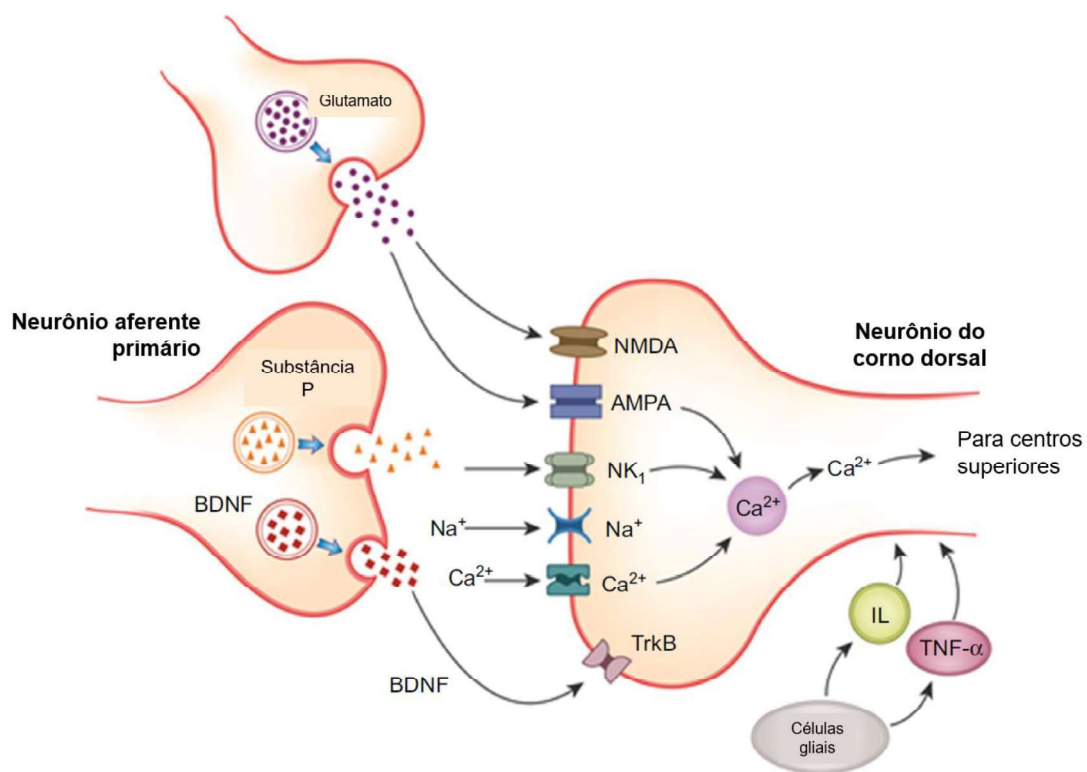


**Figura 4. Sensibilização central:** A liberação de neurotransmissores (substância P, Glutamato, fator neurotrófico derivado do cérebro - BDNF) no corno dorsal da medula espinhal promovem o aumento da excitabilidade e da transmissão sináptica caracterizando o processo de sensibilização central (modificado de Dureja et al., 2017).

Os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), incluindo aspirina, naproxeno e ibuprofeno, são os medicamentos mais comumente utilizados na clínica para o tratamento da dor inflamatória. Esses fármacos reduzem a produção dos prostanoídes, mediadores lipídicos fundamentais para a sensibilização periférica e central na dor inflamatória (Chen e Grosser, 2013).

### **1.2.3 Dor neuropática**

A dor neuropática é uma modalidade de dor crônica causada por lesão ou doença do sistema somatossensorial, seja em nível central ou periférico (Finnerup et al., 2020). Ao contrário da dor aguda, a dor crônica não confere função biológica protetora, pois pode estar dissociada de estímulos nocivos e persistir além do reparo e da cura do tecido. A dor neuropática pode ocorrer pelo resultado de lesões, compressão nervosa, infecção, doenças autoimunes, canalopatias ou intervenções cirúrgicas que levam a lesão dos nervos. Sua fisiopatologia envolve atividade ectópica das fibras nervosas danificadas e sensibilização periférica e central (Bannister et al., 2020). Nesse contexto, a dor não apresenta mais função adaptativa e protetora, mas se torna a própria doença.

Clinicamente, a dor neuropática ocorre de forma espontânea contínua ou intermitente, descrita como uma dor em queimação, pontadas, picadas, pressão ou congelamento (Bouhassira et al., 2004; Baron et al., 2010), causando alodinia e hiperalgesia. Além disso, como consequência da lesão do sistema nervoso, pode haver sensações como disestesia e parestesia e sensações referidas com presença de dor ou sensações não dolorosas em áreas desnervadas, provocadas pela estimulação de áreas adjacentes (Katz e Melzack, 1987; Finnerup et al., 2010).

A dor neuropática pode ser classificada de acordo com a doença que a desencadeia e é subdividida em periférica ou central com base na localização da lesão ou doença do sistema nervoso somatossensorial (Figura 5; Scholz et al., 2019). Como exemplo de dor neuropática periférica podemos citar a dor por lesão de nervo periférico, neuralgia pós-herpética, neuropatia diabética, dor no membro residual, radiculopatia dolorosa, além da dor neuropática trigeminal, um tipo específico de dor orofacial que afeta uma ou mais divisões do nervo trigêmeo (Cruccu et al., 2016; Finnerup et al., 2020). Apesar de ser classificada como uma dor neuropática periférica, a lesão, nos casos de neuralgia trigeminal, geralmente está localizada onde a mielina é produzida principalmente por oligodendrócitos do SNC e também no tronco cerebral,

sendo, portanto, por vezes uma condição de dor central (Love et al., 1998; Peker et al., 2006; Guclu et al., 2011). Acredita-se que a causa da neuralgia trigeminal seja uma compressão vascular da raiz do nervo trigêmeo resultando em alterações morfológicas como desmielinização, danos axonais e atrofia do nervo (Devor et al., 2002; Antonini et al., 2014; Hung et al., 2017). Em relação as neuropatias de origem central as condições mais comuns são originadas por lesão da medula espinhal, acidente vascular cerebral e esclerose múltipla (Österberg et al., 2005; O'Donnell et al., 2013; Finnerup et al., 2016).

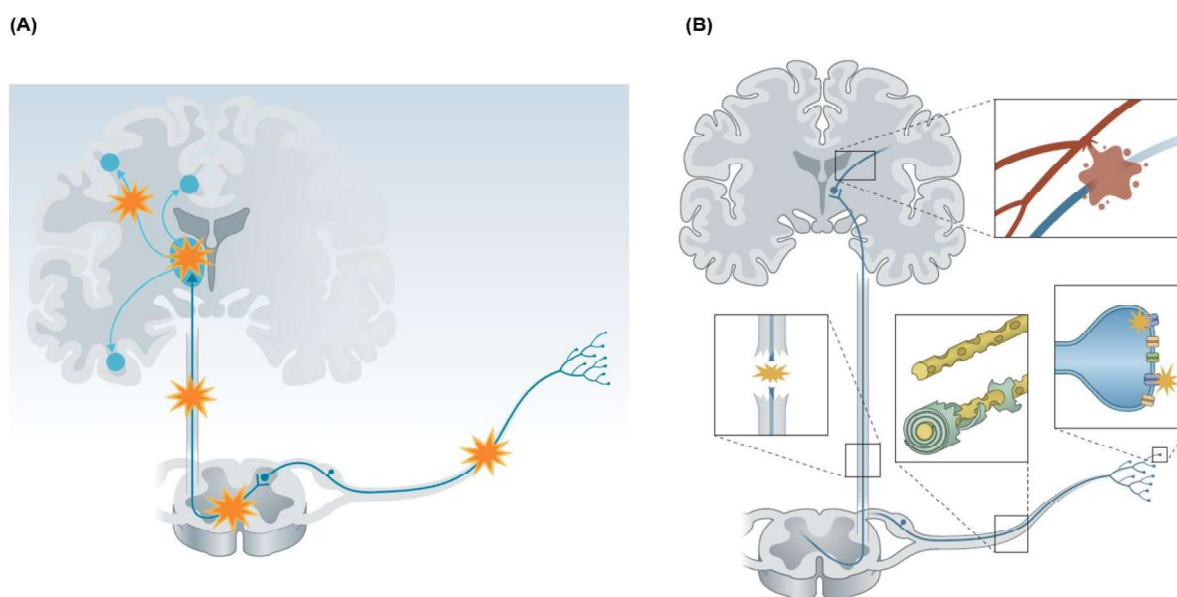


**Figura 5. Mecanismos fisiopatológicos da dor neuropática: (A)** A dor neuropática ocorre devido a lesão ou doença do sistema nervoso, podendo acometer tanto os nervos periféricos, quanto os ramos centrais. **(B)** No nociceptor, pode ocorrer alterações nos receptores e canais iônicos. Ao longo do nervo periférico, diferentes tipos de lesões podem danificar todo o nervo ou seletivamente os axônios ou a mielina. No SNC, lesões da medula espinhal podem levar à dor neuropática central. No cérebro, lesões como acidente vascular cerebral, hemorragias ou placas de esclerose múltipla no tronco cerebral, tálamo ou estruturas subcortais podem levar à dor neuropática central (modificado de Finnerup et al., 2020).

Dentre os mecanismos que resultam na dor neuropática destaca-se o processo de sensibilização. Após a ocorrência da injúria tecidual, a inflamação promove um estado hiperexcitável. Seguindo o curso normal, a inflamação diminui levando ao processo de cura. Entretanto, quando a nocicepção persiste devido à estimulação repetida ou doença (por exemplo, a diabetes), as alterações nos neurônios aferentes primários podem persistir, levando ao estado de sensibilização periférica (Jang e Garraway, 2024).

Mediadores inflamatórios, como CGRP e SP, liberados dos terminais aferentes, aumentam a permeabilidade vascular, causando edema e passagem de mediadores inflamatórios, como prostaglandinas, bradicinina, fatores de crescimento e citocinas. Essas substâncias podem sensibilizar os nociceptores, resultando na diminuição do limiar de excitabilidade e disparos de impulsos elétricos de forma espontânea. Outro fator que contribui para o disparo espontâneo das fibras nervosas é o aumento da expressão dos canais para  $\text{Na}^+$  (Kocsis e Waxman, 1987; Devor et al., 1989; Devor, 2006), juntamente com a diminuição da atividade dos canais para  $\text{K}^+$  (Tsantoulas e McMahon, 2014).

No terminal axônico central há um aumento da expressão e atividade dos canais para  $\text{Ca}^{2+}$ , o que resulta em aumento da liberação de neurotransmissores excitatórios (Patel e Dickenson, 2016; Bannister et al., 2020). Os neurônios de segunda ordem que ascendem para as vias centrais superiores apresentam projeções adicionais para o sistema límbico, o que pode estar relacionado a episódios de ansiedade, depressão e problemas de sono associados à dor crônica (Romanelli e Esposito, 2004).

Em relação à terapia farmacológica utilizada para o controle da dor neuropática os medicamentos mais comumente recomendados são os antidepressivos tricíclicos e inibidores de recaptação de serotonina e noradrenalina (duloxetina e venlafaxina), além dos anticonvulsivantes gabapentina e pregabalina. Fármacos de uso tópico como capsaicina e lidocaína, além de injeções subcutâneas de toxina botulínica do tipo A, são recomendados em casos de dor neuropática periférica (Finnerup et al., 2015). Outra classe de medicamentos frequentemente prescrita são os analgésicos opioides, principalmente os atípicos como metadona e o tramadol. Em relação a dor neuropática trigeminal os fármacos de escolha são os bloqueadores de canais para  $\text{Na}^+$ , como a carbamazepina (Cruccu et al., 2008). Apesar de evidências do efeito desses medicamentos, eles não apresentam eficácia suficientemente boa, além de estarem associados a efeitos adversos graves. Dessa forma, o contínuo avanço na busca de terapêuticas mais eficazes se torna imprescindível.

## 1.3 Dopamina

### 1.3.1 Dopamina e suas funções

A dopamina (DA) é um neurotransmissor abundante no Sistema Nervoso Central (SNC) pertencente à família das catecolaminas, juntamente com a noradrenalina e adrenalina. Inicialmente, acreditava-se que a DA seria apenas um precursor das outras catecolaminas. Em meados de 1957, o farmacologista Arvid Carlsson descreveu pela primeira vez a DA como neurotransmissor, demonstrando seu importante papel em atividades regulatórias em nível central (Carlsson et al., 1957). Carlsson desenvolveu ensaios para medir a DA no cérebro e descobriu que sua maior concentração era encontrada nos gânglios da base. Essa descoberta levou a experimentos que mostraram que redução nos níveis de DA causava perda no controle do movimento. Esses sintomas eram semelhantes aos observados na Doença de Parkinson (DP) (Carlsson, 1971; 1988). Posteriormente, descobriu-se que a L-dopa, um precursor de DA, era eficaz no tratamento dos sintomas da DP, sendo até os dias atuais, um dos pilares para o tratamento medicamentoso dessa doença (Yeragani et al., 2010; Latif et al., 2021). Além de sua importância no controle do movimento, o sistema dopaminérgico desempenha papel fundamental em vários processos fisiológicos e comportamentais, e sua disfunção está associada a distúrbios neurológicos e psiquiátricos. Por exemplo, a hiperatividade do sistema dopaminérgico está relacionada à esquizofrenia (Seeman, 2006; Seeman et al., 2007; Weinstein et al., 2017).

Ainda em nível central, a DA induz seus efeitos através de quatro vias (Figura 6). Na via nigroestriatal, ela está envolvida na geração de movimentos voluntários, modulando os sistemas de neurotransmissão implicados no controle motor. Na via mesolímbica, ela participa do controle das funções comportamentais, como a atenção, emoção e o sistema de recompensa, estando implicada também na dependência a drogas ou ao álcool (Hantraye, 1998). Os neurônios dopaminérgicos do sistema mesocortical originam-se na área tegmental ventral e projetam-se para regiões do córtex cerebral, particularmente o córtex pré-frontal. Como o córtex pré-frontal é responsável

pela atenção, planejamento e comportamento motivado, acredita-se que esse sistema desempenha um papel nos sintomas negativos da esquizofrenia (Björklund e Dunnett, 2007). O sistema túbero-hipofisário (ou tuberoinfundibular) encontra-se envolvido no controle da secreção de hormônios hipofisários, especialmente na inibição da liberação de prolactina pelos lactótrofos da hipófise (Macleod e Lehmeyer, 1974). Neste contexto, perturbações no sistema dopaminérgico estão relacionadas a patologias como a DP, Síndrome de Tourette, hiperprolactinemia e a transtornos do processo mental como a esquizofrenia.

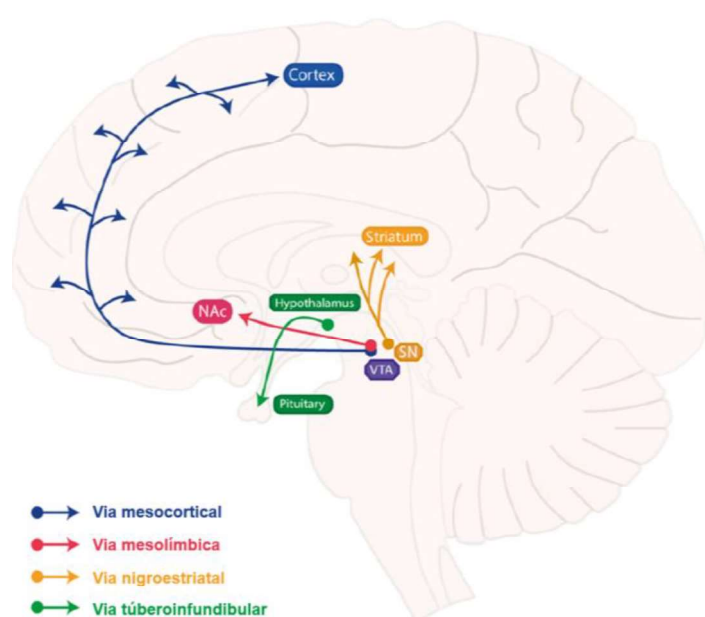


**Figura 6. Vias dopaminérgicas no sistema nervoso central (modificado de Klein et al., 2019).**

Em nível periférico, a DA é um importante regulador da pressão arterial sistêmica por meio de múltiplos mecanismos (Goldberg, 1972; Goldberg et al., 1978; Ricci et al., 2001; Kumar et al., 2019). Além disso, apresenta funções no sistema gastrointestinal (Willems et al., 1985) e renal (McDonald et al., 1964; Aguilera e Catt, 1984; Aperia 2000). Na retina, a liberação de DA aumenta a sensibilidade a cor e ao contraste (Hampson et al., 1992). A DA também está envolvida na náusea (Nakagawa et al., 2008), regulação do olfato, regulação hormonal, regulação simpática, entre outros (Snider e Kuchel, 1983; Missale et al., 1998; Fuziwara et al., 2005; Sotomayor et al., 2014).

Adicionalmente, estudos têm mostrado que a DA atua como importante regulador da função imunológica. A presença de receptores dopaminérgicos e outras proteínas relacionadas a sua neurotransmissão em células imunes sugere uma função importante dessa amina na imunorregulação em nível central e periférico (Nakano et al., 2009a; Nakano et al., 2009b; Pacheco et al., 2009; Sarkar et al., 2010; Matt e Gaskill, 2020).

### **1.3.2 Neurotransmissão dopaminérgica**

A DA é sintetizada a partir do aminoácido tirosina, em sua maior parte obtido da dieta, e em pequena quantidade, produzido no fígado a partir da fenilalanina. A primeira etapa da síntese de DA é a conversão de tirosina em L-dopa, pela ação da enzima tirosina hidroxilase (TH). Em seguida a L-dopa é convertida em DA pela enzima dopa-descarboxilase (DDC) (Guiard e Gotti, 2024). Após sintetizada, o transportador de monoaminas vesicular (VMAT) é responsável pelo transporte de DA para dentro da vesícula. Com a estimulação da célula nervosa, as vesículas de armazenamento de DA fundem-se a membrana plasmática, liberando DA na fenda sináptica (Goldstein et al., 2003; Schmitz et al., 2003). Parte da DA liberada é transportada de volta à célula pré-sináptica pelo transportador de DA (DAT) (Ross, 1991). O principal metabólito da degradação de DA é o ácido homovanílico (HVA). DA pode ser catalisada pela enzima monoamina oxidase (MAO) em ácido 3,4-di-hidroxifenilacético (DOPAC), sequencialmente a enzima catecolamina-O-metil-transferase (COMT) transforma DOPAC em HVA. Outra via possível de degradação dessa monoamina é seu catabolismo, através da enzima COMT, em 3-metoxitriptamina (3-MT), posteriormente degradado em HVA pela enzima MAO (Figura 7) (Garrick e Murphy, 1981; Meiser et al., 2013).

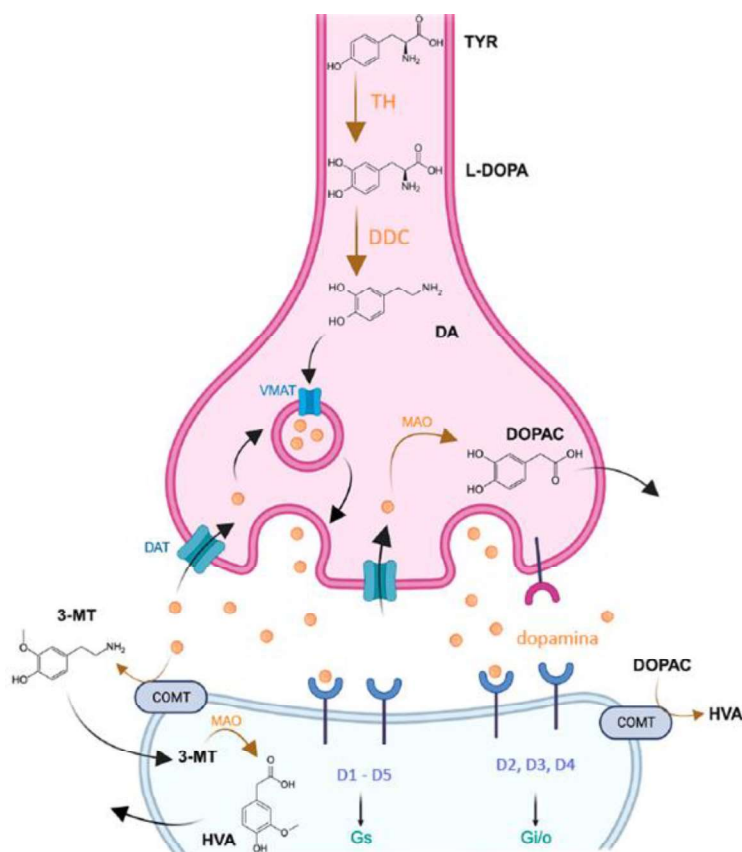


**Figura 7. Neurotransmissão dopaminérgica:** A enzima tirosina hidroxilase (TH) é responsável pela conversão do aminoácido tirosina (TYR) em L-dopa. Em seguida, L-dopa é metabolizada em dopamina (DA) pela enzima dopa descarboxilase (DDC). Após sua síntese, DA é armazenada em vesículas pelo transportador de monoaminas vesicular (VMAT). Com estimulação da célula nervosa, a DA é liberada na fenda sináptica, onde pode estimular receptores dopaminérgicos pós-sinápticos e auto-receptores pré-sinápticos. A DA é recaptada da fenda sináptica pelo transportador de dopamina (DAT) e armazenada novamente em vesículas ou metabolizada pela ação das enzimas monoamina oxidase (MAO) e catecol-O-metiltransferase (COMT) em 3,4-di-hidroxifenilacético (DOPAC) ou 3-metoxitriptamina (3-MT) e, posteriormente, em ácido homovanílico (HVA). Modificado de Guiard e Gotti, 2024.

### 1.3.3 Receptores de dopamina

Sob o ponto de vista molecular e farmacológico, os receptores dopaminérgicos são divididos em duas famílias distintas, de acordo com seu efeito sobre a formação de monofosfato cíclico de adenosina (AMPC) (Figura 8). São descritos 5 tipos de receptores (D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>, D<sub>4</sub> e D<sub>5</sub>), todos acoplados à proteína G. Os receptores D<sub>1</sub> e D<sub>5</sub> estão localizados em células pós-sinápticas, enquanto D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub> podem ser localizados tanto pós quanto pré-sinápticamente (Beaulieu e Gainetdinov, 2011). Os receptores D<sub>1</sub> e D<sub>5</sub> pertencem a família de receptores do tipo D<sub>1</sub>, e ligam-se à proteína Gs causando estimulação da enzima adenilato ciclase (AC), aumentando assim os níveis de AMPC

intracelular. Os receptores D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> e D<sub>4</sub> pertencem a família dos receptores do tipo D<sub>2</sub>, que se ligam a proteína Gi/G<sub>0</sub> e ativam os canais para K<sup>+</sup>, assim como inibem os canais para Ca<sup>2+</sup> e a AC, reduzindo os níveis de AMPc intracelular (Cools e Van Rossum, 1976; Keibadian e Calne, 1979). Assim, refletindo sobre a influência destes receptores em relação a excitabilidade celular, a ativação dos receptores D<sub>2</sub> inibe, enquanto a ativação dos receptores D<sub>1</sub> aumenta a atividade neuronal (Missale et al., 1998; Vallone et al., 2000).

Ensaio de ligação mostraram diferenças na afinidade da DA para receptores da família D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub>. Os receptores D<sub>2</sub> têm de 10 a 100 vezes mais afinidade que os receptores do tipo D<sub>1</sub>. Assim, os receptores da família D<sub>1</sub> são ativados apenas na presença de altas concentrações de DA, enquanto que baixos níveis de DA seriam responsáveis por ativar os receptores da família D<sub>2</sub> (Missale et al., 1998; Beaulieu e Gainetdinov, 2011; Tritsch e Sabatini, 2012; Baik, 2013).

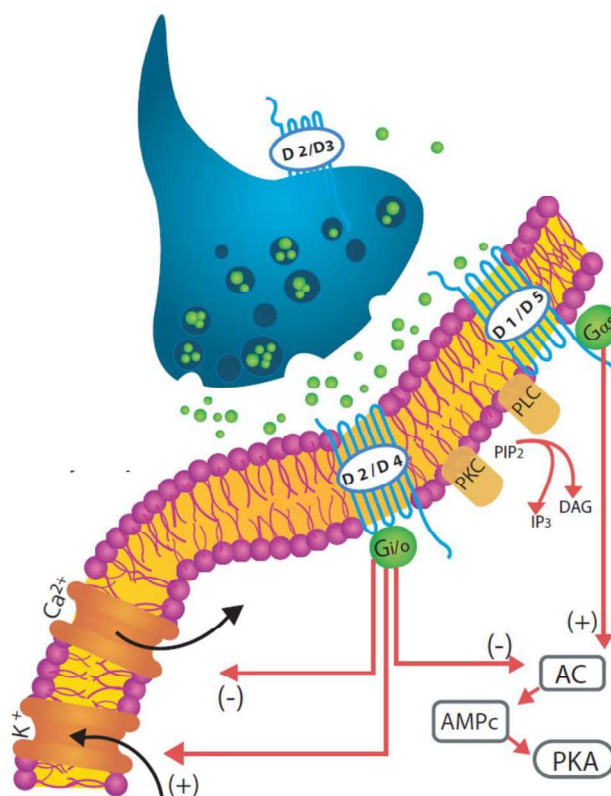


**Figura 8. Sinalização intracelular dos receptores dopaminérgicos:** Os receptores de dopamina D<sub>1</sub> e D<sub>5</sub> são pós-sinápticos e ativam proteína Gs, estimulando a adenilato ciclase (AC) que aumenta os níveis de monofosfato cíclico de adenosina (AMPc) ativando assim a proteína quinase A (PKA). Os receptores de dopamina D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> e D<sub>4</sub> ativam a proteína Gi que inibe a AC e os canais para Ca<sup>2+</sup>, bem como ativa canais para K<sup>+</sup>. D<sub>3</sub> é localizado pré-sinápticamente, D<sub>4</sub> pós-sinápticamente e D<sub>2</sub> pré e pós-sinápticamente (modificado de Pellicer et al., 2009).

### **1.3.4 Dopamina e a modulação da dor**

As primeiras evidências do envolvimento da DA na modulação da dor foram relatadas por Dennis e Melzack (1983) em um estudo que avaliou o efeito do agonista dopaminérgico apomorfina na antinocicepção opioidérgica em diferentes modelos de avaliação de dor. Estudos posteriores mostraram a participação do sistema dopaminérgico no controle da dor em diferentes regiões em nível central (Wood, 2008; Yazdi-Ravandi et al., 2014). Em modelo de dor neuropática, Cobacho e colaboradores (2010; 2014) demonstraram que mecanismos dopaminérgicos podem modular a nocicepção e percepção da dor crônica.

Em relação a modulação da dor, a DA apresenta um efeito dual que varia de acordo com sua concentração e o tipo de receptor ativado (Paulus e Trenkwalder, 2006; Benarroch, 2008). Em geral, sua capacidade analgésica ocorre como resultado da ativação de receptores da família D2. Um estudo mostrou que a estimulação dos neurônios A11 do hipotálamo posterior periventricular (principal fonte de inervação dopaminérgica descendente do corno dorsal da medula espinhal) levou à redução de sensações dolorosas, através da ativação de receptores D2 (Fleetwood-Walker et al., 1988). A administração de agonistas seletivos para tais receptores foi implicada na analgesia em modelo de dor utilizando o teste da placa quente e hiperalgesia induzida por formalina (Morgan e Franklin, 1991; Altier e Stewart, 1999; Magnusson e Fisher, 2000). Sugere-se que a indução de antinocicepção via receptores D2 se dá por sua ação inibitória direta em terminais de fibras aferentes primárias ou neurônios de projeção, consistente com a influência inibitória dos receptores D2 sobre a excitabilidade neuronal mediada via inibição da enzima AC, supressão de correntes de  $Ca^{2+}$  e ativação de canais para  $K^{+}$  (Missale et al., 2000; Vallone et al., 2000; Millan, 2002).

Diferentemente, os receptores da família D1 estão relacionados a atividade hiperalgésica. Kim e colaboradores demonstraram o papel dos neurônios dopaminérgicos descendentes na manutenção da plasticidade da dor patológica mediada por receptores D1/D5 (Kim et al., 2015).

Periféricamente, Queiroz e colaboradores avaliaram o efeito dual do sistema dopaminérgico e demonstraram que, quando ativados, os receptores da família D2 promovem antinocicepção, revertendo a dor induzida por Prostaglandina E<sub>2</sub>, enquanto que os receptores da família D1 medeiam o efeito hiperalgésico de altas doses de DA (Queiroz et al., 2022).

Além de sua atividade direta, outro mecanismo atribuído ao sistema dopaminérgico na modulação da dor se dá pela interação com sistemas analgésicos. Tobaldini et al. (2017) demonstraram que o efeito analgésico induzido pela ativação de receptores  $\mu$ -opioides na Substância Cinzenta Periaquedutal (PAG) depende, ao menos em parte, da ativação de receptores dopaminérgicos. Semelhante à interação com o sistema opioide, um estudo feito por nosso grupo de pesquisa mostrou que a antinocicepção periférica induzida pela administração de DA é dependente da ativação de receptores canabinoides CB<sub>1</sub> e CB<sub>2</sub>, com envolvimento do endocanabinoide 2-AG (Queiroz et al., 2025).

Tomados em conjunto, esses dados apontam para um importante papel do sistema dopaminérgico na modulação da dor, porém estudos adicionais são necessários para o detalhamento dos mecanismos, bem como a avaliação da atividade endógena periférica da DA na modulação de diferentes tipos de dor.

***Justificativa***

---

---

## 2. JUSTIFICATIVA

A dor afeta milhões de indivíduos e torna-se o foco primário de atenção podendo comprometer grande parte das atividades diárias, sendo responsável por altas taxas de comorbidades. É um problema de saúde pública, pela prevalência, alto custo e impacto negativo que pode causar na qualidade de vida dos pacientes e de suas famílias (Paiva et al., 2006; Salvetti e Pimenta, 2007). Além disso, estudos demonstram que pacientes com dor persistente apresentam maior chance de desenvolver outros tipos de patologia, como por exemplo a depressão (Baune et al., 2008). Tendo em vista que o tratamento analgésico pode ser responsável por uma significativa melhora na qualidade de vida e no auxílio ao retorno rápido das funções fisiológicas, entender os mecanismos relacionados à fisiopatologia da dor é a via mais promissora para o desenvolvimento de terapêuticas mais eficazes. A possibilidade terapêutica de modulação dos processos dolorosos em nível periférico através de ativação das vias endógenas poderia fornecer uma nova ferramenta para o controle não só da dor inflamatória, mas para outros tipos de dor refratárias aos tratamentos convencionais, como a dor neuropática.

## ***Objetivos***

---

---

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivos Gerais**

Investigar a participação da dopamina (DA) e dos receptores dopaminérgicos no evento de modulação endógena periférica da dor de origem inflamatória, elucidando quais mediadores inflamatórios podem estar envolvidos na deflagração desta modulação. Em seguida, avaliar a participação do sistema dopaminérgico na modulação endógena da dor de origem neuropática. Adicionalmente, avaliar se a dopamina endógena e quais receptores dopaminérgicos participam da antinocicepção de opioides e canabinoides.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- I. Avaliar se a DA endógena promove modulação da dor inflamatória induzida por CG.
- II. Avaliar quais mediadores inflamatórios liberados na cascata de CG (TNF- $\alpha$ , CXCL-1, IL-1 $\beta$ , PGE<sub>2</sub> e NA) são capazes de deflagrar a ativação do sistema dopaminérgico para modulação endógena periférica da dor.
- III. Verificar quais receptores dopaminérgicos são ativados durante o processo de modulação endógena da dor induzida por CG e pelos mediadores inflamatórios através da utilização de antagonistas seletivos para tais receptores.
- IV. Avaliar a participação do sistema dopaminérgico na modulação da dor de origem neuropática no modelo de constrição do nervo ciático e quais receptores dopaminérgicos são ativados durante esse evento.
- V. Estudar a expressão e localização dos receptores dopaminérgicos periféricamente após indução de dor inflamatória (por CG) e neuropática.
- VI. Avaliar a participação do sistema dopaminérgico na antinocicepção induzida por opioides.
- VII. Avaliar a participação do sistema dopaminérgico na antinocicepção induzida por canabinoides.

## ***Materiais e métodos***

---

---

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Animais

Para este estudo foram utilizados camundongos Swiss machos pesando entre 30 e 40 g (10-12 semanas), provenientes do Centro de Bioterismo do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (CEBIO-ICB/UFMG). Os animais foram alojados em caixas plásticas com cama de forragem, mantidos em temperatura controlada ( $23 \pm 1^\circ\text{C}$ ) e ciclo claro e escuro de 12 horas (6-18h), com livre acesso à água e à ração. Após a realização dos experimentos os animais foram eutanasiados pela administração de dose letal de anestésico (quetamina 300 mg/Kg e xilazina 15 mg/Kg) por via intraperitoneal (i.p.). Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) sob protocolo 129/2021 (Anexo I).

#### 4.1.1 Planejamento estatístico do *n* amostral

Para o cálculo estatístico do *n* amostral foi utilizada a seguinte fórmula (Sampaio, 2015):

$$n = \frac{2 \cdot \sigma^2 \cdot (Z_\beta + Z_\alpha)^2}{E^2}$$

*n* = número amostral

$\sigma$  = desvio padrão

$Z_\beta$  = poder de teste de 80%

$Z_\alpha$  = nível de significância alfa = 0,05

*E* = erro absoluto

Assume-se para o teste de hipóteses:

$$H_0: \mu_0 = \mu_1$$

$$H_1: \mu_0 < \mu_1$$

Logo, a distribuição é unicaudal à direita. Assumindo um poder de teste de 80% ( $Z_\beta = 0,84$ ) e nível de significância alfa = 0,05 ( $Z_\alpha = 1,64$ ), derivou-se os

tamanhos amostrais para os grupos, considerando grupos de mesmo tamanho, porém amostras não pareadas (razão = 1). A margem de erro E foi assumida como sendo 20 g, um consenso entre experimentadores experientes que realizam a técnica rotineiramente. A partir de estudos pilotos prévios, o desvio padrão das médias foi calculado como sendo igual a 12,688 g.

$$\sigma = 12,688$$

$$Z_{\beta} = 0,84$$

$$Z_{\alpha} = 1,64$$

$$E = 20$$

Assim:

$$n = \frac{2 \cdot (12,688)^2 \cdot (0,84 + 1,64)^2}{20^2}$$

$$n = 4,95 \text{ (arredondamento para } n=5)$$

É importante ressaltar que os valores de confiabilidade e de erro absoluto foram selecionados de modo a atender os parâmetros estatísticos, sem, entretanto, permitir que o valor do n amostral se apresentasse desnecessariamente elevado.

## 4.2 Drogas e solventes

Todos os fármacos foram administrados por via subcutânea intraplantar (i.pl.) na pata posterior direita (Figura 9), exceto para os testes de exclusão do efeito sistêmico em que a administração de carragenina foi feita nas duas patas posteriores. Cada fármaco foi administrado em solução com volume de 20  $\mu$ L/pata, com auxílio de agulhas de insulina BD Ultra-Fine® (calibre 30G). As doses e os tempos de administração dos fármacos foram retirados de dados da literatura (Romero et al., 2012; Romero et al., 2013; Quintão et al., 2021; Queiroz et al., 2022; Gonzaga et al., 2024) e experimentos pilotos. Para os grupos controles, os veículos dos fármacos foram administrados em mesmo volume em seus respectivos tempos.



**Figura 9. Via de administração dos fármacos:** Os fármacos foram administrados na pata posterior direita dos animais, por via subcutânea intraplantar (ipl.), em volume de 20  $\mu$ L.

### 4.2.1 Agentes hiperalgésicos

Para avaliar o envolvimento do sistema dopaminérgico na modulação periférica da dor de origem inflamatória a indução da hiperalgesia foi realizada inicialmente pela administração intraplantar de carragenina (CG). Sabendo que a CG promove a liberação em cascata de uma série de mediadores inflamatórios (Cunha et al., 2005; Figura 10), os mesmos também foram utilizados para indução da dor inflamatória.

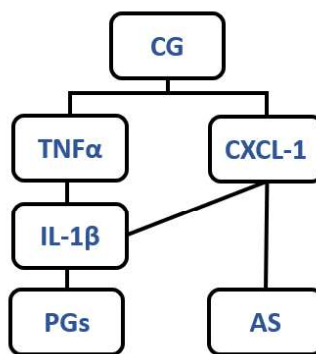


**Figura 10. Diagrama representativo da cascata de mediadores inflamatórios induzidos pela administração de CG em camundongos:** É mostrada a liberação sequencial de mediadores inflamatórios iniciados por carragenina (CG), intermediados por citocinas (TNF $\alpha$ , CXCL-1 e IL-1 $\beta$ ) e a indução final de sensibilização dos nociceptores por prostaglandinas (PGs) e aminas simpatomiméticas (AS), representadas em nosso estudo pela noradrenalina (modificado de Cunha et al., 2005).

- Carragenina (CG)  $\lambda$  tipo IV dissolvida em solução salina (NaCl 0,9%) – 100 e 200  $\mu$ g/pata.
  - Fator de necrose tumoral-alfa (TNF $\alpha$ ) dissolvido em salina – 0,1 e 10 ng/pata.
  - CXCL-1 dissolvida em salina – 0,01 e 10 ng/pata.
  - Interleucina 1- $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) dissolvida em salina – 0,1 e 100 pg/pata.
  - Prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) dissolvida em etanol e diluída em salina obtendo-se a concentração de etanol 10% em salina – 1 e 2  $\mu$ g/pata.
  - Noradrenalina (NA) dissolvida em salina – 62,5 e 250 ng/pata.
- Todos os fármacos supracitados são da Sigma (EUA).

#### 4.2.2 Fármacos da via dopaminérgica

- GBR 12783 (inibidor da recaptação de dopamina) dissolvido em salina – 4, 8 e 16  $\mu$ g/pata.
- Nitecapona (Nit; inibidor da enzima COMT que degrada dopamina) dissolvido em Dimetilsulfóxido (DMSO) e diluído em salina, obtendo-se a concentração de DMSO 4% em salina – 2,5, 5 e 10  $\mu$ g/pata.
- Remoxiprida (Remo; antagonista de receptores D<sub>2</sub>) dissolvido em salina – 4  $\mu$ g/pata.

- U 99194 (antagonista de receptores D<sub>3</sub>) dissolvido em salina – 16 µg/pata.
- L-745,870 (antagonista de receptores D<sub>4</sub>) dissolvido em salina – 16 µg/pata.

Todos os fármacos citados acima são da Tocris (EUA).

#### **4.2.3 Fármacos do sistema opioide**

- DAMGO (Sigma), agonista de receptores µ-opioides, dissolvido em salina – 0,25 e 1 µg/pata.
- SNC 80 (Tocris), agonista de receptores δ-opioides, dissolvido em DMSO e diluído em salina obtendo-se a concentração de DMSO 10% em salina – 5 e 20 µg/pata.
- Bremazocina (RBI, EUA), agonista de receptores κ-opioides, dissolvida em salina – 200 e 600 ng/pata.

#### **4.2.4 Fármacos do sistema canabinoide**

- Anandamida (AEA; Tocris), agonista de receptores CB<sub>1</sub>, dissolvida em Tocrisolve e diluída em salina obtendo-se a concentração de Tocrisolve 10% em salina – 12,5 ng/pata.
- 2-Arachidonoilglicerol (2-AG; Cayman, EUA), agonista de receptores CB<sub>1</sub> e CB<sub>2</sub>, dissolvido em salina – 10 e 20 µg/pata.

### 4.3 Teste de retirada de pata

Para mensuração do limiar nociceptivo mecânico foi utilizado o método de retirada de pata submetida a compressão (Randall e Selitto, 1957; Kawabata et al., 1992). As medidas foram feitas utilizando o aparelho de analgesímetro (Ugo-Basile, Itália). No teste, o camundongo é mantido em decúbito ventral sobre a bancada e a pata sob teste é colocada, por sua face plantar, à parte compressora do aparelho, a qual consiste em uma superfície cônica com área de 1,75 mm<sup>2</sup> na extremidade. O experimentador, ao acionar o pedal, faz com que a superfície compressora do aparelho promova à pata do animal uma pressão uniformemente crescente (gramas/segundo). O pedal é continuamente acionado até ser induzido o reflexo de retirada. Esse reflexo é caracterizado pela retirada de um membro do corpo frente a estímulos dolorosos e ocorre devido à integração, na medula, de neurônios nociceptivos com neurônios motores, por meio de interneurônios, que podem gerar contração de músculos flexores ou relaxamento de músculos extensores. A Figura 11 mostra o método utilizado para mensuração do limiar nociceptivo.



**Figura 11. Teste algesimétrico de mensuração do limiar nociceptivo mecânico da pata de camundongos.**

Ao observar a resposta nociceptiva, o experimentador desaciona o pedal, interrompendo o funcionamento do aparelho. O estímulo mínimo responsável por promover o reflexo de retirada da pata (valor em gramas, expresso na régua do aparelho) corresponde ao limiar nociceptivo. O valor de limiar considerado é obtido pela média aritmética de três medidas consecutivas. Um valor de corte de 150 g é utilizado para evitar danos à pata dos animais. É importante ressaltar que os animais foram ambientalizados ao aparelho e à sala de experimentação, por dois dias antes do teste, sendo submetidos a mesma situação vivenciada no dia do experimento.

## 4.4 Protocolo experimental

### 4.4.1 Carragenina e mediadores inflamatórios

Para verificar a participação da dopamina (DA) endógena no evento de modulação periférica da dor inflamatória e o momento em que ela seria recrutada para realizar tal modulação, o primeiro experimento foi realizado na primeira, segunda e terceira hora de efeito do agente hiperalgésico carragenina (CG; 200  $\mu$ g/pata). GBR 12783 (inibidor da recaptação de DA) foi administrado 40 minutos antes da primeira, segunda ou terceira hora de CG, em diferentes grupos. A medida do limiar nociceptivo foi realizada em 60, 120 e 180 min, através do teste de retirada de pata (Figura 12).

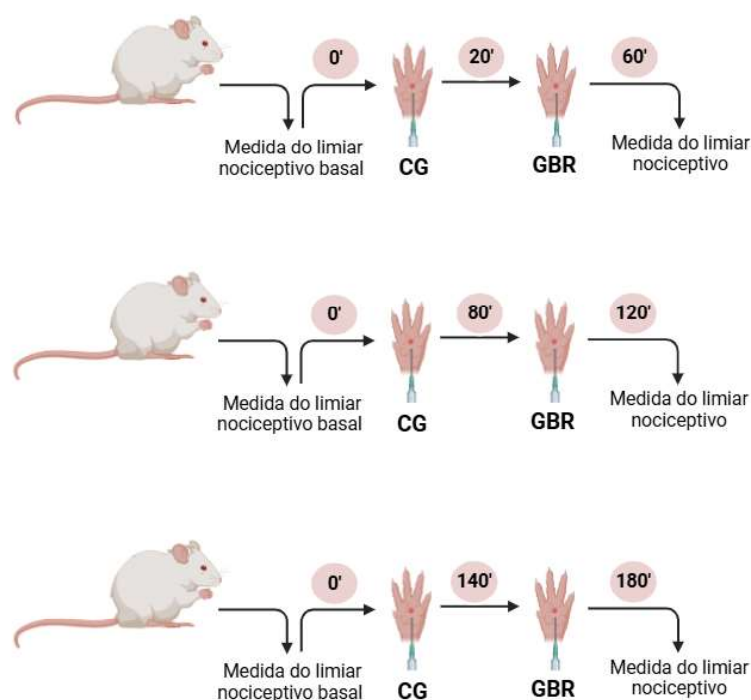


**Figura 12.** Protocolo experimental para avaliação do inibidor da recaptação de DA (GBR 12783) frente a hiperalgesia induzida por carragenina (CG).

Com bases nos resultados obtidos, os experimentos subsequentes foram realizados na segunda hora de efeito (120 min) de CG e dos mediadores inflamatórios, exceto para NA que apresenta seu pico de ação em 5 minutos. Os inibidores de recaptação e degradação de DA foram administrados em 80 e 75 min, respectivamente, após administração de CG ou dos mediadores inflamatórios e a medida do limiar nociceptivo foi mensurada em 120 min (Figura 13).

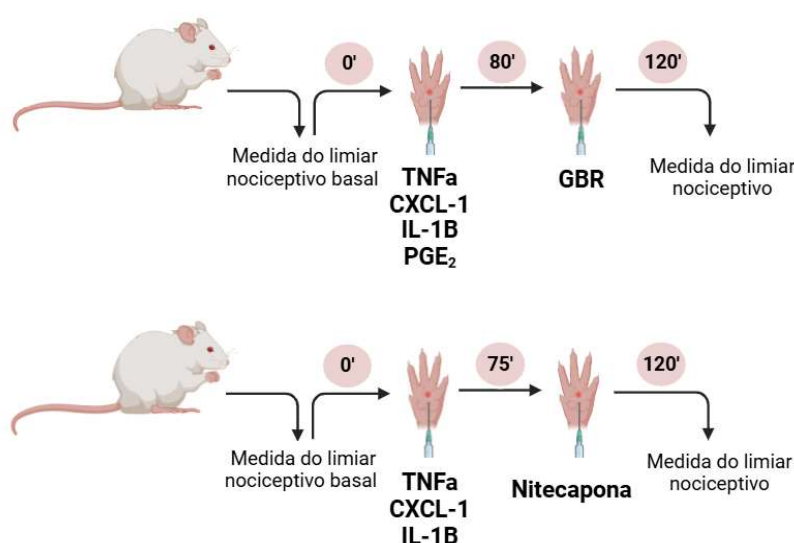


**Figura 13. Protocolo experimental para avaliação do efeito dos inibidores da recaptação (GBR 12783) e degradação (Nitecapona) de DA frente a hiperalgesia induzida pelos diferentes mediadores inflamatórios.**

Posteriormente, foram avaliados os receptores dopaminérgicos. Para isso, administrou-se os antagonistas de receptores D $_2$ , D $_3$  e D $_4$  após a administração de dose submáxima de CG ou dos mediadores inflamatórios. A dose submáxima foi utilizada para que, se houvesse envolvimento de tais receptores, o seu antagonismo causaria hiperalgesia e assim seria possível detectar a potencialização da hiperalgesia intermediária causada por dose submáxima dos agentes hiperalgésicos. Dessa forma, CG, TNF $\alpha$ , CXCL-1, IL-1 $\beta$  e PGE $_2$  foram administrados na 0h, após a medida do limiar basal. Remoxiprida (antagonista de receptores D $_2$ ) foi administrado em 90 min, U 99194 e L-745,870 em 115 min e a medida do limiar foi realizada em 120 min (Figura 14).

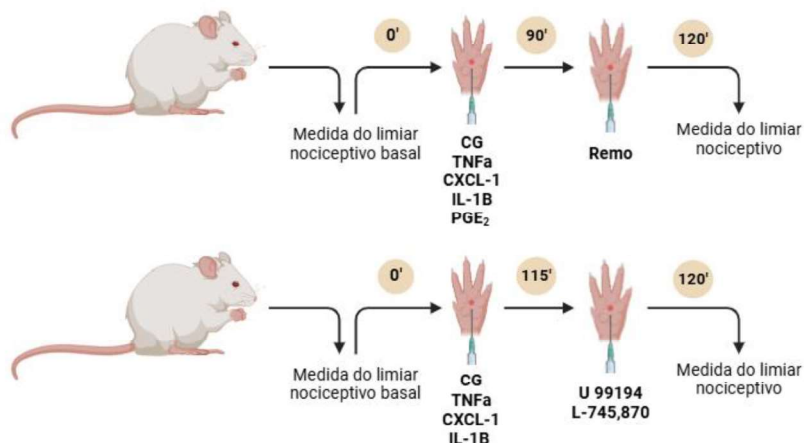


**Figura 14. Protocolo experimental para avaliação do efeito dos antagonistas dos receptores de DA frente a hiperalgesia induzida por dose submáxima de CG e dos mediadores inflamatórios.**

A noradrenalina (NA) em nosso trabalho faz a representação das aminas simpatomiméticas envolvidas no evento de dor inflamatória. A curva hiperalgésica de NA apresenta um padrão diferente da dos outros mediadores. Seu pico de efeito se apresenta em 5 min após administração. Desse modo, GBR 12783 foi administrado na 0h, em 35 min NA foi administrada e em 40 min foram realizadas as medidas do limiar nociceptivo. Remo foi administrado na 0h, NA em 25 min e a medida do limiar foi feita em 30 min (Figura 15).

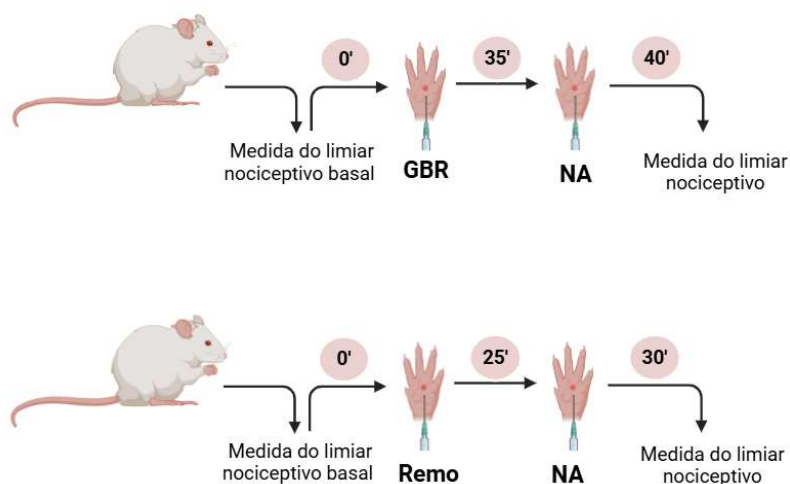


**Figura 15. Protocolo experimental para avaliação do efeito do inibidor da recaptação de DA (GBR 12783) e do antagonista de receptores dopaminérgicos D $_2$  (Remoxiprida) frente a hiperalgesia máxima e submáxima induzida por diferentes doses de NA.**

#### 4.4.2 Opioides e canabinoides

No estudo para avaliação da participação do sistema dopaminérgico na antinocicepção mediada por opioides e canabinoides, a hiperalgesia foi induzida pela administração de Prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>; 2 µg/pata). Sabendo que seu pico de hiperalgesia se dá em 180 minutos, os fármacos em análise foram administrados de forma que os picos de ação coincidisse nesse tempo, quando foram realizadas as medidas do limiar nociceptivo. O inibidor da recaptação de DA (GBR 12783) foi administrado decorridos 140 min da aplicação de PGE<sub>2</sub>. Em 175 min administrou-se os agonistas opioides, DAMGO, SNC 80 ou Bremazocina, em dose submáxima (0,25 µg/pata, 5 µg/pata ou 200 ng/pata). Em 180 minutos foi realizada a medida do limiar nociceptivo. Em relação ao sistema canabinoide, o inibidor GBR 12783 foi administrado em conjunto com doses submáximas de anandamida (AEA) e 2-AG.

Para avaliar a participação dos receptores dopaminérgicos, PGE<sub>2</sub> foi administrada na 0h, Remoxiprida em 150 min, U 99194 ou L-745,870 em 170 min e DAMGO, SNC 80 ou Bremazocina, em dose máxima (1 µg/pata, 20 µg/pata ou 600 ng/pata) em 175 min; 2-AG em 165 min. As medidas do limiar foram realizadas em 180 min (Figura 16).

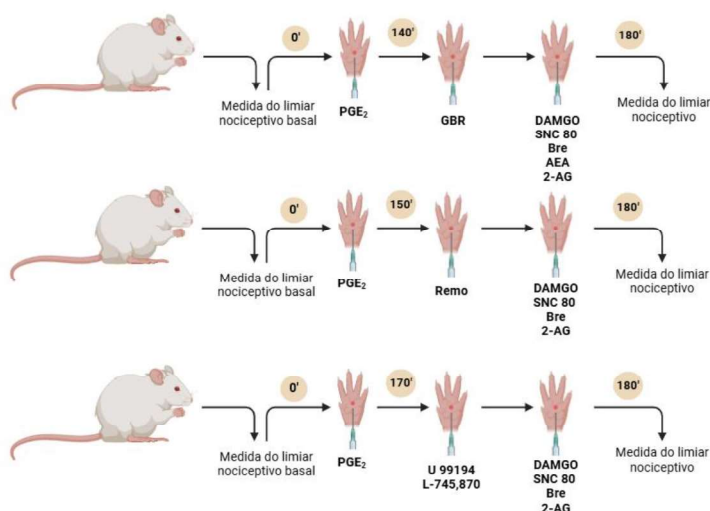


**Figura 16. Protocolo experimental para avaliação do efeito do inibidor da recaptação de DA e dos antagonistas de receptores dopaminérgicos frente a antinocicepção induzida por opioides.**

#### 4.5 Modelo de indução de dor neuropática: Constrição do Nervo Ciático (CCI)

A técnica de lesão de constrição crônica (CCI, do inglês *chronic constriction injury*) através da constrição do nervo ciático (Bennett e Xie, 1988), adaptada para camundongos, foi utilizada para indução da dor neuropática. Antes da realização do procedimento cirúrgico, os animais foram anestesiados com cloridrato de ketamina 10% (Dopalen, Vetbrands, Brasil) na dose de 100 mg/Kg e cloridrato de xilazina 2% (Dopaser, Calier, Brasil) na dose de 5 mg/Kg, injetados por via intraperitoneal em um volume final de 100  $\mu$ L de solução. Após anestesiados foi realizada uma tricotomia, por epilação manual, da região lateral da coxa direita. O animal foi, então, posicionado em decúbito lateral, de forma que toda a região dorsolateral do quadril direito e a região lateral da coxa ficassem expostas. Após a assepsia da região com álcool 70%, foi realizada uma incisão na pele sobre os músculos bíceps femoral e vasto lateral. Em seguida, divulsionou-se os músculos com a finalidade de localizar e expor o nervo ciático. Duas ligaduras frouxas, com fio de seda 4.0, foram colocadas ao redor do nervo, separadas uma da outra por aproximadamente dois milímetros (Figura 17). Posteriormente, a ferida cirúrgica foi suturada com fio de nylon agulhado 5.0.



Figura 17. Técnica cirúrgica de constrição do nervo ciático (CCI), modificada de Vasudeva et al., 2014.

Através de dados da literatura (Diniz et al., 2023) e experimentos pilotos, sabe-se que o limiar nociceptivo dos animais, após operados, começa a diminuir a partir do 3º dia de cirurgia. Entre o 5º e o 7º dia há uma estabilização, com limiar intermediário e a partir do 8º dia acontece uma diminuição contínua com pico máximo da dor neuropática em 12 dias. Diante disto, optou-se por realizar os experimentos de potencialização da dor no 6º dia e de reversão da dor no 12º dia.

Para avaliar a participação do sistema dopaminérgico na modulação periférica da dor neuropática, 6 dias após a cirurgia foi realizado o experimento com os antagonistas de receptores dopaminérgicos Remoxiprida, U 99194 e L-745,870, administrados em seus respectivos tempos, por via intraplantar, e o limiar nociceptivo foi mensurado através do teste de retirada de pata. O inibidor da recaptação de dopamina GBR 12783 foi administrado no 12º dia após a CCI, seguindo mesmo protocolo. Para os testes os animais foram separados em três grupos: o grupo operado, submetido ao procedimento cirúrgico e de CCI, o grupo *sham* que recebeu apenas o procedimento cirúrgico de incisão e avulsão dos tecidos, porém sem a CCI e o grupo *naive* que não recebeu nenhum tipo de procedimento (Figura 18).

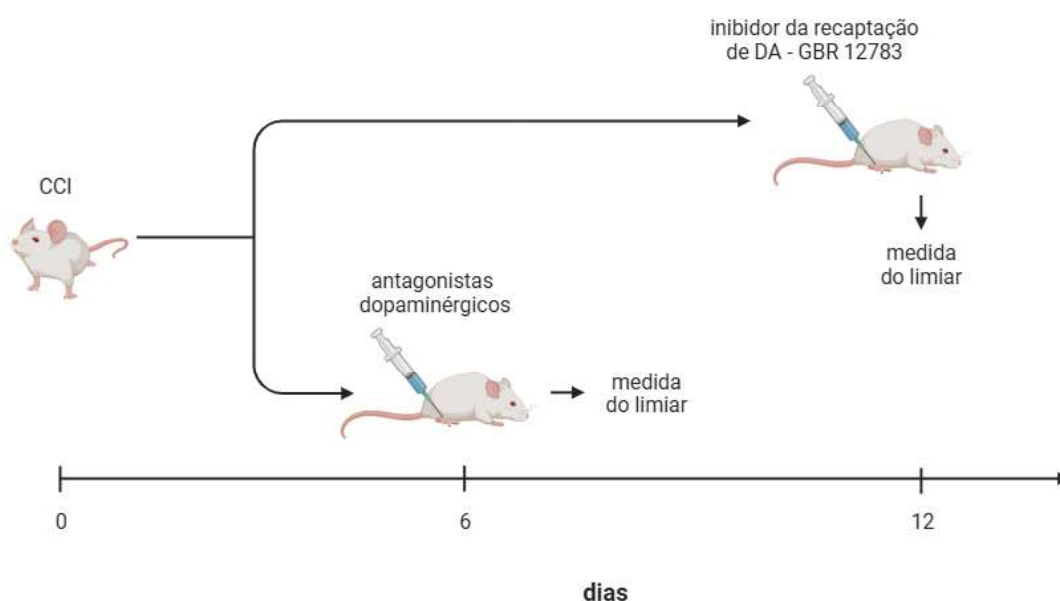


**Figura 18.** Protocolo experimental para avaliação da participação do sistema dopaminérgico na modulação endógena periférica da dor neuropática.

## **4.6 Ensaio de imunohistoquímica para avaliação da localização de receptores dopaminérgicos**

Para avaliar o padrão de expressão e a localização dos receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> no tecido de pata foi realizado o ensaio biomolecular de imunohistoquímica. Os fármacos foram administrados na pata posterior direita dos animais e ao atingir o tempo de avaliação os animais foram eutanasiados e as patas foram coletadas para análise.

### **4.6.1 Grupos experimentais**

- Carragenina 100 e 200 µg/pata
- PGE<sub>2</sub> 1 e 2 µg/pata
- Salina
- Neuropáticos em 6º e 12º dia
- *Naïve*

### **4.6.2 Protocolo experimental**

Os tecidos coletados foram colocados em formol e em sequência foram mantidos em EDTA para descalcificação. Posteriormente, os tecidos foram incluídos em parafina, seccionados (5 µm) e colocados em lâminas previamente silanizadas. Os tecidos foram desparafinizados em xilol, hidratados em série crescente de etanol, lavados em água corrente e solução PBS e, posteriormente, incubados em solução 0,6% de peróxido de hidrogênio em metanol para bloqueio da peroxidase endógena. A reação imunohistoquímica foi precedida de recuperação antigênica dos tecidos, realizada pelo aquecimento dos cortes, mergulhados em solução de tampão citrato 0,1M pH 6,0, em forno micro-ondas. Após resfriamento dos cortes em temperatura ambiente, eles foram lavados em PBS e incubados com soluções de bloqueio de avidina e biotina endógena (Avidin/biotin blocking kit – Vector Laboratories, EUA). Em seguida, os cortes foram incubados em soro normal de cabra ou coelho 10% por uma hora para bloqueio de ligações inespecíficas,

antes de serem expostos ao anticorpo primário. Foi utilizado o anti-corpo anti-D<sub>2</sub> polyclonal (Thermo Fisher Scientific; EUA) em 1% PBS, overnight a 4°C. Os cortes foram lavados com PBS e incubados com anticorpos secundários biotinilados cabra anti-coelho, cabra anti-camundongo e coelho anticabra (Dako, EUA), respectivamente, diluído 1:100 em PBS, por uma hora. Seguiu-se lavagem com PBS e incubação com solução do complexo avidina-biotina conjugados com peroxidase (Vectastain Ellite ABC kit; Vector Laboratories, Burlingame, CA, EUA), para amplificação da imunomarcação, por 30 minutos, seguido de lavagem com PBS. A revelação foi feita por adição do substrato contendo diaminobenzidina a 0,05% (p/v) contendo 0,01% (v/v) de peróxido de hidrogênio em tampão Tris-HCl, 0,05M, pH 7.6. Essa reação foi interrompida, após 20 minutos, por imersão em água destilada. Ao final, os cortes foram contra-corados com hematoxilina de Mayer, desidratados em série crescente de etanol, diafanizados e montados para análise.

#### **4.7 Análise estatística**

O programa GraphPad Prism 8.0.2 foi utilizado para confecção dos gráficos e análise estatística dos dados obtidos. Os dados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk, que indicou uma distribuição normal. Os resultados foram expressos por meio da média  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M.) para cada protocolo experimental e submetidos à análise de variância one-way ou two-way (para análise de desenvolvimento temporal) seguida pelo pós-teste de Bonferroni para comparações múltiplas. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes.

## ***Resultados***

---

---

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Participação da dopamina endógena na modulação periférica da dor inflamatória induzida por CG

#### ***5.1.1 Efeito do inibidor da recaptação de dopamina GBR 12783 frente a hiperalgesia induzida por CG***

Para investigar se o sistema dopaminérgico seria capaz de modular periféricamente a dor de origem inflamatória o primeiro passo foi verificar o efeito do aumento da disponibilidade de dopamina (DA) endógena em animais que apresentavam dor induzida pelo agente inflamatório carragenina (CG). Para isso, administrou-se o inibidor da recaptação de DA GBR 12783 (16 µg/pata), em animais pré-sensibilizados por dose máxima de CG (200 µg/pata). GBR foi administrado 40 minutos (pico de seu efeito) antes da primeira, segunda ou terceira hora de efeito da CG, em diferentes grupos, e o limiar nociceptivo foi mensurado, através do teste de retirada de pata, a cada hora. Como mostrado na Figura 19, o inibidor da recaptação de DA foi capaz de reverter a hiperalgesia de CG, na primeira e segunda hora de efeito. Diferentemente, na terceira hora de hiperalgesia da CG o inibidor GBR não promoveu alteração no limiar nociceptivo dos animais se comparado ao grupo controle CG + Sal. Esses dados sugerem que a modulação da dor inflamatória pelo sistema dopaminérgico ocorre principalmente nas primeiras horas do processo inflamatório de CG, com efeito mais intenso na 2ª hora. Dito isso, para os próximos experimentos, optou-se por realizar os testes sempre na segunda hora de efeito da CG e dos mediadores inflamatórios.

A Figura 20 apresenta a curva temporal de diferentes doses do inibidor GBR 12783. Pode-se observar que o pico máximo de efeito de GBR se deu em 155 min, ou seja, 40 min após sua administração e o efeito antinociceptivo ocorreu de forma dose-dependente, sendo a dose de 16 µg/pata capaz de reverter quase que totalmente a hiperalgesia de CG.

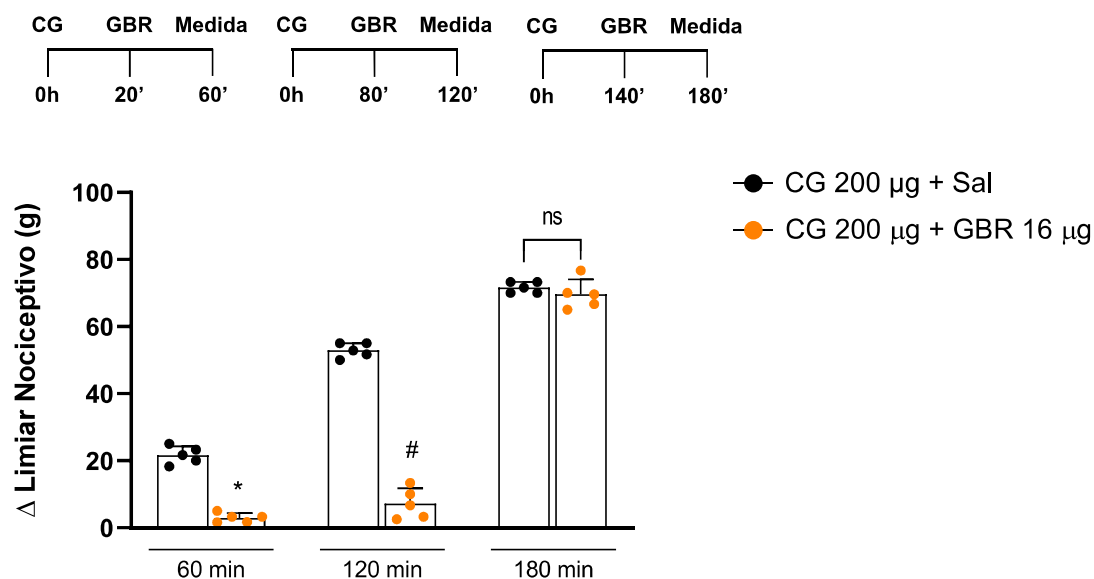


**Figura 19. Efeito do inibidor da recaptação de DA GBR 12783 frente a hiperalgesia induzida por CG:** CG (200 μg/pata) e GBR 12783 (16 μg/pata) ou seu veículo foram administrados nos tempos representados acima do gráfico. O limiar nociceptivo foi mensurado através do teste de retirada de pata a cada hora. Cada coluna representa a média ± E.P.M. do Δ do limiar nociceptivo em gramas (g) para 5 camundongos por grupo. \* = diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo controle [CG 200 μg + Sal na primeira hora]; # = diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo [CG 200 μg + Sal na segunda hora] Sal = Salina (NaCl 0,9%); CG = carragenina; ns = diferença não estatisticamente significativa.

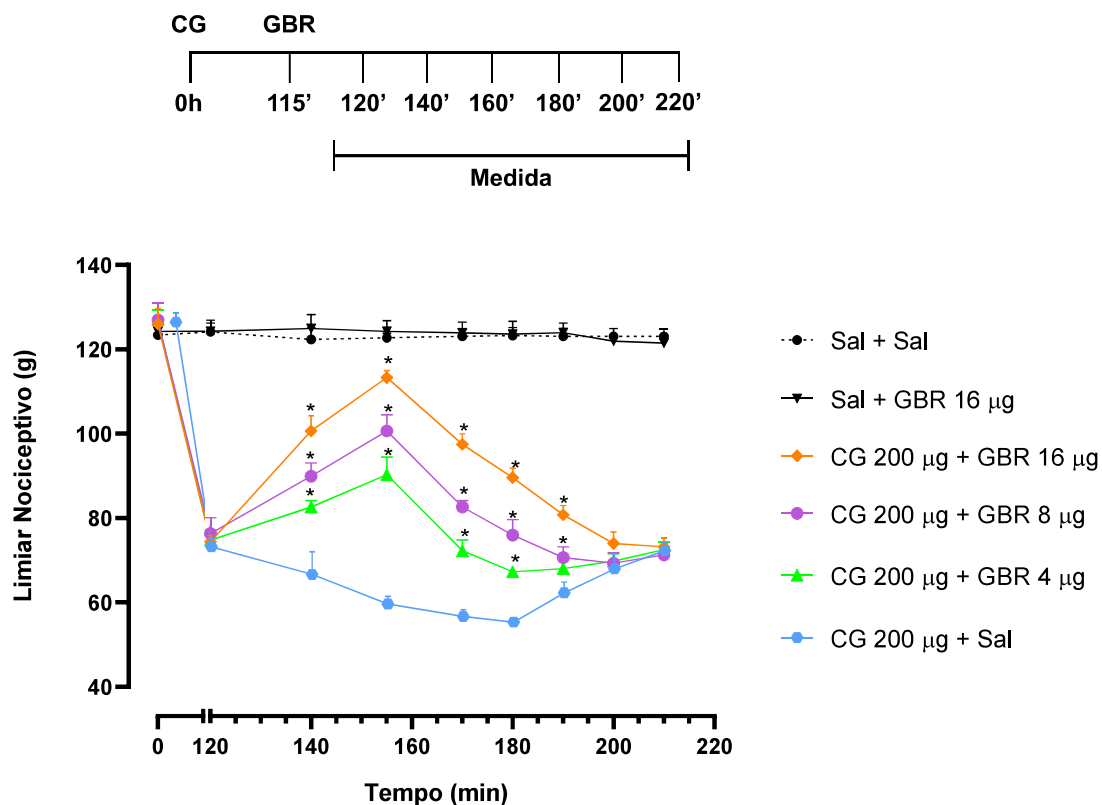


**Figura 20. Curva temporal do efeito antinociceptivo do inibidor da recaptação de DA GBR 12783, em diferentes doses, frente a hiperalgesia induzida por CG:** CG (200  $\mu$ g/pata) e GBR 12783 (4, 8 e 16  $\mu$ g/pata) foram administrados em 0h e 115 min, respectivamente. As medidas do limiar nociceptivo foram realizadas nos tempos representados no diagrama sobre o gráfico. Cada linha representa a média  $\pm$  E.P.M. do limiar nociceptivo em gramas (g) para 5 camundongos por grupo. \* = diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo [CG 200  $\mu$ g + Sal]; Sal = Salina (NaCl 0,9%); CG = carragenina.

Como um dos objetivos do presente trabalho é a avaliação periférica do evento estudado, realizou-se a exclusão do efeito sistêmico de GBR 12783 a fim de garantir que seu efeito fosse apenas no local de administração. Para isso, em 0h os animais receberam CG (200 µg/pata) nas duas patas posteriores. Em 80 min GBR 12783 foi administrado na pata direita em dose que causou efeito máximo (16 µg/pata). Na pata esquerda foi administrado seu veículo (salina). Em 120 min a medida do limiar nociceptivo foi realizada nas duas patas. Para o grupo controle, seguiu-se o mesmo protocolo experimental, porém os animais receberam salina nas duas patas.

Os resultados obtidos demonstram que o efeito antinociceptivo de GBR 12783 ficou restrito apenas à pata em que foi administrado, uma vez que não houve reversão da hiperalgesia na pata contralateral que recebeu CG + Sal. Esse resultado sugere que a antinocicepção de GBR em dose de 16 µg/pata não apresentou efeito sistêmico, ficando restrita apenas ao local de administração desse fármaco (Figura 21).

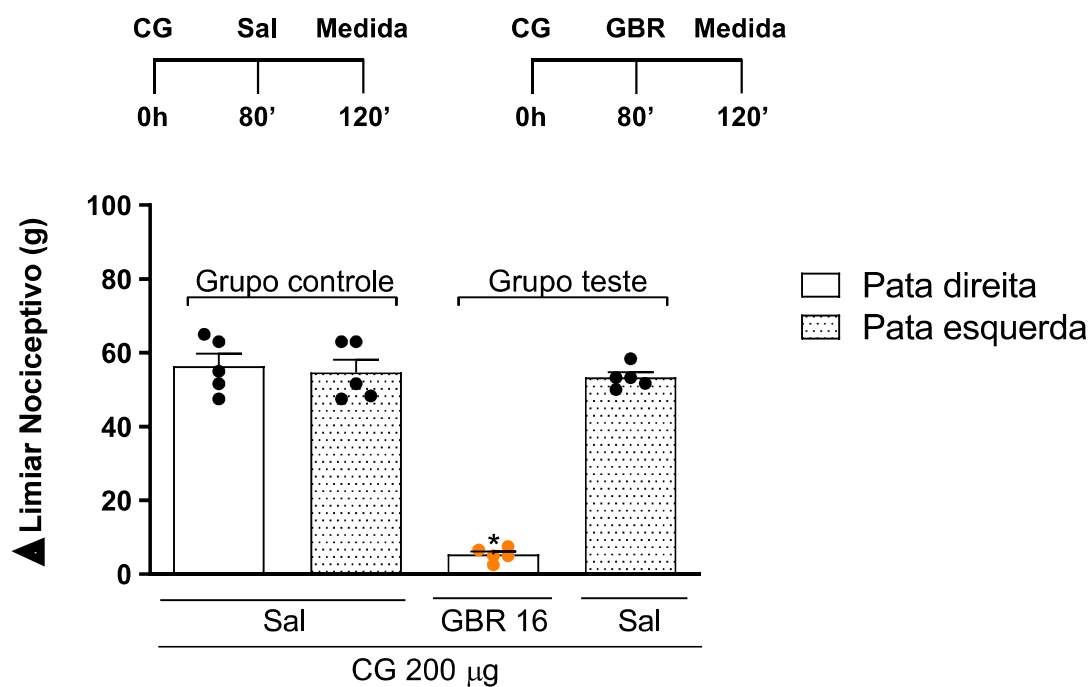


**Figura 21. Exclusão do efeito antinociceptivo sistêmico de GBR 12783:** CG (200 µg/pata) foi administrada em ambas as patas posteriores no tempo zero. Após o pré-tratamento com CG o grupo controle recebeu sal nas duas patas posteriores, enquanto que o grupo teste recebeu GBR 12783 (16 µg/pata) na pata direita e sal na pata esquerda, em 80 min. A medida do limiar nociceptivo foi realizada, em ambas as patas, em 120 min. Cada coluna representa a média  $\pm$  E.P.M. do  $\Delta$  do limiar nociceptivo em gramas (g). \* $p < 0,05$  representa uma diferença estatisticamente significativa comparado ao grupo [CG 200 µg + Sal]; Sal = Salina (NaCl 0,9%); CG = carragenina.

### ***5.1.2 Efeito do inibidor da degradação de dopamina Nitecapona frente a hiperalgesia induzida por CG***

Em seguida, para avaliar o efeito da inibição da degradação de DA, administrou-se Nitecapona, inibidor da enzima Catecol-O-Metiltransferase (COMT), em animais pré-sensibilizados por dose máxima de CG (200 µg/pata). Em 115 min após administração de CG foi administrada Nitecapona em diferentes doses (2,5, 5 e 10 µg/pata), e o limiar nociceptivo foi mensurado a partir de 120 min até a duração do efeito do inibidor. A Figura 22 mostra que Nitecapona reverteu a hiperalgesia de forma dose-dependente, com pico de ação em 160 min (45 min após sua administração) sendo a dose de 10 µg/pata a que causou efeito antinociceptivo máximo, com a qual a duração do efeito se estendeu até 220 min.

Para a exclusão do efeito sistêmico de Nitecapona os animais receberam CG em ambas as patas posteriores em 0h. Nitecapona, em dose de 10 µg/pata, foi administrado em 75 min na pata direita, enquanto que a pata esquerda recebeu apenas veículo (DMSO 4%). A medida do limiar foi mensurada em 120 min, em ambas as patas. A Figura 23 mostra que essa dose de Nitecapona não promoveu efeito sistêmico, visto que não foi observada alteração do limiar nociceptivo na pata esquerda, que recebeu apenas veículo. O efeito antinociceptivo de Nitecapona ficou restrito à pata direita, local em que foi administrado. Portanto, para experimentos subsequentes, 10 µg/pata foi a dose de escolha desse inibidor.

Levando em consideração que a enzima COMT é responsável pelo metabolismo de outras moléculas envolvidas no processo de modulação dolorosa em nível periférico, como forma de isolar o efeito dopaminérgico, Nitecapona foi administrada em conjunto com Remoxiprida (antagonista seletivo de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub>, 4 µg/pata). Em 0h os animais receberam CG (200 µg/pata). Em 70 min foi administrada Remoxiprida, em 75 min Nitecapona e a medida do limiar foi realizada em 120 min. Como mostrado na Figura 24, o antagonista D<sub>2</sub> reverteu parcialmente a antinocicepção mediada por Nitecapona 10 µg/pata, demonstrando que, em parte, o efeito antinociceptivo desse inibidor se dá pela via dopaminérgica.

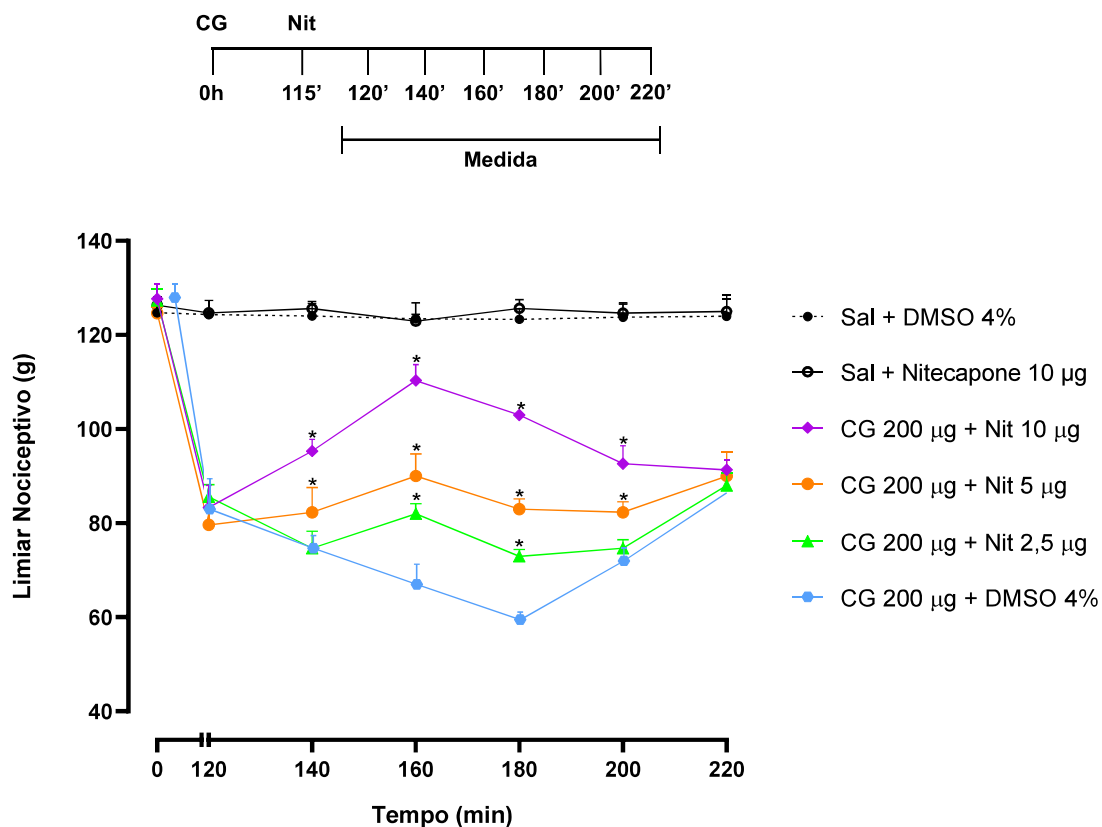


**Figura 22. Curva temporal do efeito antinociceptivo do inibidor da degradação de DA Nitecapona, em diferentes doses, frente a hiperalgesia induzida por CG:** CG (200 µg/pata) ou seu veículo e Nitecapona (2,5, 5 e 10 µg/pata) ou seu veículo foram administrados nos tempos mostrados acima do gráfico. O limiar nociceptivo foi mensurado através do teste de retirada de pata. Cada linha representa a média  $\pm$  E.P.M. do limiar nociceptivo em gramas (g) para 5 camundongos por grupo. \* = diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo [CG 200 µg + DMSO 4%]; Sal = Salina (NaCl 0,9%); DMSO = Dimetilsulfóxido 4% em salina; Nit = Nitecapona; CG = carragenina.

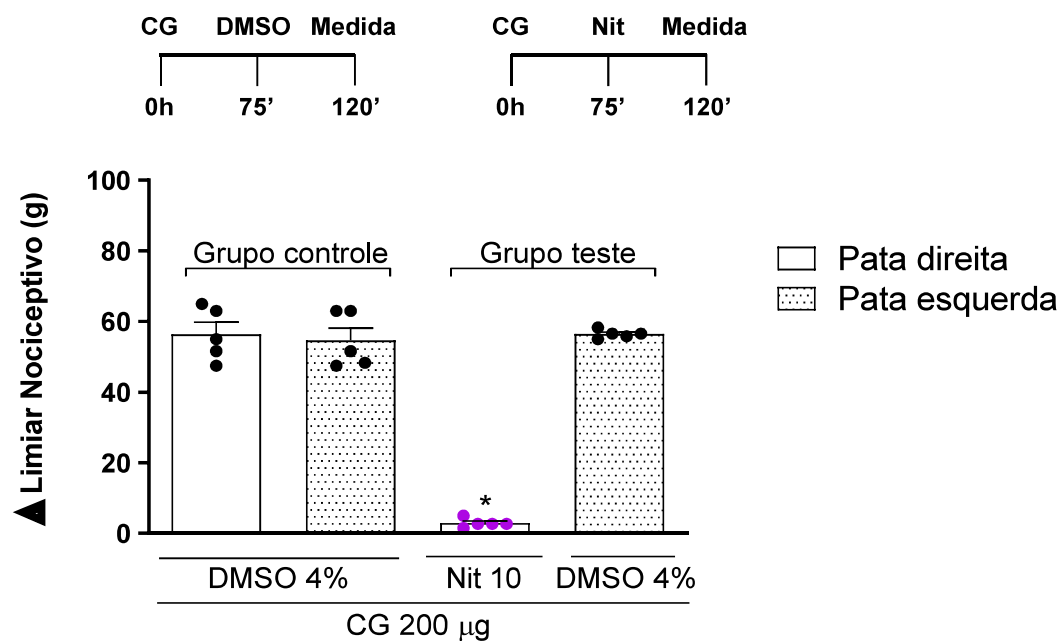


**Figura 23. Exclusão do efeito antinociceptivo sistêmico de Nitecapona:** CG (200 µg/pata) foi administrada em ambas as patas posteriores dos animais em 0h. Após o pré-tratamento com CG o grupo controle recebeu DMSO 4% nas duas patas posteriores, enquanto que o grupo teste recebeu Nitecapona (10 µg/pata) na pata direita e veículo na pata esquerda, em 75 minutos. A resposta antinociceptiva foi medida, em ambas as patas, em 120min. Cada coluna representa a média ± E.P.M. do Δ do limiar nociceptivo em gramas (g). \*p<0,05 representa uma diferença estatisticamente significativa comparado ao grupo [CG 200 µg + DMSO 4%]; DMSO = Dimetilsulfóxido 4% em salina; Nit = Nitecapona; CG = carragenina.

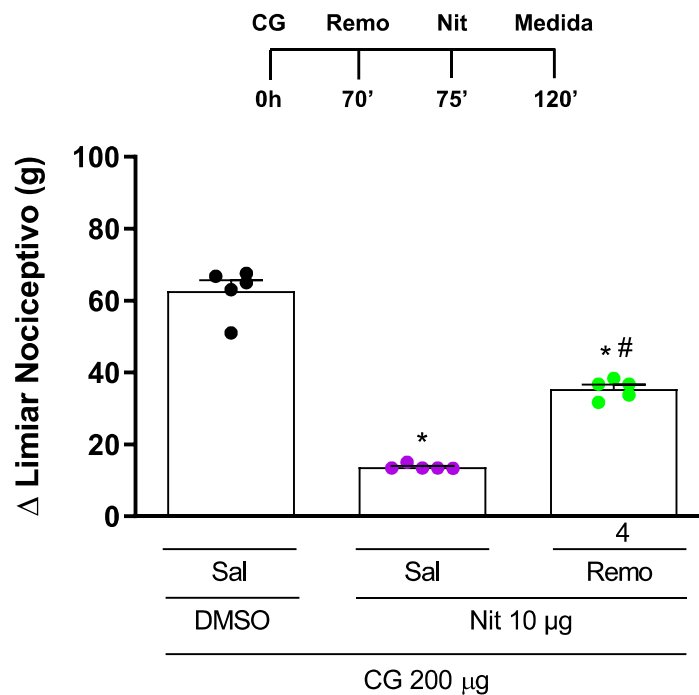


**Figura 24. Efeito do antagonista de receptores D<sub>2</sub> dopaminérgicos Remoxiprida na antinocicepção mediada pelo inibidor da degradação de DA Nitecapona frente a hiperalgesia induzida por CG:** CG (200 µg/pata), Remoxiprida (4 µg/pata) e Nitecapona (10 µg/pata) foram administrados nos tempos indicados acima do gráfico. O limiar nociceptivo foi mensurado através do teste de retirada de pata. Cada coluna representa a média ± E.P.M. do Δ limiar nociceptivo em gramas (g) para 5 camundongos por grupo. \* = diferença estatisticamente significativa (p<0,05) comparado ao grupo [CG 200 µg + DMSO + Sal]; # = diferença estatisticamente significativa (p<0,05) comparado ao grupo [CG 200 µg + Nit 10 + Sal]; Sal = Salina (NaCl 0,9%); DMSO = Dimetilsulfóxido 4% em salina; Nit = Nitecapona; Remo = Remoxiprida; CG = carragenina.

## **5.2 Participação da dopamina endógena na modulação periférica da dor inflamatória induzida pelos mediadores inflamatórios**

Após demonstrada a participação da dopamina (DA) endógena no evento de modulação periférica da dor inflamatória induzida pela CG seguiu-se para avaliação dos outros mediadores inflamatórios. A administração de CG em camundongos promove a liberação em cascata de uma série de mediadores inflamatórios ( $\text{TNF}\alpha$ , CXCL-1, IL-1 $\beta$ ,  $\text{PGE}_2$  e aminas simpatomiméticas - Noradrenalina - NA). O próximo passo foi então avaliar quais desses mediadores são capazes de deflagrar a ativação do sistema dopaminérgico a fim de modular a nocicepção periféricamente.

Para tal avaliação, os inibidores da recaptação e degradação de DA GBR 12783 (16  $\mu\text{g/pata}$ ) e Nitecapona (10  $\mu\text{g/pata}$ ) foram administrados em animais que apresentavam hiperalgesia induzida por dose máxima de  $\text{TNF}\alpha$  (10 ng/pata), CXCL-1 (10 ng/pata), IL-1 $\beta$  (100 pg/pata),  $\text{PGE}_2$  (2  $\mu\text{g/pata}$ ) ou NA (250 ng/pata). O evento foi avaliado na segunda hora de efeito dos mediadores inflamatórios, exceto para NA, em que a avaliação foi feita aos 5 minutos, devido a seu rápido pico de ação. Como mostrado nas Figuras 25, 26 e 27, respectivamente, os inibidores promoveram reversão da hiperalgesia tanto de  $\text{TNF}\alpha$  quanto de CXCL-1 e IL-1 $\beta$ . Já em relação a  $\text{PGE}_2$  e NA, os inibidores não alteraram o limiar nociceptivo, demonstrando que tais mediadores não promovem a deflagração da modulação dolorosa pelo sistema dopaminérgico (Figuras 28 e 29).

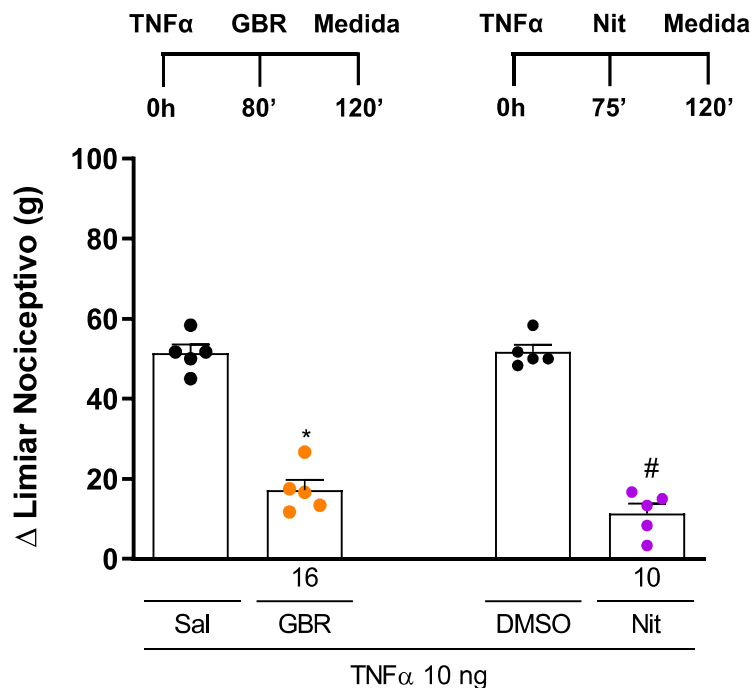


**Figura 25. Efeito dos inibidores da recaptação e degradação de DA GBR 12783 e Nitecapona, frente a hiperalgisia induzida por TNFα:** TNFα (10 ng/pata), GBR 12783 (16 µg/pata) ou Nitecapona (10 µg/pata) ou seus veículos foram administrados nos tempos mostrados acima do gráfico. O limiar nociceptivo foi mensurado através do teste de retirada de pata. Cada coluna representa a média ± E.P.M. do Δ limiar nociceptivo em gramas (g) para 5 camundongos por grupo. \* = diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo [TNFα 10 ng + Sal]; # = diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo [TNFα 10 ng + DMSO]; DMSO = Dimetilsulfóxido 4% em salina; Sal = Salina (NaCl 0,9%); Nit = Nitecapona.

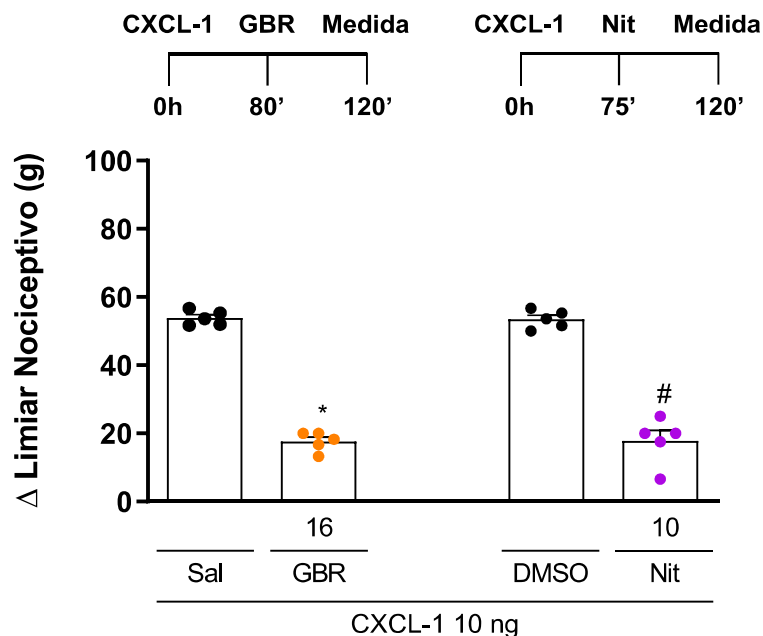


**Figura 26. Efeito dos inibidores da recaptação e degradação de DA GBR 12783 e Nitecapona, frente a hiperalgesia induzida por CXCL-1:** CXCL-1 (10 ng/pata), GBR 12783 (16 µg/pata) ou Nitecapona (10 µg/pata) ou seus veículos foram administrados nos tempos mostrados acima do gráfico. O limiar nociceptivo foi mensurado através do teste de retirada de pata. Cada coluna representa a média ± E.P.M. do  $\Delta$  limiar nociceptivo em gramas (g) para 5 camundongos por grupo. \* = diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo [CXCL-1 10 ng + Sal]; # = diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo [CXCL-1 10 ng + DMSO]; DMSO = Dimetilsulfóxido 4% em salina; Sal = Salina (NaCl 0,9%); Nit = Nitecapona.

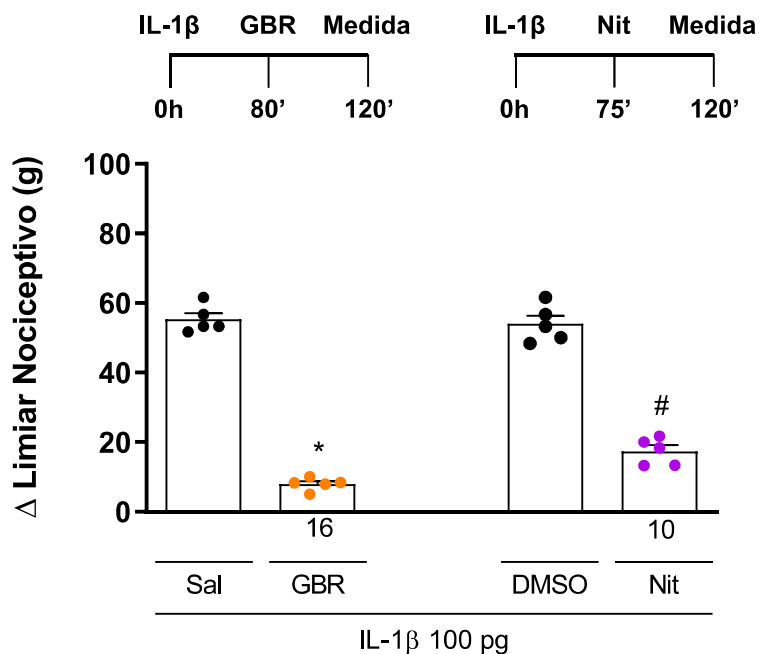


**Figura 27. Efeito dos inibidores da recaptação e degradação de DA GBR 12783 e Nitecapona, frente a hiperalgesia induzida por IL-1 $\beta$ :** IL-1 $\beta$  (100 pg/pata), GBR 12783 (16  $\mu$ g/pata) ou Nitecapona (10  $\mu$ g/pata) ou seus veículos foram administrados nos tempos mostrados acima do gráfico. O limiar nociceptivo foi mensurado através do teste de retirada de pata. Cada coluna representa a média  $\pm$  E.P.M. do  $\Delta$  limiar nociceptivo em gramas (g) para 5 camundongos por grupo. \* = diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo [IL-1 $\beta$  + Sal]; # = diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo [IL-1 $\beta$  + DMSO]; DMSO = Dimetilsulfóxido 4% em salina; Sal = Salina (NaCl 0,9%); Nit = Nitecapona.

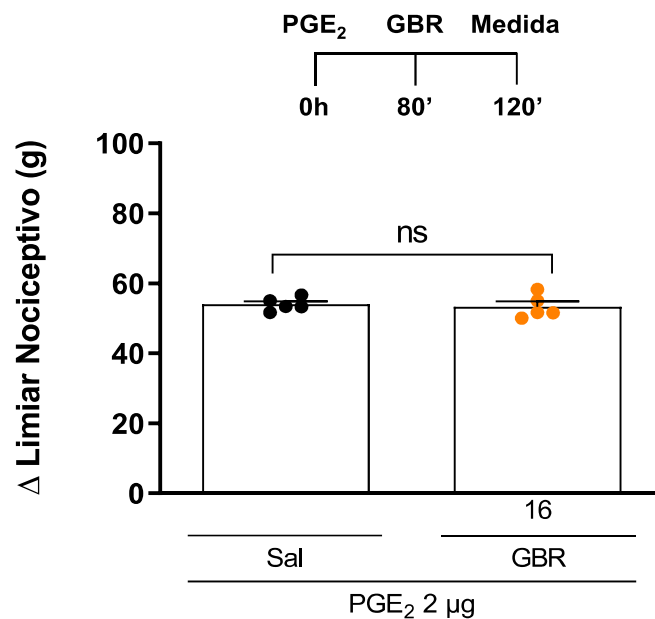


**Figura 28. Efeito do inibidor da recaptação de DA GBR 12783 frente a hiperalgesia induzida por PGE<sub>2</sub>:** PGE<sub>2</sub> (2 µg/pata) e GBR 12783 (16 µg/pata) ou seu veículo foram administrados nos tempos mostrados acima do gráfico. O limiar nociceptivo foi mensurado através do teste de retirada de pata. Cada coluna representa a média ± E.P.M. do Δ limiar nociceptivo em gramas (g) para 5 camundongos por grupo. ns = diferença não estatisticamente significativa. Sal = Salina (NaCl 0,9%).

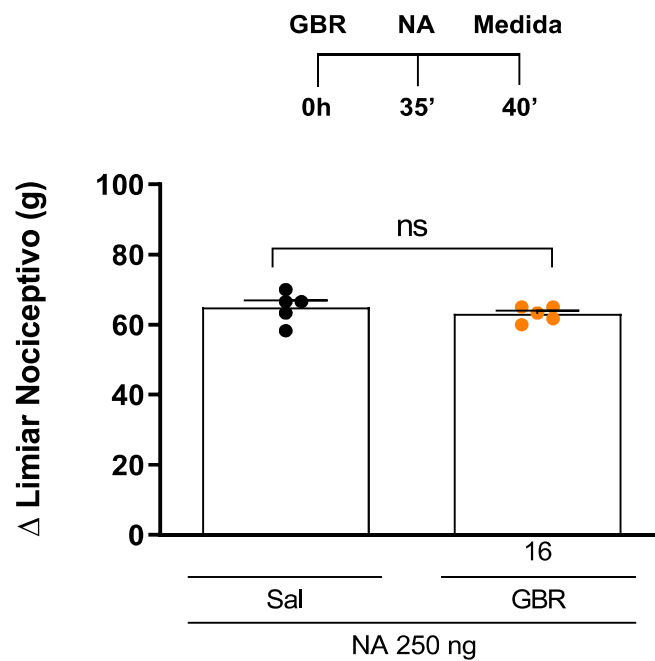


**Figura 29. Efeito do inibidor da recaptação de DA GBR 12783 frente a hiperalgesia induzida pela NA:** NA (250 ng/pata) e GBR 12783 (16 µg/pata) ou seu veículo foram administrados nos tempos mostrados acima do gráfico. O limiar nociceptivo foi mensurado através do teste de retirada de pata. Cada coluna representa a média ± E.P.M. do Δ limiar nociceptivo em gramas (g) para 5 camundongos por grupo. ns = diferença não estatisticamente significativa. Sal = Salina (NaCl 0,9%).

### 5.3 Estudo sobre a identificação dos receptores dopaminérgicos no evento de modulação da dor inflamatória

Após demonstrado o envolvimento da dopamina (DA) endógena na modulação da dor induzida por carragenina (CG) e pelos mediadores TNF $\alpha$ , CXCL-1 e IL-1 $\beta$ , investigou-se quais receptores dopaminérgicos são ativados pela DA para que ela promova tal efeito. Para isso foram utilizados os antagonistas seletivos para os receptores dopaminérgicos da família D2.

Inicialmente, Remoxiprida (antagonista de receptores D<sub>2</sub>; 4  $\mu$ g/pata), foi administrado 30 min antes da primeira, segunda ou terceira hora de efeito de dose submáxima de CG (100  $\mu$ g/pata). Os resultados obtidos estão em consonância com os dados anteriores que demonstram o envolvimento do sistema dopaminérgico na modulação da dor inflamatória na primeira ou segunda hora, mas não na terceira hora, uma vez que o antagonista D<sub>2</sub> potencializou a hiperalgesia intermediária de dose submáxima de CG apenas em 60 e 120 min (Figura 30). Assim, seguiu-se para avaliação dos receptores sempre na segunda hora (120 min) de efeito de CG e dos mediadores inflamatórios.

Posteriormente avaliou-se os outros antagonistas da família D2 dopaminérgicos. Tanto Remoxiprida quanto U 99194 (antagonista de receptores D<sub>3</sub>; 16  $\mu$ g/pata) e L-745,870 (antagonista de receptores D<sub>4</sub>; 16  $\mu$ g/pata) foram administrados em animais previamente sensibilizados por dose submáxima de CG (100  $\mu$ g/pata), TNF $\alpha$  (0,1 ng/pata), CXCL-1 (0,01 ng/pata), IL-1 $\beta$  (0,1 pg/pata), PGE<sub>2</sub> (1  $\mu$ g/pata) e NA (62,5 ng/pata). As doses submáximas dos hiperalgésicos causam efeito intermediário, assim, caso o antagonismo dos receptores estudados cause efeito nociceptivo, seria possível observar a potencialização desse efeito, com redução ainda maior do limiar nociceptivo, por isso a utilização das doses submáximas.

Os resultados mostraram que o antagonismo dos receptores D<sub>2</sub> e D<sub>4</sub> promoveu potencialização da hiperalgesia de CG, enquanto que o antagonista de receptor D<sub>3</sub> não alterou o limiar nociceptivo dos animais (Figura 31).

Seguindo o mesmo protocolo experimental, quando administrado  $TNF\alpha$  foi observado que a hiperalgesia intermediária induzida pela dose submáxima desse mediador foi potencializada pela administração de Remoxiprida, mas não pela administração dos antagonistas de receptores  $D_3$  U 99194 e  $D_4$  L-745,870, uma vez que não alteraram o limiar nociceptivo dos animais se comparado ao grupo que recebeu apenas o mediador (Figura 32). Em relação aos mediadores CXCL-1 e IL-1 $\beta$ , todos os antagonistas promoveram potencialização da hiperalgesia (Figuras 33 e 34, respectivamente). Adicionalmente, os grupos que receberam Remoxiprida em conjunto com  $PGE_2$  e NA não apresentaram alteração no limiar nociceptivo (Figura 35 e 36), em consonância com os resultados anteriores.

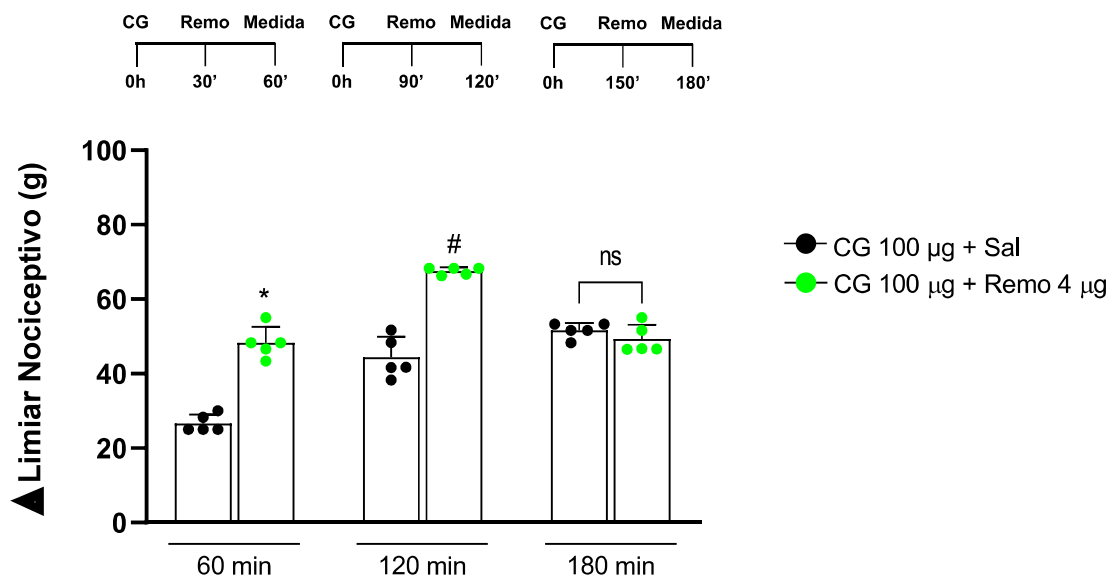


**Figura 30. Efeito do antagonista de receptores  $D_2$  Remoxiprida frente a hiperalgesia induzida por dose submáxima de CG em diferentes tempos:** CG (100 µg/pata) e Remoxiprida (4 µg/pata) ou seu veículo foram administrados nos tempos mostrados acima do gráfico. O limiar nociceptivo foi mensurado através do teste de retirada de pata. Cada coluna representa a média  $\pm$  E.P.M. do  $\Delta$  limiar nociceptivo em gramas (g) para 5 camundongos por grupo. \* = diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo [CG 100 µg + Sal em 60 min]; # = diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo [CG 100 µg + Sal em 120 min]; ns = diferença não estatisticamente significativa; Sal = Salina (NaCl 0,9%); CG = carragenina; Remo = Remoxiprida.

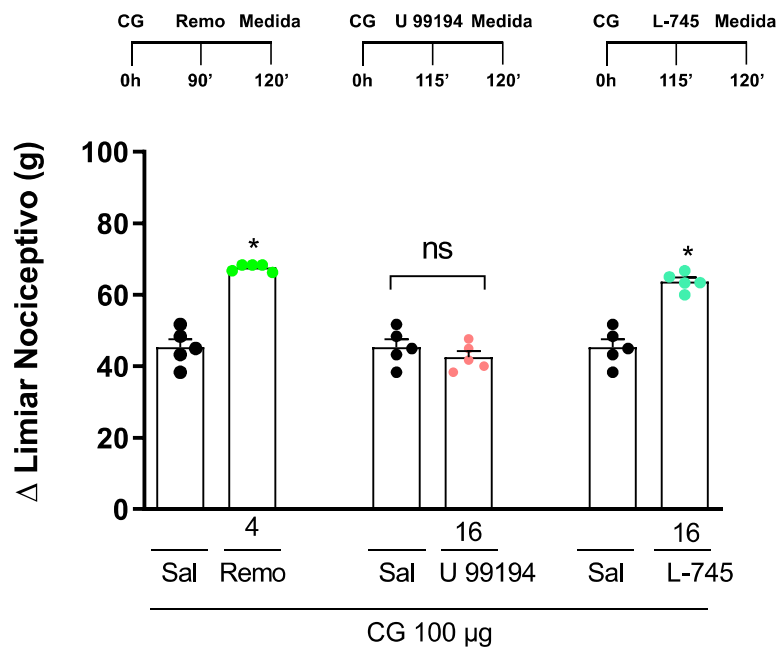


**Figura 31. Efeito dos antagonistas de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> Remoxiprida, D<sub>3</sub> U 99194 e D<sub>4</sub> L-745,870 frente a hiperalgesia induzida por dose submáxima de CG:** CG (100 µg/pata) e Remoxiprida (4 µg/pata) ou U 99194 (16 µg/pata) ou L-745,870 (16 µg/pata) ou seus veículos foram administrados nos tempos mostrados acima do gráfico. O limiar nociceptivo foi mensurado através do teste de retirada de pata. Cada coluna representa a média ± E.P.M. do Δ limiar nociceptivo em gramas (g) para 5 camundongos por grupo. \* = diferença estatisticamente significativa (p<0,05) comparado ao grupo [CG 100 µg + Sal]; ns = diferença não estatisticamente significativa; Sal = Salina (NaCl 0,9%); CG = carragenina; Remo = Remoxiprida.

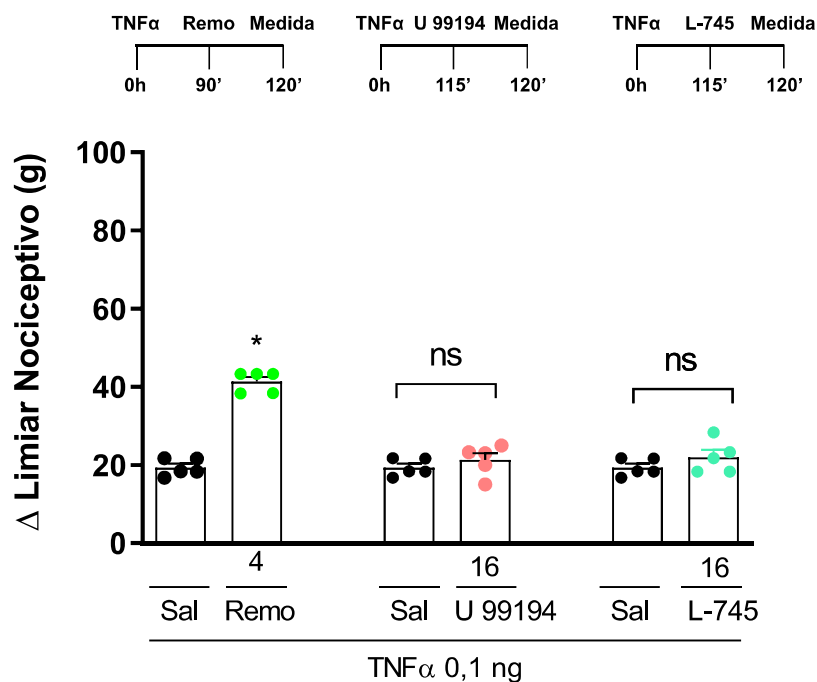


**Figura 32. Efeito dos antagonistas de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> Remoxiprida, D<sub>3</sub> U 99194 e D<sub>4</sub> L-745,870 frente a hiperalgesia induzida por dose submáxima de TNFα:** TNFα (0,1 ng/pata) e Remoxiprida (4 μg/pata) ou U 99194 (16 μg/pata) ou L-745,870 (16 μg/pata) ou seus veículos foram administrados nos tempos mostrados acima do gráfico. O limiar nociceptivo foi mensurado através do teste de retirada de pata. Cada coluna representa a média ± E.P.M. do  $\Delta$  limiar nociceptivo em gramas (g) para 5 camundongos por grupo. \* = diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo [TNFα + Sal]; ns = diferença não estatisticamente significativa; Sal = Salina (NaCl 0,9%); Remo = Remoxiprida.

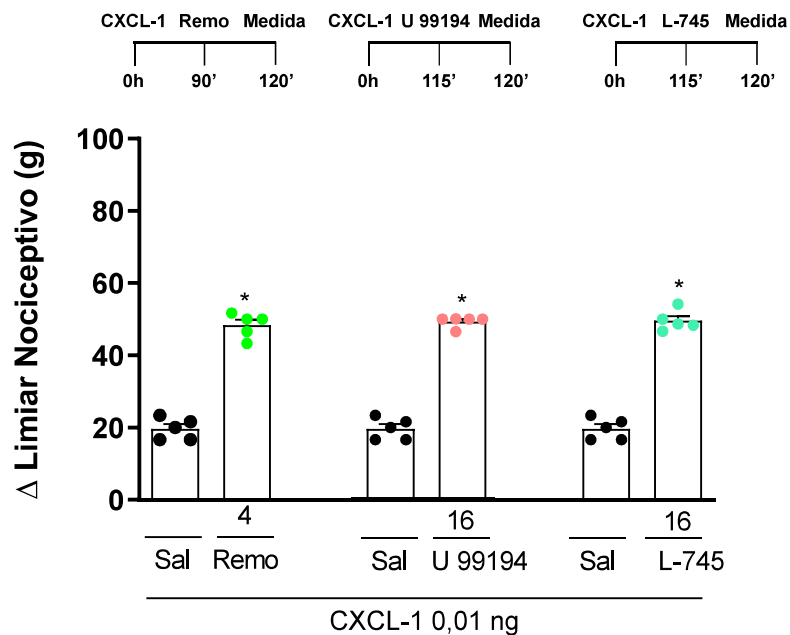


**Figura 33. Efeito dos antagonistas de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> Remoxiprida, D<sub>3</sub> U 99194 e D<sub>4</sub> L-745,870 frente a hiperalgesia induzida por dose submáxima de CXCL-1:** CXCL-1 (0,01 ng/pata) e Remoxiprida (4 μg/pata) ou U 99194 (16 μg/pata) ou L-745,870 (16 μg/pata) ou seus veículos foram administrados nos tempos mostrados acima do gráfico. O limiar nociceptivo foi mensurado através do teste de retirada de pata. Cada coluna representa a média ± E.P.M. do Δ limiar nociceptivo em gramas (g) para 5 camundongos por grupo. \* = diferença estatisticamente significativa (p<0,05) comparado ao grupo [CXCL-1 + Sal]; Sal = Salina (NaCl 0,9%); Remo = Remoxiprida.

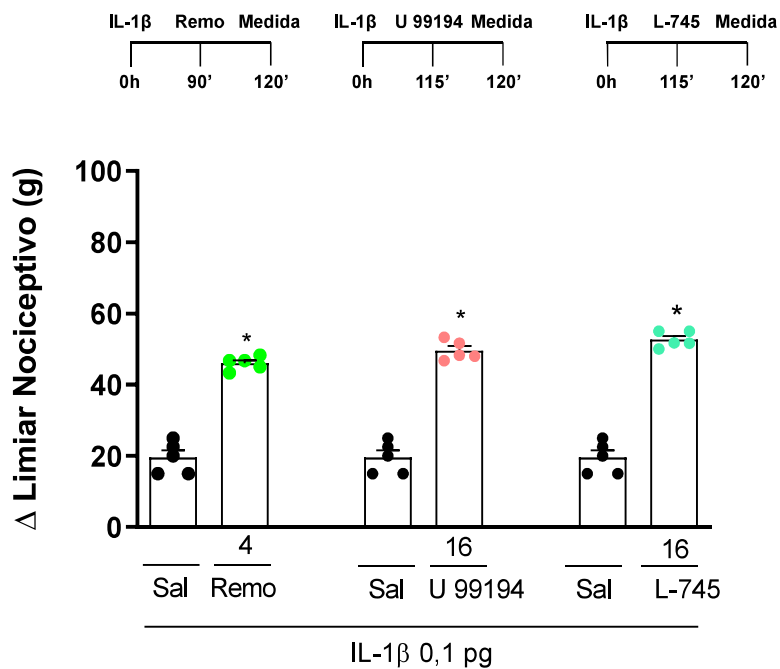


**Figura 34. Efeito dos antagonistas de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> Remoxiprida, D<sub>3</sub> U 99194 e D<sub>4</sub> L-745,870 frente a hiperalgesia induzida por dose submáxima de IL-1β:** IL-1β (0,1 pg/pata) e Remoxiprida (4 μg/pata) ou U 99194 (16 μg/pata) ou L-745,870 (16 μg/pata) ou seus veículos foram administrados nos tempos mostrados acima do gráfico. O limiar nociceptivo foi mensurado através do teste de retirada de pata. Cada coluna representa a média ± E.P.M. do Δ limiar nociceptivo em gramas (g) para 5 camundongos por grupo. \* = diferença estatisticamente significativa (p<0,05) comparado ao grupo [IL-1β + Sal]; Sal = Salina (NaCl 0,9%); Remo = Remoxiprida.

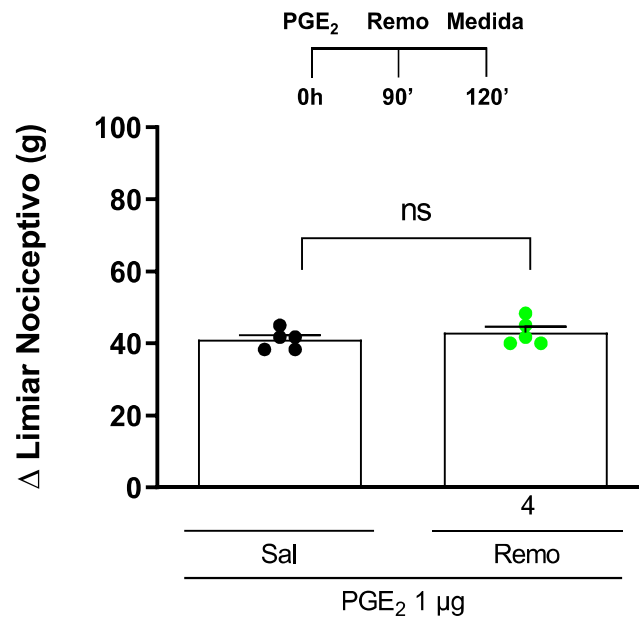


**Figura 35. Efeito do antagonista de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> Remoxiprida frente a hiperalgesia induzida por dose submáxima de PGE<sub>2</sub>:** PGE<sub>2</sub> (1 µg/pata) e Remoxiprida (4 µg/pata) ou seu veículo foram administrados nos tempos mostrados acima do gráfico. O limiar nociceptivo foi mensurado através do teste de retirada de pata. Cada coluna representa a média ± E.P.M. do Δ limiar nociceptivo em gramas (g) para 5 camundongos por grupo. ns = diferença não estatisticamente significativa; Sal = Salina (NaCl 0,9%); Remo = Remoxiprida.

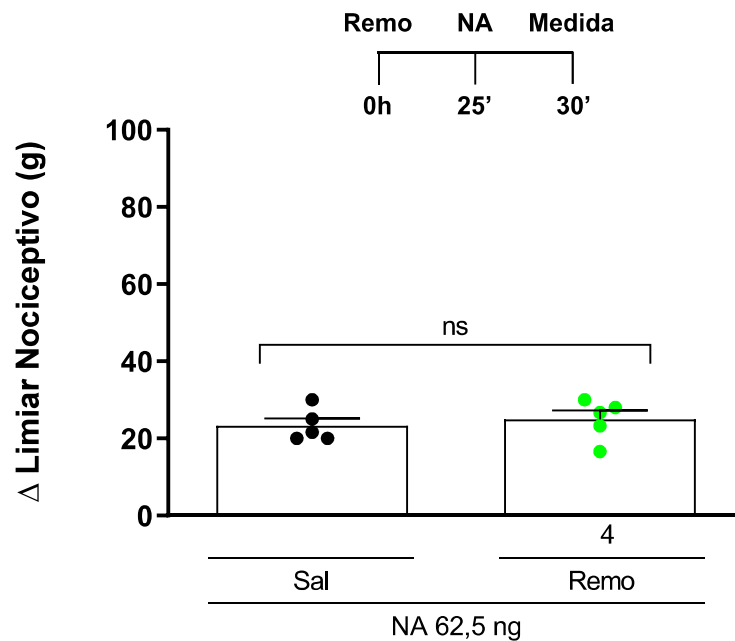


**Figura 36. Efeito do antagonista de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> Remoxiprida frente a hiperalgesia induzida por dose submáxima de NA:** NA (62,5 ng/pata) e Remoxiprida (4 µg/pata) ou seu veículo foram administrados nos tempos mostrados acima do gráfico. O limiar nociceptivo foi mensurado através do teste de retirada de pata. Cada coluna representa a média ± E.P.M. do Δ limiar nociceptivo em gramas (g) para 5 camundongos por grupo. ns = diferença não estatisticamente significativa; Sal = Salina (NaCl 0,9%); Remo = Remoxiprida; NA = noradrenalina.

## 5.4 Participação do sistema dopaminérgico na modulação periférica da dor neuropática

### 5.4.1 Indução de dor neuropática por constrição do nervo ciático

Para avaliar a participação do sistema dopaminérgico na modulação periférica da dor de origem neuropática, inicialmente os animais foram submetidos a cirurgia de constrição do nervo ciático (CCI). Para avaliação temporal do limiar nociceptivo dos animais submetidos à CCI a medida do limiar foi mensurada a partir do dia 1, durante 12 dias consecutivos. O grupo operado foi submetido ao procedimento cirúrgico e amarradura do nervo ciático enquanto que o grupo *sham* recebeu o mesmo procedimento de incisão e avulsão dos tecidos, porém sem a realização da ligadura do nervo. O grupo *naïve* não recebeu nenhum tipo de procedimento. A Figura 37 mostra que houve diminuição do limiar nociceptivo do grupo operado a partir do 3º dia de cirurgia. Entre o 5º e o 7º dia houve uma estabilização e o pico máximo de hiperalgesia se deu no 12º dia. Os grupos *sham* e *naïve* não apresentaram alteração do limiar nociceptivo durante o período avaliado.

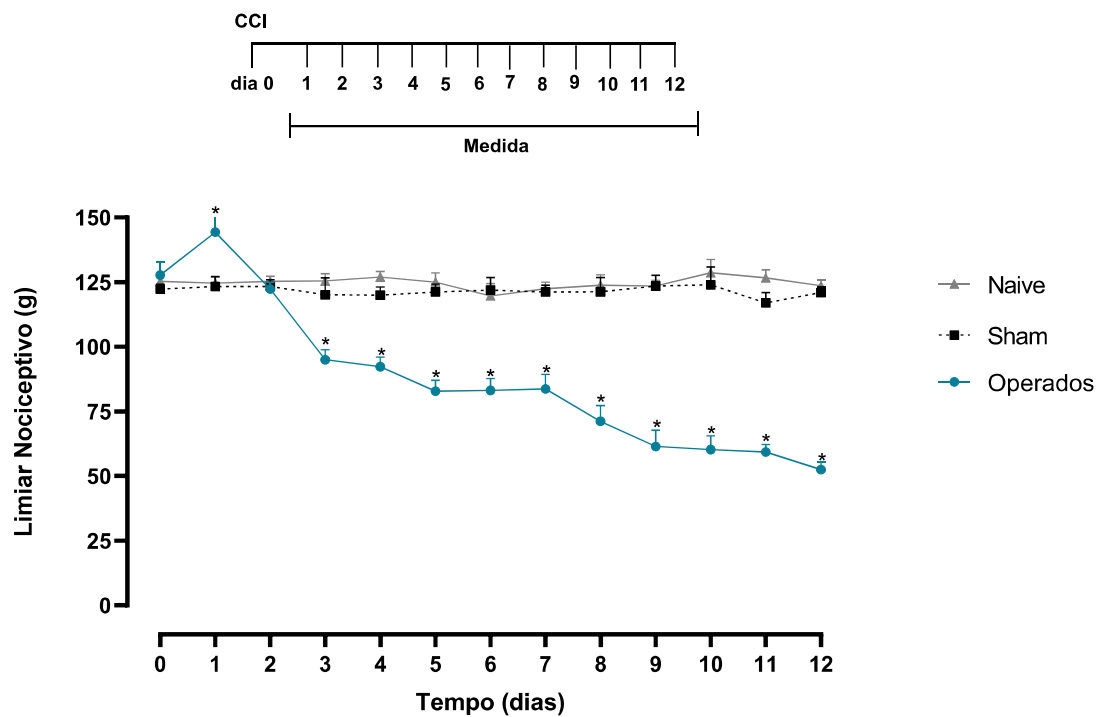


**Figura 37. Curva tempo-resposta do limiar nociceptivo após cirurgia de constrição do nervo ciático:** A medida do limiar nociceptivo foi realizada através do teste de retirada de pata por 12 dias consecutivos após realização do procedimento. Cada linha representa a média  $\pm$  E.P.M. do  $\Delta$  limiar nociceptivo em gramas (g) para 5 camundongos por grupo. \* $p < 0,05$  representa uma diferença estatisticamente significativa comparado ao grupo *naive*.

#### ***5.4.2 Efeito do inibidor da recaptação de dopamina GBR 12783 na modulação periférica da dor neuropática***

Para estabelecimento do protocolo experimental optou-se por realizar os experimentos no 6º e 12º dia após a CCI. Quando da utilização do inibidor da recaptação de DA (GBR 12783), o procedimento experimental foi realizado no 12º dia após a CCI, uma vez que os animais apresentaram pico máximo da dor neuropática nesse dia. Os resultados demonstram que o inibidor GBR 12783 reverteu a dor neuropática dos animais submetidos a CCI, retornando o limiar nociceptivo a níveis basais (Figura 38).

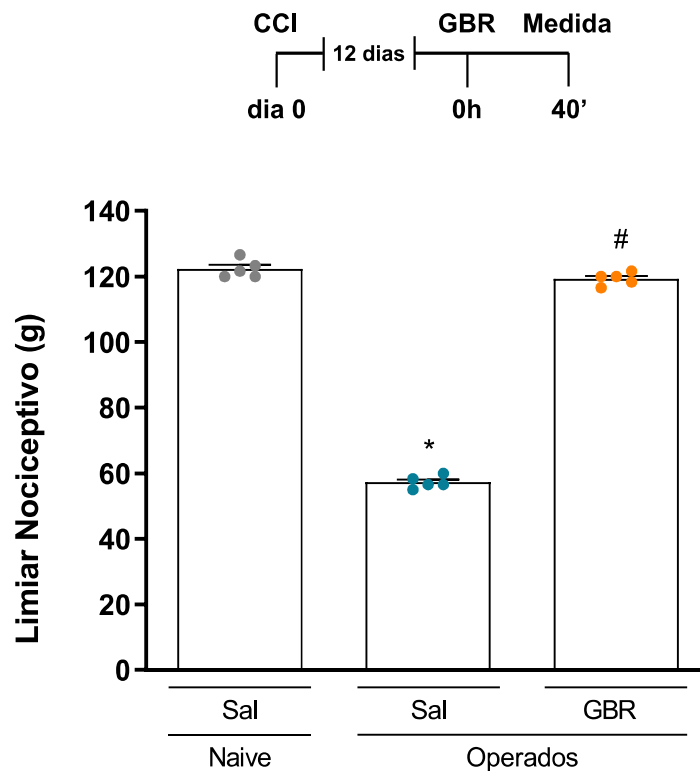


**Figura 38. Efeito do inibidor da recaptação de DA GBR 12783 frente a dor neuropática:** GBR 12783 (16 µg/pata) ou seu veículo foram administrados na pata posterior direita de animais que sofreram constrição do nervo ciático, após 12 dias de cirurgia. O limiar nociceptivo foi mensurado após 40 min de administração de GBR. Cada coluna representa a média ± E.P.M. do limiar nociceptivo em gramas (g) para 5 camundongos por grupo. \* = diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo controle [naive + Sal]; # = diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo controle [Operados + Sal]; Sal = Salina (NaCl 0,9%).

#### ***5.4.3 Estudo sobre a identificação dos receptores dopaminérgicos envolvidos no evento de modulação periférica da dor neuropática***

Em relação aos antagonistas de receptores dopaminérgicos o experimento foi realizado no 6º dia após CCI, quando os animais ainda apresentavam dor neuropática intermediática, passível de potencialização. Os receptores dopaminérgicos, D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub> parecem ser ativados durante a modulação periférica da dor neuropática, uma vez que os antagonistas desses receptores (Remoxiprida e U99194) promoveram potencialização da dor neuropática após 6º dia de CCI. Já o antagonista de receptores D<sub>4</sub> (L745,870) não alterou o limiar nociceptivo dos animais (Figura 39).

Esses resultados sugerem um papel importante para sistema dopaminérgico na modulação periférica da dor neuropática, com liberação de DA e consequente ativação dos receptores D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub> dopaminérgicos.

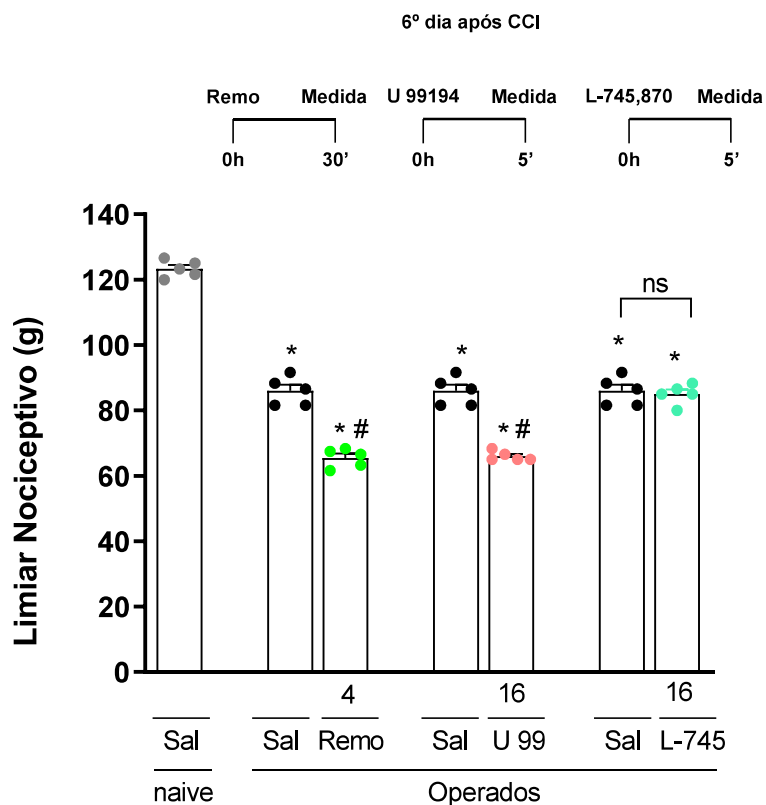


**Figura 39. Efeito dos antagonistas de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> Remoxiprida, D<sub>3</sub> U 99194 e D<sub>4</sub> L-745,870 frente a dor neuropática:** Remoxiprida (4 µg/pata), U 99194 (16 µg/pata) e L-745,870 (16 µg/pata) foram administrados na pata posterior direita de animais que sofreram constrição do nervo ciático, após 6 dias de cirurgia. Cada coluna representa a média ± E.P.M. do limiar nociceptivo em gramas (g) para 5 camundongos por grupo. \* = diferença estatisticamente significativa (p<0,05) comparado ao grupo [naive + Sal]; # = diferença estatisticamente significativa (p<0,05) comparado ao grupo [Operados + Sal]; Sal = Salina (NaCl 0,9%); Remo = Remoxiprida; ns = diferença não estatisticamente significativa.

### **5.5 Participação do sistema dopaminérgico endógeno na antinocicepção induzida por opioides**

Após detectar a mobilização do sistema dopaminérgico analgésico durante a dor inflamatória e neuropática, avaliou-se o envolvimento do sistema dopaminérgico endógeno na antinocicepção periférica de opioides. Para isso foram utilizados os agonistas opioides  $\mu$ ,  $\delta$  e  $\kappa$  (respectivamente, DAMGO, SNC 80 e Bremazocina) em animais com hiperalgesia induzida por Prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>; 2  $\mu$ g/pata). Uma vez que o pico de hiperalgesia de PGE<sub>2</sub> é em 180 min (3 horas), os experimentos foram realizados de forma a coincidir o pico de ação de todos os fármacos na terceira hora de efeito do agente hiperalgésico.

Para avaliar a participação da DA endógena, utilizou-se o inibidor da recaptação de DA GBR 12783. Os resultados mostram que dose submáxima dos agonistas DAMGO (0,25  $\mu$ g/pata), SNC 80 (5  $\mu$ g/pata) e Bremazocina (200 ng/pata) promoveram antinocicepção intermediária ao reverter parcialmente a hiperalgesia de PGE<sub>2</sub>. E quando da administração de GBR 12783 houve potencialização dessa antinocicepção revertendo totalmente a hiperalgesia (Figuras 40, 41 e 42).

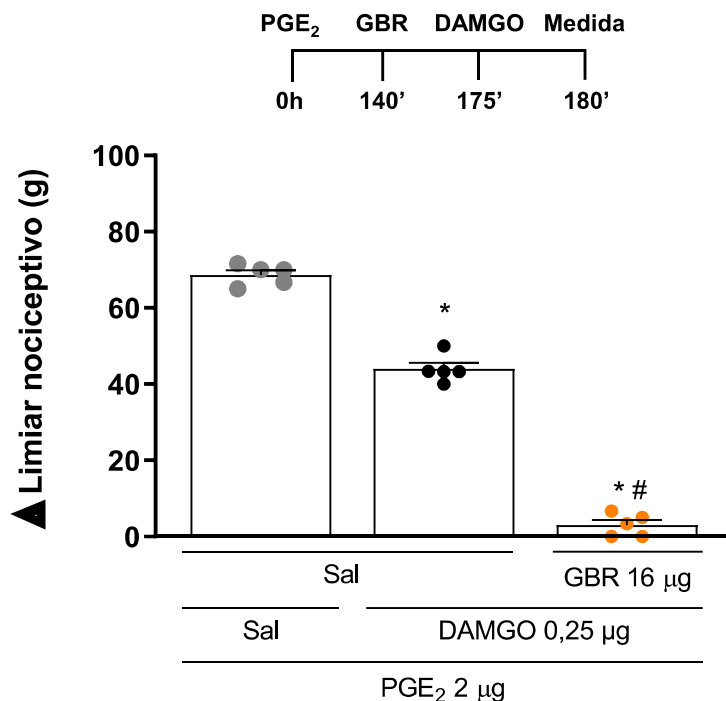


**Figura 40. Efeito do inibidor da recaptação de DA GBR 12783 sobre a antinociceção induzida por dose submáxima do agonista  $\mu$ -opioide DAMGO:** PGE<sub>2</sub> (2  $\mu$ g/pata), GBR 12783 (16  $\mu$ g/pata) e DAMGO (0,25  $\mu$ g/pata) ou seus veículos foram administrados nos tempos mostrados acima do gráfico. O limiar nociceptivo foi mensurado através do teste de retirada de pata em 180 min. Cada coluna representa a média  $\pm$  E.P.M. do  $\Delta$  limiar nociceptivo em gramas (g) para 5 camundongos por grupo. \* = diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo [PGE<sub>2</sub> + Sal + Sal]; # = diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo [PGE<sub>2</sub> + DAMGO + Sal]; Sal = Salina (NaCl 0,9%).

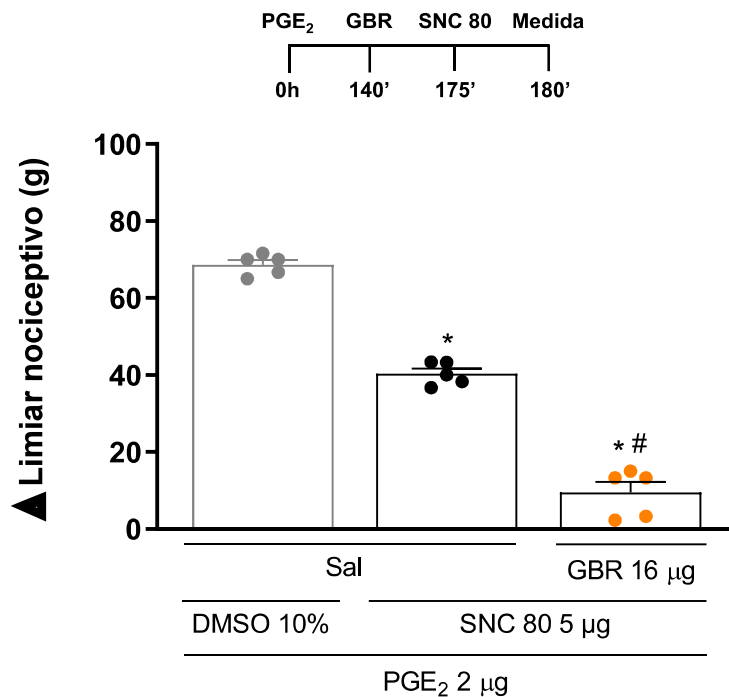


**Figura 41. Efeito do inibidor da recaptação de dopamina GBR 12783 sobre a antinocicepção induzida por dose submáxima do agonista  $\delta$ -opioide SNC 80:** PGE<sub>2</sub> (2 µg/pata), GBR 12783 (16 µg/pata) e SNC 80 (5 µg/pata) ou seus veículos foram administrados nos tempos representados acima do gráfico. O limiar nociceptivo foi mensurado através do teste de retirada de pata em 180 min. Cada coluna representa a média  $\pm$  E.P.M. do  $\Delta$  limiar nociceptivo em gramas (g) para 5 camundongos por grupo. \* = diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo [PGE<sub>2</sub> + DMSO 10% + Sal]; # = diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo [PGE<sub>2</sub> + SNC 80 + Sal]; Sal = Salina (NaCl 0,9%); DMSO = Dimetilsulfóxido 10% em salina.

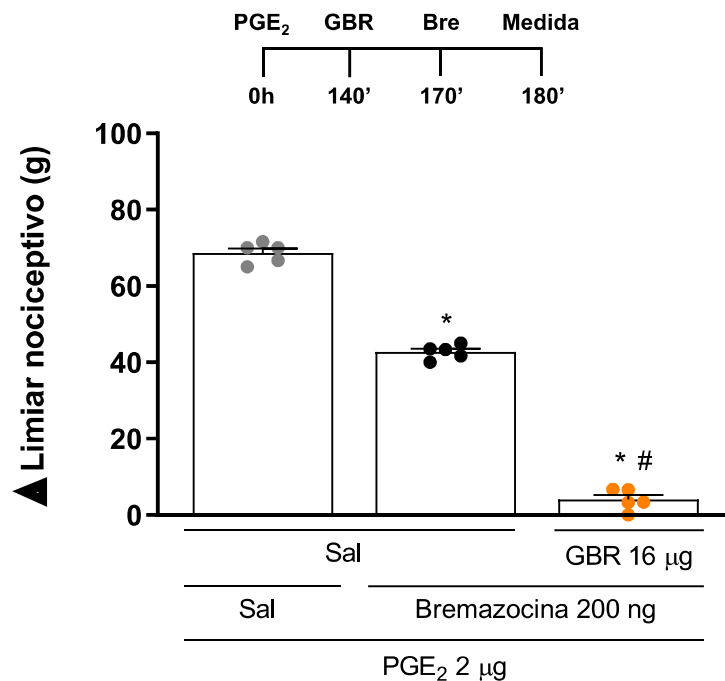


**Figura 42. Efeito do inibidor da recaptação de dopamina GBR 12783 sobre a antinocicepção induzida por dose submáxima do agonista  $\kappa$ -opioide Bremazocina:** PGE<sub>2</sub> (2  $\mu$ g/pata), GBR 12783 (16  $\mu$ g/pata) e Bremazocina (200 ng/pata) ou seus veículos foram administrados nos tempos representados acima do gráfico. O limiar nociceptivo foi mensurado através do teste de retirada de pata em 180 min. Cada coluna representa a média  $\pm$  E.P.M. do  $\Delta$  limiar nociceptivo em gramas (g) para 5 camundongos por grupo. \* = diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo [PGE<sub>2</sub> + Sal + Sal]; # = diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo [PGE<sub>2</sub> + Bremazocina + Sal]; Sal = Salina (NaCl 0,9%).

Posteriormente, para avaliar a participação dos receptores dopaminérgicos administrou-se os antagonistas D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> e D<sub>4</sub>, Remoxiprida (4 µg/pata), U 99194 (16 µg/pata) e L-745,870 (16 µg/pata), respectivamente, em animais que apresentavam antinocicepção induzida por dose máxima dos agonistas opioides µ, δ e κ, respectivamente DAMGO (1 µg/pata), SNC 80 (20 µg/pata) e Bremazocina (600 ng/pata). Os resultados sugerem um papel importante para os receptores D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub> uma vez que o antagonista desses receptores reverteu a antinocicepção dos agonistas opioides, enquanto que o antagonista de receptores D<sub>4</sub> não promoveu alteração no limiar nociceptivo dos animais (Figuras 43, 44 e 45).

Esses resultados sugerem a participação da DA endógena, com consequente ativação dos receptores D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub> na antinocicepção periférica induzida pelos agonistas opioides µ, δ e κ, enquanto que o receptor D<sub>4</sub> parece não ser ativado durante esse processo.

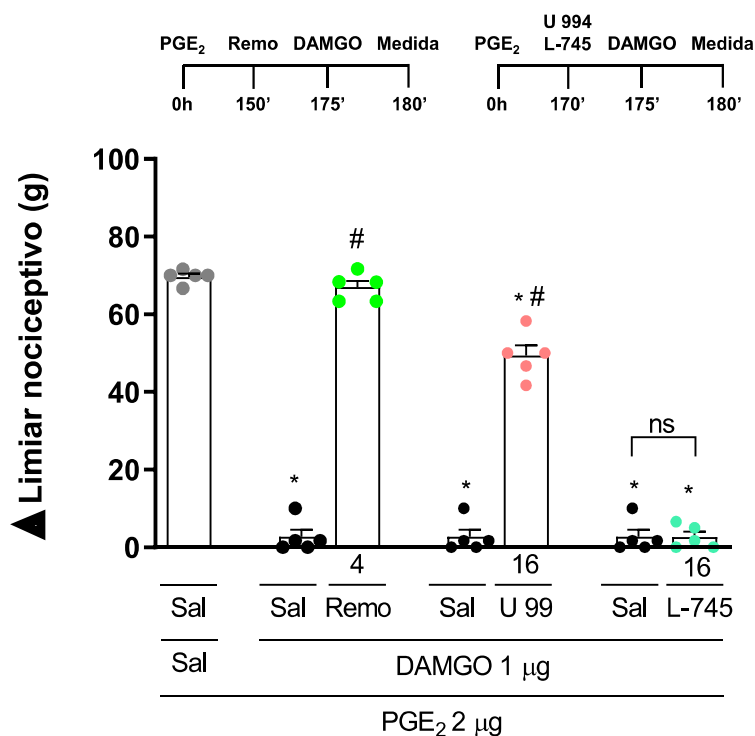


**Figura 43. Efeito dos antagonistas de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> Remoxiprida, D<sub>3</sub> U 99194 e D<sub>4</sub> L-745,870 na antinociceção induzida pelo agonista μ-opioide DAMGO:** PGE<sub>2</sub> (2 μg/pata), Remoxiprida (4 μg/pata), U 99194 (16 μg/pata), L-745,870 (16 μg/pata) e DAMGO (1 μg/pata) ou seus veículos foram administrados nos tempos mostrados acima do gráfico. O limiar nociceptivo foi mensurado através do teste de retirada de pata em 180 min. Cada coluna representa a média ± E.P.M. do Δ limiar nociceptivo em gramas (g) para 5 camundongos por grupo. \* = diferença estatisticamente significativa (p<0,05) comparado ao grupo [PGE<sub>2</sub> + Sal + Sal]; # = diferença estatisticamente significativa (p<0,05) comparado ao grupo [PGE<sub>2</sub> + DAMGO + Sal]; ns = diferença não estatisticamente significativa; Sal = Salina (NaCl 0,9%); Remo = Remoxiprida.

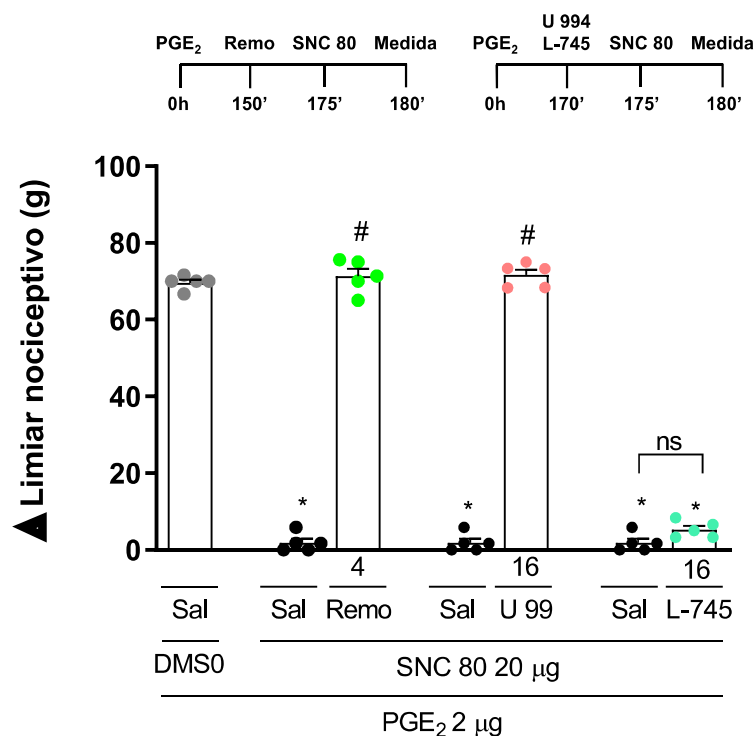


**Figura 44. Efeito dos antagonistas de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> Remoxiprida, D<sub>3</sub> U 99194 e D<sub>4</sub> L-745,870 na antinociceção induzida pelo agonista  $\delta$ -opioide SNC 80:** PGE<sub>2</sub> (2  $\mu$ g/pata), Remoxiprida (4  $\mu$ g/pata), U 99194 (16  $\mu$ g/pata), L-745,870 (16  $\mu$ g/pata) e SNC 80 (20  $\mu$ g/pata) ou seus veículos foram administrados nos tempos mostrados acima do gráfico. O limiar nociceptivo foi mensurado através do teste de retirada de pata em 180 min. Cada coluna representa a média  $\pm$  E.P.M. do  $\Delta$  limiar nociceptivo em gramas (g) para 5 camundongos por grupo. \* = diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo [PGE<sub>2</sub> + DMSO + Sal]; # = diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo [PGE<sub>2</sub> + SNC 80 + Sal]; ns = diferença não estatisticamente significativa; Sal = Salina (NaCl 0,9%); DMSO = Dimetilsulfóxido 10% em salina; Remo = Remoxiprida.

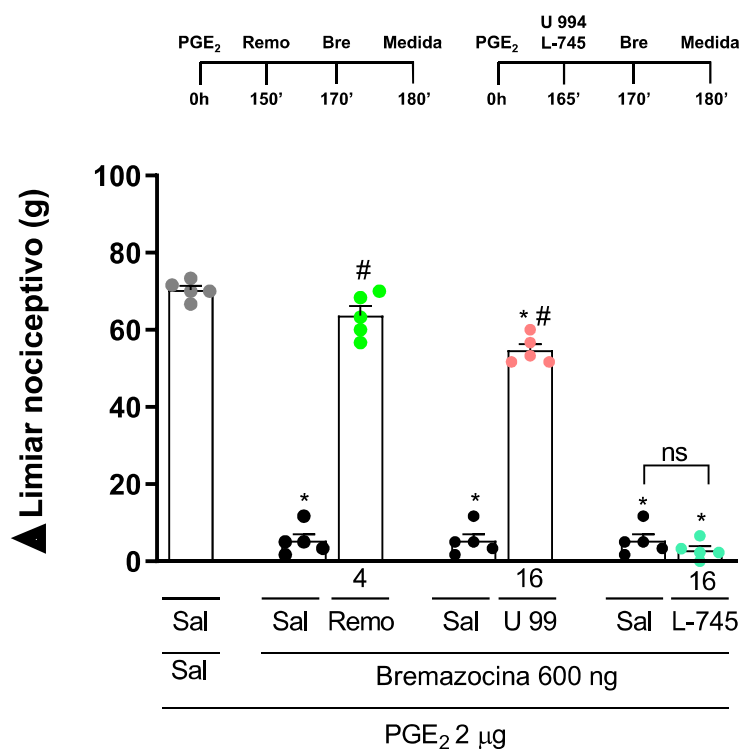


**Figura 45. Efeito dos antagonistas de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> Remoxiprida, D<sub>3</sub> U 99194 e D<sub>4</sub> L-745,870 na antinociceção induzida pelo agonista  $\kappa$ -opioide Bremazocina:** PGE<sub>2</sub> (2  $\mu$ g/pata), Remoxiprida (4  $\mu$ g/pata), U 99194 (16  $\mu$ g/pata), L-745,870 (16  $\mu$ g/pata) e Bremazocina (600 ng/pata) ou seus veículos foram administrados nos tempos representados acima do gráfico. O limiar nociceptivo foi mensurado através do teste de retirada de pata em 180 min. Cada coluna representa a média  $\pm$  E.P.M. do  $\Delta$  limiar nociceptivo em gramas (g) para 5 camundongos por grupo. \* = diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo [PGE<sub>2</sub> + Sal + Sal]; # = diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) comparado ao grupo [PGE<sub>2</sub> + Bremazocina + Sal]; ns = diferença não estatisticamente significativa; Sal = Salina (NaCl 0,9%); Remo = Remoxiprida.

## **5.6 Participação do sistema dopaminérgico endógeno na antinocicepção induzida por canabinoides**

Para avaliar a participação da dopamina (DA) endógena na antinocicepção periférica induzida pelos canabinoides anandamida (AEA) e 2-Arachidonoilglicerol (2-AG) utilizou-se o inibidor da recaptação de DA – GBR 12783 (16 µg/pata) em conjunto com dose submáxima desses canabinoides. AEA (12,5 ng/pata) e 2-AG (10 µg/pata) quando administrados em animais com hiperalgesia induzida por PGE<sub>2</sub> (2 µg/pata) promoveu antinocicepção intermediária, revertendo parcialmente a hiperalgesia. Quando da utilização do inibidor GBR, a antinocicepção de AEA não foi potencializada, não havendo alteração do limiar nociceptivo (Figura 46). Diferentemente, o inibidor GBR, quando administrado em conjunto com 2-AG, promoveu a potencialização da antinocicepção induzida por dose submáxima desse endocanabinoide (Figura 47), demonstrando que a DA endógena está envolvida nesse processo.

Dito isso, avaliou-se a participação dos receptores dopaminérgicos. Os antagonistas de receptores D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub>, Remoxiprida (4 µg/pata) e U 99194 (16 µg/pata), promoveram a reversão da antinocicepção de dose máxima de 2-AG (20 µg/pata). De forma contrária, o antagonista D<sub>4</sub> não alterou o limiar nociceptivo dos animais (Figura 48).

Esses resultados sugerem a participação da DA endógena, com consequente ativação dos receptores D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub> na antinocicepção periférica induzida pelo endocanabinoide 2-AG. Em relação a AEA, DA parece não estar envolvida em seu efeito analgésico, periféricamente.

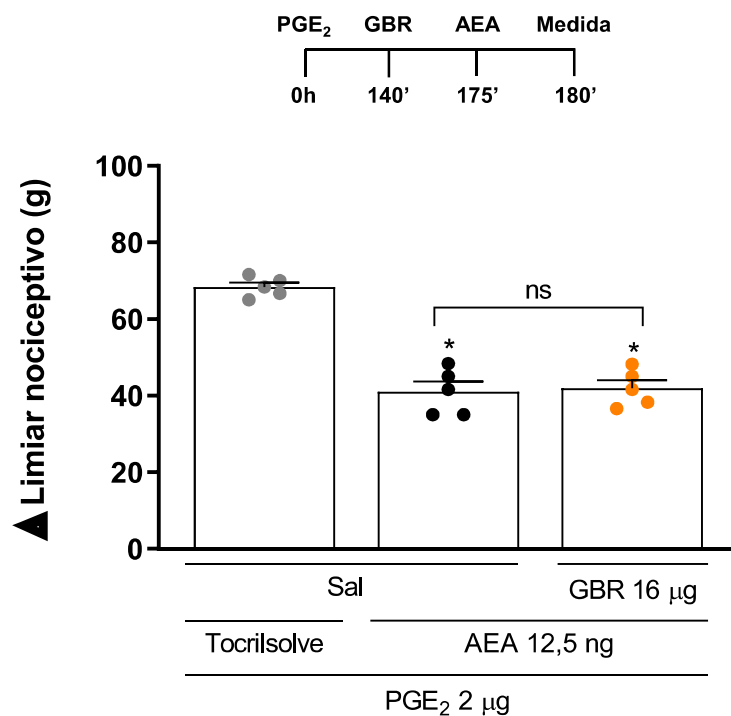


**Figura 46. Efeito do inibidor da recaptação de dopamina GBR 12783 na antinociceção induzida por dose submáxima do agonista canabinoide AEA:** PGE<sub>2</sub> (2 µg/pata), GBR 12783 (16 µg/pata) e AEA (12,5 ng/pata) ou seus veículos foram administrados nos tempos representados acima do gráfico. O limiar nociceptivo foi mensurado através do teste de retirada de pata em 180 min. Cada coluna representa a média ± E.P.M. do Δ limiar nociceptivo em gramas (g) para 5 camundongos por grupo. \* = diferença estatisticamente significativa (p<0,05) comparado ao grupo [PGE<sub>2</sub> + Tocrisolve + Sal]; ns = diferença não estatisticamente significativa; Sal = Salina (NaCl 0,9%); AEA = anandamida.

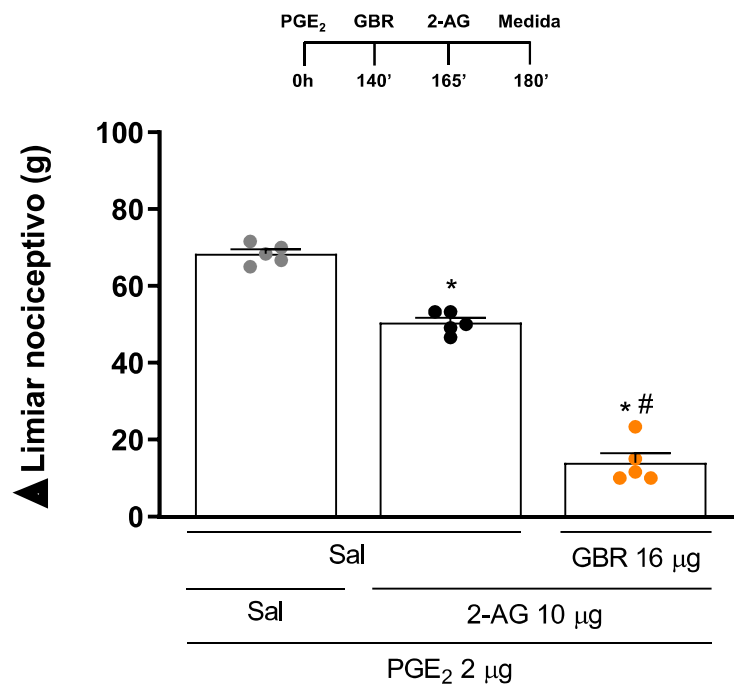


**Figura 47. Efeito do inibidor da recaptação de dopamina GBR 12783 na antinociceção induzida por dose submáxima do agonista canabinoide 2-AG:** PGE<sub>2</sub> (2 µg/pata), GBR 12783 (16 µg/pata) e 2-AG (10 µg/pata) ou seus veículos foram administrados nos tempos representados acima do gráfico. O limiar nociceptivo foi mensurado através do teste de retirada de pata em 180 min. Cada coluna representa a média ± E.P.M. do Δ limiar nociceptivo em gramas (g) para 5 camundongos por grupo. \* = diferença estatisticamente significativa (p<0,05) comparado ao grupo [PGE<sub>2</sub> + Sal + Sal]; # = diferença estatisticamente significativa (p<0,05) comparado ao grupo [PGE<sub>2</sub> + 2-AG + Sal]; Sal = Salina (NaCl 0,9%).

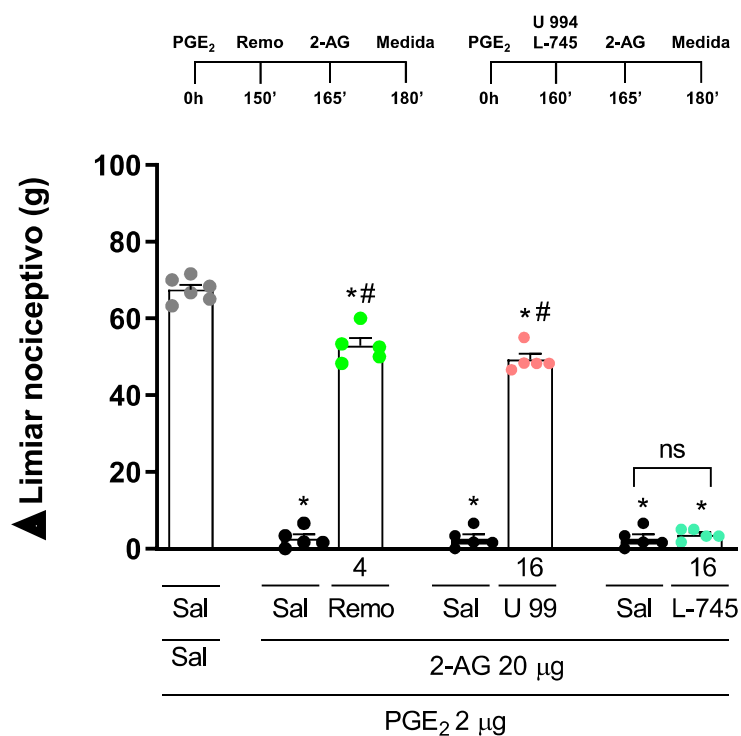


**Figura 48. Efeito dos antagonistas de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> Remoxiprida, D<sub>3</sub> U 99194 e D<sub>4</sub> L-745,870 na antinociceção induzida por 2-AG:** PGE<sub>2</sub> (2 μg/pata), Remoxiprida (4 μg/pata), U 99194 (16 μg/pata), L-745,870 (16 μg/pata) e 2-AG (20 μg/pata) ou seus veículos foram administrados nos tempos representados acima do gráfico. O limiar nociceptivo foi mensurado através do teste de retirada de pata em 180 min. Cada coluna representa a média ± E.P.M. do Δ limiar nociceptivo em gramas (g) para 5 camundongos por grupo. \* = diferença estatisticamente significativa (p<0,05) comparado ao grupo [PGE<sub>2</sub> + Sal + Sal]; # = diferença estatisticamente significativa (p<0,05) comparado ao grupo [PGE<sub>2</sub> + 2-AG + Sal]; ns = diferença não estatisticamente significativa; Sal = Salina (NaCl 0,9%); Remo = Remoxiprida.

## 5.7 Controle dos fármacos e veículos utilizados para avaliação do sistema dopaminérgico

Como controle, todos os fármacos do sistema dopaminérgico e veículos utilizados foram administrados, isoladamente em animais *naïve*. Os resultados mostram que tanto os inibidores da recaptação e degradação de DA (Figura 49), quanto os antagonistas de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> e D<sub>4</sub> (Figura 50) não promoveram alteração no limiar nociceptivo dos animais se comparado aos grupos controle que receberam apenas os veículos das drogas.

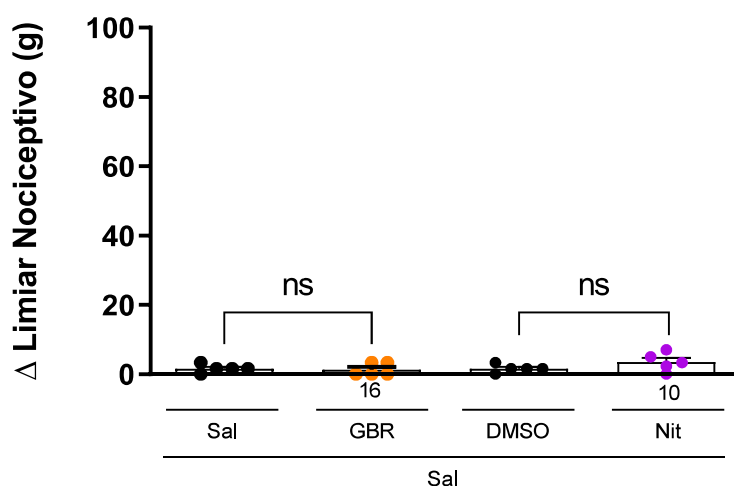


**Figura 49. Efeito dos inibidores da recaptação e degradação de DA administrado isoladamente:** Sal/DMSO, GBR 12783 (16 µg/pata) e Nitecapona (10 µg/pata) foram administrados em 0h. O limiar nociceptivo foi mensurado através do teste de retirada de pata. Cada coluna representa a média ± E.P.M. do Δ limiar nociceptivo em gramas (g) para 5 camundongos por grupo. ns = diferença não estatisticamente significativa comparado ao grupo controle [Sal + Sal] ou [Sal + DMSO]; DMSO = Dimetilsulfóxido 4% em salina; Sal = Salina (NaCl 0,9%).

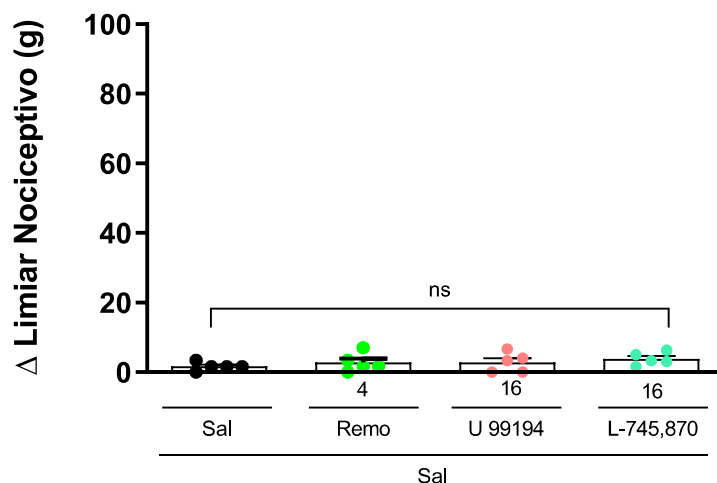


**Figura 50. Efeito dos antagonistas dos receptores dopaminérgicos administrado isoladamente:** Sal, Remoxiprida (antagonista de receptores D<sub>2</sub>; 4 µg/pata); U 99 194 (antagonista de receptores D<sub>3</sub>; 16 µg/pata) e L-745;870 (antagonista de receptores D<sub>4</sub>; 16 µg/pata) foram administrados em 0h. O limiar nociceptivo foi mensurado através do teste de retirada de pata. Cada coluna representa a média ± E.P.M. do Δ limiar nociceptivo em gramas (g) para 5 camundongos por grupo. ns = diferença não estatisticamente significativa comparado ao grupo controle [Sal + Sal]; Remo = Remoxiprida; Sal = Salina (NaCl 0,9%).

## 5.8 Resumo dos resultados dos ensaios farmacológicos

Os resultados do estudo farmacológico realizado estão representados nas Tabelas 1 e 2, apresentadas a seguir. “+” significa que os fármacos em questão induziram alteração no limiar nociceptivo dos animais e “-” significa que não. NT significa fármacos não testados. GBR 12783 – inibidor da recaptação de dopamina; Nitecapona – inibidor da degradação de dopamina; Remoxiprida – antagonista de receptores D<sub>2</sub>; U 99194 – antagonista de receptores D<sub>3</sub>; L-745,870 – antagonista de receptores D<sub>4</sub>; CCI – injúria por constrição crônica.

**Tabela 1. Resumo dos resultados do estudo sobre a participação do sistema dopaminérgico endógeno na modulação periférica da dor inflamatória e neuropática**

|                    | Dor inflamatória |              |        |              |                  |    | Dor neuropática |
|--------------------|------------------|--------------|--------|--------------|------------------|----|-----------------|
|                    | CG               | TNF $\alpha$ | CXCL-1 | IL-1 $\beta$ | PGE <sub>2</sub> | NA | CCI             |
| <b>GBR 12783</b>   | +                | +            | +      | +            | -                | -  | +               |
| <b>Nitecapona</b>  | +                | +            | +      | +            | NT               | NT | NT              |
| <b>Remoxiprida</b> | +                | +            | +      | +            | -                | -  | +               |
| <b>U 99194</b>     | -                | -            | +      | +            | NT               | NT | +               |
| <b>L-745-870</b>   | +                | -            | +      | +            | NT               | NT | -               |

**Tabela 2. Resumo dos resultados da avaliação da participação do sistema dopaminérgico endógeno na antinocicepção periférica de opioides e canabinoides**

|                    | Opioides |        |     | Canabinoides |      |
|--------------------|----------|--------|-----|--------------|------|
|                    | DAMGO    | SNC 80 | Bre | AEA          | 2-AG |
| <b>GBR 12783</b>   | +        | +      | +   | -            | +    |
| <b>Remoxiprida</b> | +        | +      | +   | NT           | +    |
| <b>U 99194</b>     | +        | +      | +   | NT           | +    |
| <b>L-745-870</b>   | -        | -      | -   | NT           | -    |

## 5.9 Estudo qualitativo da localização dos receptores dopaminérgicos em tecido de pata pelo método de imunohistoquímica

Para avaliar a localização dos receptores dopaminérgicos do tipo D<sub>2</sub> foram realizadas análises qualitativas de ensaios de imunohistoquímica no tecido de pata de animais previamente tratados com carragenina (CG), prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), salina, animais submetidos a cirurgia de constrição do nervo ciático (CCI), além do grupo controle *naïve*.

### 5.9.1 Carragenina

Os animais tratados com CG receberam as doses de 100 e 200 µg/pata. A coleta dos tecidos foi realizada 1h, 2h e 3h após a administração de CG. A Figura 51 mostra o resultado temporal da administração de CG 100 µg/pata, na qual pode ser observada imunopositividade para receptores D<sub>2</sub> em queratinócitos que compõe a epiderme, com maior intensidade na segunda hora (120 min) de efeito de CG. Esses resultados estão em consonância com nossos dados comportamentais/farmacológicos que demonstraram a ativação dos receptores D<sub>2</sub> na primeira e segunda hora de efeito de CG, com maior ativação do sistema dopaminérgico na segunda hora (Figura 30 da sessão 5.3). Para os outros grupos de CG avaliados foi seguido o mesmo padrão de localização, principalmente em região de epiderme.

O grupo controle negativo foi o único grupo que não foi submetido à presença do anticorpo e foi realizado em animais sem qualquer estímulo. O grupo *naïve* recebeu o anticorpo, porém sem nenhum tipo de tratamento e os animais salina receberam injeção de salina (NaCl 0,9%) por via intraplantar em volume de 20 µL.

Em outras regiões do corte histológico pôde ser observada qualitativamente imunopositividade para receptores D<sub>2</sub> na musculatura lisa que circunda os vasos sanguíneos e em algumas células com características de células inflamatórias no tecido conjuntivo que compõe a derme, principalmente no grupo CG 200 µg/pata (Figura 52).

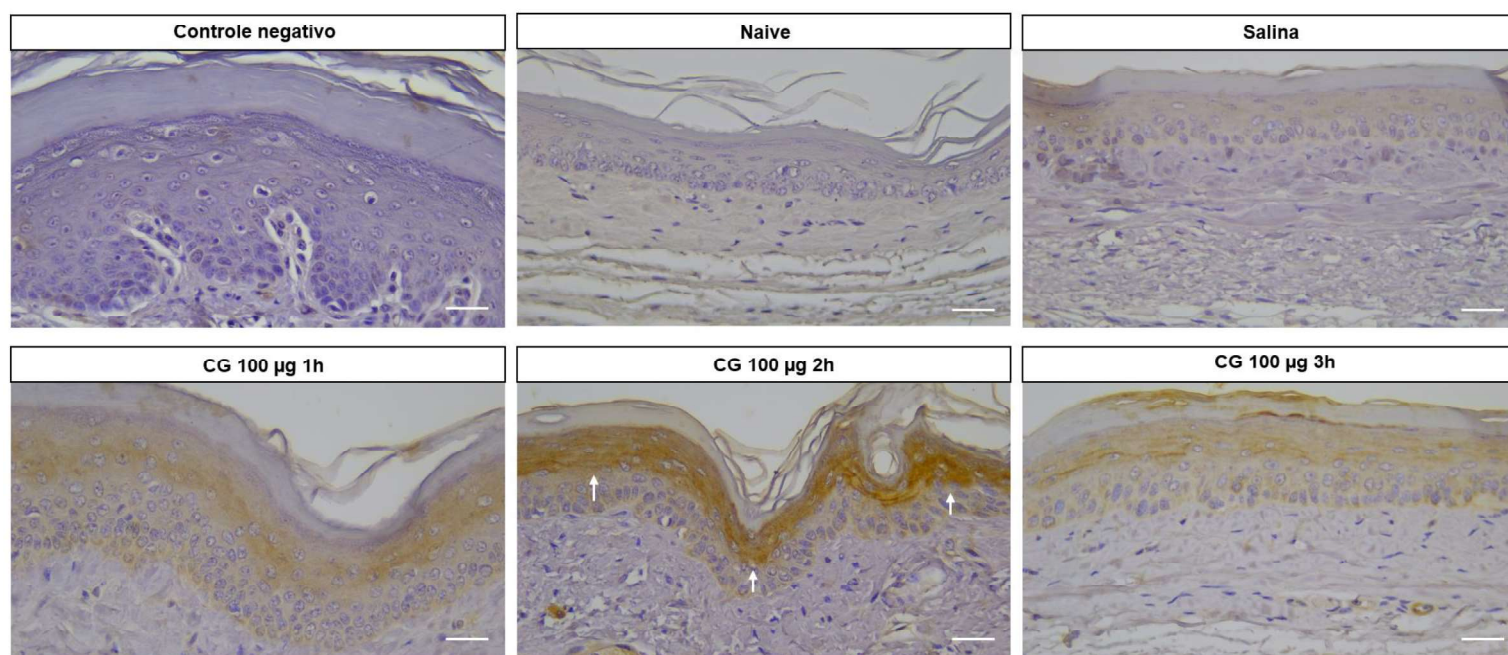


**Figura 51. Análise qualitativa da localização de receptores dopaminérgicos  $D_2$  pelo método de imunohistoquímica após administração de CG:** Carragenina (CG; 100  $\mu$ g/pata) ou seu veículo (Salina) foram administrados em 0h na pata posterior direita dos animais. O tecido da pata foi coletado 1h, 2h ou 3h após administração. Imunopositividade para receptores  $D_2$  foi observada em tecido epitelial (indicado pelas setas brancas); Barra de escala = 100  $\mu$ m.

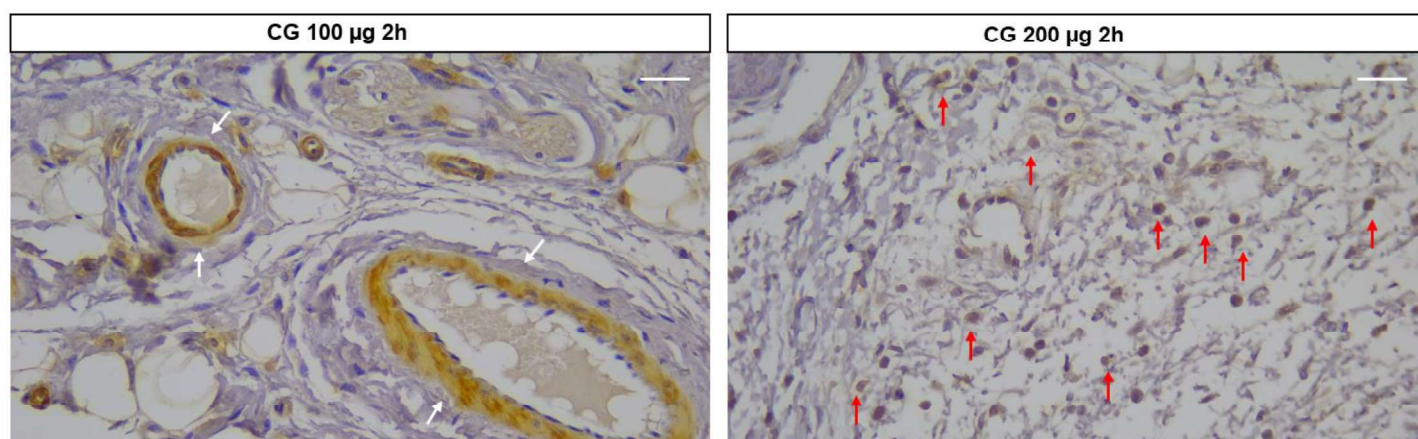


**Figura 52. Análise qualitativa da localização de receptores dopaminérgicos  $D_2$  pelo método de imunohistoquímica após administração de CG:** Carragenina (CG; 100 ou 200  $\mu$ g/pata) foi administrada em 0h na pata posterior direita dos animais. Imunopositividade para receptores  $D_2$  foi observada em células musculares lisas que circundam vasos sanguíneos (indicado pelas setas brancas) e em células inflamatórias do tecido conjuntivo que compõe a derme (setas vermelhas); Barra de escala = 100  $\mu$ m.

### 5.9.2 Prostaglandina E<sub>2</sub>

Nas análises farmacológicas realizadas anteriormente, a hiperalgesia induzida pela administração de PGE<sub>2</sub> não deflagrou a mobilização do sistema dopaminérgico para modulação da dor. Dessa forma, foi realizada a análise qualitativa dos receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> pelo método de imunohistoquímica a fim de confirmar os resultados obtidos nos experimentos comportamentais. Assim, os animais receberam administração intraplantar de PGE<sub>2</sub> (1 e 2 µg/pata) e após duas horas de administração o tecido da pata foi coletado. A análise qualitativa dos resultados obtidos demonstra não haver imunopositividade para receptores D<sub>2</sub> em animais tratados com PGE<sub>2</sub>, principalmente em comparação com o grupo que recebeu apenas salina, condizente com os dados comportamentais obtidos em nosso estudo (Figura 53).

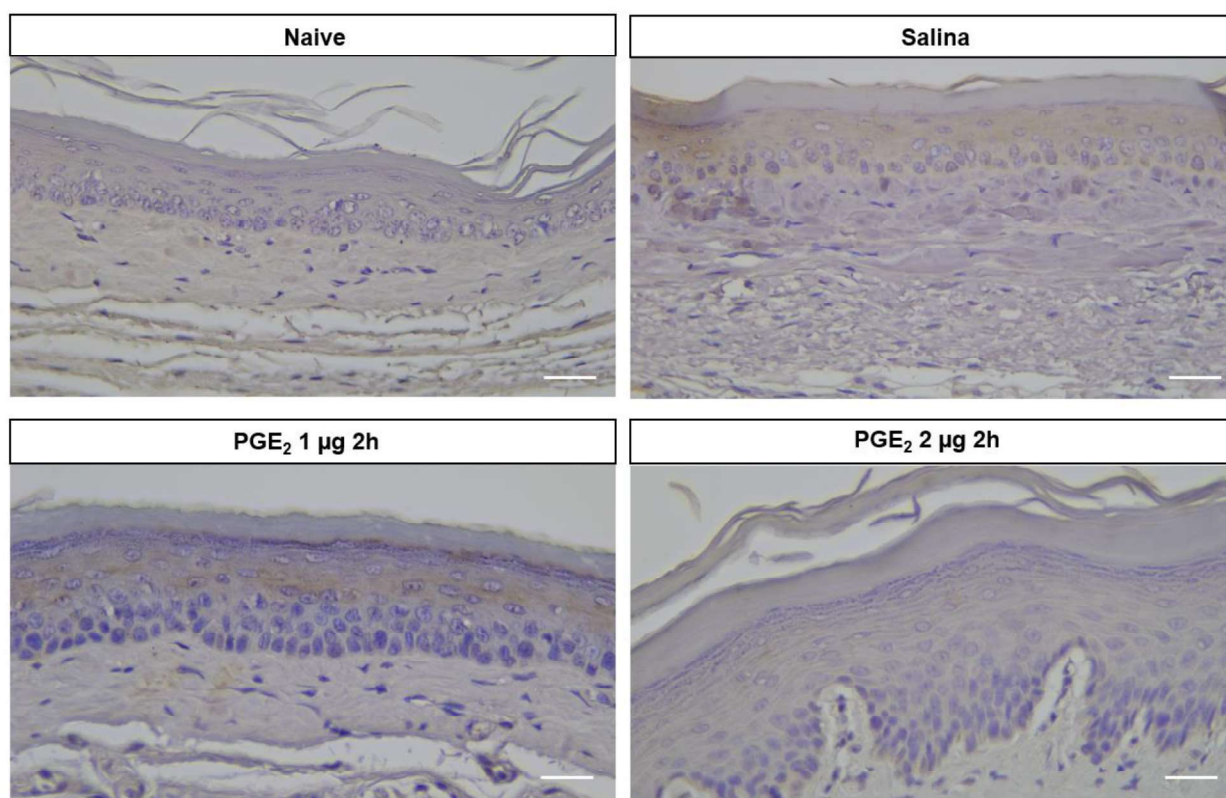


**Figura 53. Análise qualitativa da localização de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> pelo método de imunohistoquímica após administração de PGE<sub>2</sub>:** Prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>; 1 ou 2 µg/pata) foi administrada em 0h na pata posterior direita dos animais. O tecido foi coletado duas horas após administração (120 min). Barra de escala = 100 µm.

### 5.9.3 Neuropatia

Para análise qualitativa da localização dos receptores D<sub>2</sub> em tecido de pata de animais com dor neuropática os animais foram submetidos à cirurgia de contração crônica do nervo ciático (CCI). Após 6 e 12 dias do procedimento cirúrgico os animais foram eutanasiados e o tecido de pata foi coletado para análise imunohistoquímica. A Figura 53 mostra imunopositividade para receptores D<sub>2</sub> em queratinócitos que compõe a epiderme, com maior intensidade no 12º dia de desenvolvimento da neuropatia, seguindo o mesmo padrão de localização dos outros grupos analisados.

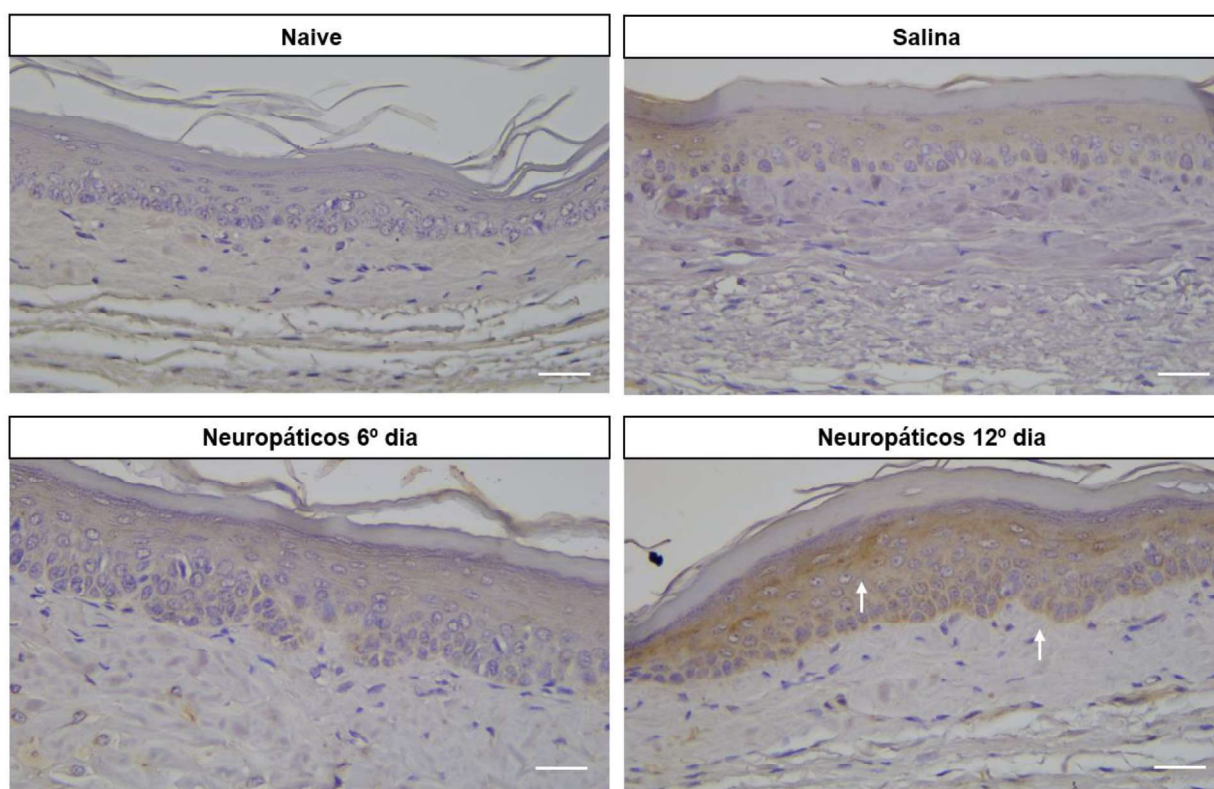


**Figura 54. Análise qualitativa da localização de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> pelo método de imunohistoquímica CCI:** A cirurgia de contração crônica do nervo ciático (CCI) foi realizada no dia 0. Após 6 e 12 dias os tecidos de pata foram coletados. Imunopositividade para receptores D<sub>2</sub> foi observada em queratinócitos presentes na epiderme (indicada pelas setas brancas), mais fortemente corados no 12º dia; Barra de escala = 100 µm.

## ***Discussão***

---

---

## 6. DISCUSSÃO

A IASP (Associação internacional para o estudo da dor) classificou a dor em diferentes tipos: nociceptiva, inflamatória, neuropática e disfuncional. Sabe-se que para os diferentes tipos de dor existem fatores etiológicos e mecanismos fisiopatológicos distintos (Scholz e Woolf, 2002; Woolf, 2010), o que torna necessária a busca por estratégias terapêuticas mais específicas. O presente trabalho objetivou estudar a modulação endógena dopaminérgica, periféricamente, em diferentes tipos de dor. A dor inflamatória foi induzida pela carragenina (CG) e pelos mediadores inflamatórios. O estudo da dor neuropática foi realizado através do modelo de constrição crônica do nervo ciático (CCI), induzindo uma neuropatia periférica. Já para a avaliação da participação do sistema dopaminérgico na antinocicepção de opioides e canabinoides foi utilizado um modelo de dor nociceptiva induzida pela administração de prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>).

### Dor inflamatória

Durante o processo inflamatório acontece a liberação de uma série de mediadores responsáveis pelos sinais e sintomas locais e sistêmicos da inflamação (Dinarello, 2000; Hopkins, 2003; Cunha e Ferreira, 2003). Esses mediadores são liberados em uma cascata na qual, em última instância, ocorre a liberação de eicosanoides e aminas simpáticas (Ferreira e Nakamura, 1979; Nakamura e Ferreira, 1987) responsáveis por sensibilizar os nociceptores, causando dor (Poole et al., 2000). Em nosso estudo utilizamos o modelo experimental da carragenina (CG) para indução da dor inflamatória.

A CG é um polissacarídeo derivado de algas marinhas da classe Rhodophyceae. Além de suas aplicabilidades na indústria alimentícia (Van de Velde et al., 2002) e farmacêutica (Necas e Bartosikova, 2013), é amplamente utilizada na pesquisa experimental. A indução de inflamação através da administração de CG é um modelo consagrado (Winter et al., 1962; Di Rosa et al., 1972) e rotineiramente utilizado para avaliação de inflamação local e hiperalgesia (Kawabata et al., 1992; Fehrenbacher et al., 2012; Motta et al.,

2011; Alves et al., 2013; Oliveira et al., 2018; Oliveira et al., 2019; Quintão et al., 2021; Gonzaga et al., 2024), além de ser importante instrumento na busca por substâncias com efeitos analgésico e/ou anti-inflamatório.

A administração de CG promove a liberação de uma cascata de mediadores, reproduzindo o processo inflamatório. Cunha e colaboradores, em 2005, descreveram a sequência de eventos que ocorre após a injeção de CG na pata de camundongos. As primeiras citocinas a serem liberadas, de forma concomitante, são o fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) e CXCL-1. Em seguida, ocorre a liberação de interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), induzida tanto por TNF- $\alpha$  quanto por CXCL-1. Por sua vez, IL-1 $\beta$  promove a liberação de eicosanoides como as PGs, que vão sensibilizar diretamente o nociceptor. Outro mecanismo de sensibilização do nociceptor se dá pela liberação de aminas simpatomiméticas, representadas em nosso estudo pela noradrenalina (NA).

Diversos estudos realizados por nosso grupo de pesquisa avaliaram a modulação periférica da dor inflamatória por diferentes sistemas endógenos utilizando o modelo de CG (Motta et al. 2011; Alves et al., 2012; Costa et al., 2014; Quintão et al., 2021; Gonzaga et al., 2024). Motta e colaboradores (2011) demonstraram que a neostigmina, um inibidor da degradação de acetilcolina, reverteu a dor inflamatória induzida pela CG enquanto que a atropina, antagonista muscarínico, promoveu redução significativa no limiar nociceptivo. Adicionalmente, Gonzaga e colaboradores (2024) avaliaram o papel do sistema colinérgico na modulação da dor inflamatória induzida pelos mediadores liberados na cascata de CG e demonstraram a participação do sistema colinérgico na modulação da dor inflamatória induzida tanto por CG quanto por TNF $\alpha$ , CXCL-1 e IL-1 $\beta$ . Similarmente, a ativação do sistema opioide endógeno durante a inflamação induzida por CG, TNF $\alpha$ , CXCL-1 e IL-1 $\beta$  promoveu a regulação da hiperalgesia, modulando-a em nível periférico (Alves et al., 2012; Quintão et al., 2021).

No presente estudo, para avaliar o papel do sistema dopaminérgico na modulação periférica da dor inflamatória, fizemos uso de ferramentas farmacológicas capazes de promover aumento da disponibilidade de dopamina

(DA) endógena. O conceito de recaptação de um neurotransmissor foi introduzido ainda em 1961, quando Hertting e Axelrod demonstraram, pela primeira vez, a recaptação de NA em terminais nervosos simpáticos. O estudo propôs a recaptação como importante mecanismo de inativação de um neurotransmissor e além disso, destaca o papel dos transportadores de monoaminas na regulação de suas concentrações extracelulares. Uma vez que o processo de recaptação indisponibiliza o neurotransmissor, fármacos que promovem a inibição de sua recaptação fazem o oposto, pelo aumento de sua disponibilidade. O transportador de DA (DAT) é uma proteína presente na membrana celular dos neurônios dopaminérgicos, responsável por regular os níveis de DA por meio de sua recaptação do meio extracelular para o interior do neurônio pré-sináptico (Torres et al., 2003; Oliveira et al., 2021). Fármacos que inibem esse processo, aumentam os níveis de DA extracelular.

Da mesma forma, a inibição das enzimas envolvidas no processo de metabolização de DA também são mecanismos de potencialização do efeito dopaminérgico. A DA é metabolizada por duas diferentes enzimas: monoamina oxidase (MAO), responsável por degradar monoaminas (serotonina, DA, NA e adrenalina) e pela enzima catecol-O-metil transferase (COMT) que degrada catecolaminas (DA, NA e adrenalina; Bachrach et al., 1992). Em nosso estudo, utilizamos o inibidor da enzima COMT – Nitecapona, para avaliar o efeito periférico da inibição da degradação de DA na dor inflamatória.

Diante do exposto, utilizamos os inibidores de DAT e da enzima COMT – GBR 12783 e Nitecapona, respectivamente –, em animais que apresentavam hiperalgesia induzida por CG e pelos mediadores inflamatórios liberados em sua cascata –  $\text{TNF}\alpha$ , CXCL-1, IL-1 $\beta$ , PGE<sub>2</sub> e NA. Os estudos de Quintão e colaboradores (2021) e Gonzaga e colaboradores (2024) descreveram o efeito temporal e dose-resposta desses mediadores, e esses dados foram utilizados para embasar nosso protocolo experimental. Assim, nossos resultados mostraram que o aumento da disponibilidade de DA, pela inibição de sua recaptação e degradação, promoveu a modulação inibitória da dor inflamatória induzida por CG,  $\text{TNF}\alpha$ , CXCL-1 e IL-1 $\beta$ . Em contra partida, PGE<sub>2</sub> e NA parecem não deflagrar tal efeito. Adicionalmente, as doses dos inibidores

utilizados apresentaram apenas efeito local, não alterando o limiar nociceptivo da pata contralateral em experimentos de exclusão do efeito sistêmico.

Devido a atividade da enzima COMT em degradar não só DA, mas outras catecolaminas, como por exemplo a NA, que também apresenta efeito antinociceptivo em nível periférico (Romero et al., 2012; Romero et al., 2013), a fim de isolar apenas o efeito dopaminérgico utilizamos Remoxiprida, antagonista seletivo de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub>, em conjunto com Nitecapona, em animais com hiperalgesia induzida por CG. Remoxiprida reverteu parcialmente a antinocicepção induzida por Nitecapona mostrando que, em parte, essa antinocicepção está relacionada especificamente a DA.

Citocinas pró-inflamatórias, como TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-1 $\beta$ , estão implicadas na indução e manutenção da dor, facilitando a sensibilização e a hiperalgesia (Dureja et al., 2017; Ronchetti et al., 2017). Portanto, a inibição dessas citocinas resulta em redução rápida da dor antes mesmo da atenuação e resolução do processo inflamatório. Por outro lado, estudos mostraram que a DA pode inibir a liberação de citocinas pró-inflamatórias como TNF $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , além de atenuar o efeito quimiotático de IL-8 e promover a inibição da adesão endotelial (Bergmann e Sautner, 2002; Kawano et al., 2018). Adicionalmente, células imunes como linfócitos e neutrófilos expressam o transportador de DA (DAT) e os transportadores vesiculares de monoaminas (VMAT), sugerindo um efeito regulatório da DA em respostas imunes promovidas por essas células (Amenta et al., 2001). Além disso, a DA pode ser sintetizada por células de defesa e os receptores dopaminérgicos podem ser expressos na superfície dessas células (Nakano et al., 2009a e b; Arreola et al., 2016; Keren et al., 2019; Matt e Gaskill, 2020). Esses dados sugerem que a DA apresenta papel regulador durante a resposta imune.

Após identificar a participação da DA endógena na modulação periférica da dor inflamatória induzida pelos diferentes mediadores, fez-se necessária a investigação de quais receptores dopaminérgicos seriam ativados para induzir tal efeito. A DA promove seus efeitos através da ativação de 5 tipos de receptores dopaminérgicos, subdivididos em 2 famílias de acordo com sua

capacidade de modular a produção de AMPc (Cools e Van Rossum, 1976; Keababian e Calne, 1979; Missale et al., 1998 Vallone et al., 2000). Em nível periférico foi demonstrado que a ativação dos receptores da família D1 (D<sub>1</sub> e D<sub>5</sub>) promovem efeitos pró-nociceptivos, enquanto que os receptores da família D2 (D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> e D<sub>4</sub>) estão envolvidos na antinocicepção mediada pela DA (Queiroz et al., 2022). Dito isso, no presente trabalho, avaliou-se a atividade desses receptores na modulação periférica da dor induzida pela CG e por TNF $\alpha$ , CXCL-1 e IL-1 $\beta$ .

Nossos resultados sugerem que a modulação periférica da dor inflamatória pela DA é dependente da ativação dos receptores da família D2, principalmente o subtipo D<sub>2</sub>. Curiosamente, a depender do tipo de mediador inflamatório que deflagra a modulação dopaminérgica, subtipos diferentes dos receptores da família D2 são ativados. Esses resultados podem estar relacionados a afinidade desses receptores pela DA e a quantidade de DA liberada durante o processo de modulação. Quando da dor inflamatória induzida por CG, os receptores D<sub>2</sub> e D<sub>4</sub> foram ativados para promover a modulação. Em relação ao TNF $\alpha$ , apenas o receptor D<sub>2</sub> foi ativado. Quando a dor inflamatória foi induzida pelas citocinas CXCL-1 e IL-1 $\beta$ , todos os três receptores da família D2 foram ativados para promover a reversão da dor. Em consonância com nossos resultados, dados da literatura associam a ativação dos receptores D2 à inibição da dor inflamatória. Microinjeções do agonista de receptores D2 quinpirol no núcleo accumbens reverteu a dor inflamatória induzida por formalina (Taylor et al., 2003). Em outro estudo, a administração intratecal de agonistas e antagonistas de receptores D2 demonstrou o envolvimento desses receptores na inibição central da hiperalgesia induzida por CG (Gao et al., 2001).

Com base no exposto acima, nossos dados fornecem evidências sugerindo que o sistema dopaminérgico endógeno pode ser ativado durante a inflamação como controle modulatório de retroalimentação negativa da dor inflamatória, indicando um papel importante para os receptores dopaminérgicos do tipo D<sub>2</sub>.

## **Dor neuropática**

A dor neuropática afeta grande parte da população, sendo uma condição debilitante e incapacitante. A ausência de tratamentos eficazes se dá pela incapacidade dos protocolos terapêuticos em atuar diretamente nos mecanismos da doença, uma vez que, muitas dessas síndromes ainda não apresentam seus mecanismos fisiopatológicos totalmente elucidados (Henningsen et al., 2007). Em relação a terapêutica farmacológica, anticonvulsivantes, opioides, antidepressivos, antagonistas NMDA, canabinoides e medicamentos tópicos são usados no tratamento da dor neuropática (Finnerup et al., 2005; Vranken, 2009). E mesmo com toda essa variedade de medicamentos, a maior parte dos pacientes não apresenta efeito analgésico satisfatório. Além disso, os efeitos adversos causados por esses medicamentos podem restringir o uso em alguns pacientes (Selph et al., 2011).

Os antidepressivos tem sido amplamente empregados no tratamento da dor neuropática. Seu mecanismo analgésico pode estar relacionado a ação moduladora de monoaminas nas vias nociceptivas (Rojas-Corrales et al., 2003), uma vez que projeções descendentes espinhas de neurônios serotoninérgicos, noradrenérgicos e dopaminérgicos estão relacionadas à modulação da dor (Fleetwood-Walker et al., 1985; Millan, 2002; Benarroch, 2008). Além disso, existem evidências de que a percepção da dor pode ser modulada por vias dopaminérgicas supraespinhais (Potvin et al., 2009; Wood, 2008). Alinhados a esses dados, estudos clínicos relacionaram o uso de levodopa, um precursor da síntese de DA, ao alívio da dor associada a neuropatia diabética e herpes zoster (Kernbaum et al., 1981; Ertas et al., 1998). Outros estudos mostram o efeito de agonistas e antagonistas dopaminérgicos na modulação central da dor neuropática (Cobacho et al., 2010. Cobacho et al., 2014). Porém há uma escassez de trabalhos que avaliaram a atividade endógena da DA no controle da dor periféricamente.

Dito isso, o presente trabalho avaliou o envolvimento do sistema dopaminérgico endógeno na modulação periférica da dor neuropática a partir do modelo de constrição crônica (CCI). Essa técnica foi proposta por Bennett e

Xie (1988), e consiste em realizar ligaduras frouxas no nervo ciático, reproduzindo um tipo de neuropatia periférica. É uma técnica comumente utilizada devido a sua boa reprodutibilidade e alta confiabilidade (Colleoni e Sacerdote, 2010). Esse modelo de dor assemelha-se clinicamente a neuropatia humana resultante de trauma de nervos periféricos, com preservação funcional da inervação. Simula compressão crônica do nervo como na Síndrome do túnel carpo, hérnia discal lombar, além de intoxicação por metais pesados e doenças metabólicas. Dentre os sintomas envolvidos estão a alodinia mecânica, hiperalgesia mecânica, térmica e química, que persistem por longo período de tempo (Niederberger et al., 2008; Costigan et al., 2009; Klusakova e Dubovy, 2009).

Em consonância com os dados da literatura, nossos resultados sugerem a participação da DA endógena na modulação periférica da dor neuropática. Foi demonstrado que o aumento da disponibilidade de DA endógena, pela inibição de sua recaptação, promoveu efeito analgésico em animais que apresentavam dor neuropática induzida por CCI. Além disso, tal efeito parece ser dependente da ativação dos receptores D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub>, levando em conta que o antagonismo desses receptores potencializou a dor neuropática. De fato, a ativação dos receptores da família D<sub>2</sub> estão amplamente relacionados a inibição da dor neuropática. Um estudo mostrou que a administração de levodopa reverteu a alodinia mecânica e térmica, em modelo de dor neuropática, através da ativação de receptores dopaminérgicos do tipo D<sub>2</sub> (Cobacho et al., 2010). Adicionalmente, o agonista de receptores D<sub>2</sub> quinpirole foi capaz de inibir a dor em modelo experimental de neuropatia periférica (Cobacho et al., 2014). Em modelo de neuropatia trigeminal Liu e colaboradores (2019) demonstraram que o efeito analgésico produzido pela via dopaminérgica descendente é mediado pela ativação de receptores D<sub>2</sub>.

## Opioides

O sistema opioide é um importante sistema analgésico responsável pela inibição da dor, exercendo seus efeitos através de três tipos de receptores: mu ( $\mu$ ), delta ( $\delta$ ) e kappa ( $\kappa$ ). Esses receptores são acoplados a proteína Gi e, consequentemente, diminuem os níveis de AMPc intracelular, reduzindo a excitabilidade neuronal (Pert e Snyder, 1973; Kieffer et al., 2002; Henriksen e Willoch, 2008). Além de mecanismos supraespinhais e espinhais, os opioides também podem induzir analgesia em nível periférico (Stein et al., 1993; Mansour et al., 1994; Millan, 2002; Stein, 2013). Eles promovem a diminuição da excitabilidade nos terminais nociceptores periféricos, inibem a propagação dos potenciais de ação e a liberação de neurotransmissores excitatórios nas terminações nervosas centrais do neurônio primário (Vetter et al., 2008; Nockemann et al., 2013; Spahn et al., 2013; Stein, 2013).

Nosso grupo de pesquisa já avaliou o efeito antinociceptivo dos agonistas opioides DAMGO, SNC 80 e Bremazocina, administrados perifericamente, em modelo de hiperalgesia induzida por PGE<sub>2</sub> ou CG (Amarante e Duarte, 2002; Pacheco et al., 2005; Romero et al., 2012), demonstrando que antinocicepção induzida por esses opioides é dependente da ativação do sistema noradrenérgico, além da via L-arginina/NO/GMPc. No presente trabalho avaliamos a participação do sistema dopaminérgico endógeno.

Já foi descrita a interação entre os sistemas opioide e dopaminérgico na indução de analgesia em nível de SNC visto que, anatomicamente esses dois sistemas estão intimamente relacionados (Khachaturian e Watson, 1982). Do ponto de vista fisiológico, os opioides podem influenciar na liberação de DA (Wood et al., 1980; Wood e Pasternak, 1983). Em conformidade, a ativação do receptor D<sub>2</sub> dopaminérgico promoveu analgesia que foi revertida por haloperidol e pelo antagonista opioide naloxona (Suaudeau e Costentin, 1995). Tobaldini et al. (2017) mostraram que o efeito analgésico induzido pela ativação de receptores  $\mu$ -opioides na Substância Cinzenta Periaquedutal (PAG) é dependente da ativação de receptores dopaminérgicos. Esses receptores são

amplamente expressos na PAG ventrolateral (Lindblom et al., 2002; Voulalas et al., 2017) e contribuem para a antinocicepção induzida pela morfina, administrada sistemicamente (Flores et al., 2004).

Embora a interação entre os sistemas opioide e dopaminérgico na indução de analgesia em nível central esteja bem documentado, em nível periférico tal interação ainda não foi explorada. Portanto, no presente estudo avaliamos se a antinocicepção periférica induzida pelos agonistas opioides  $\mu$ ,  $\delta$  e  $\kappa$  - DAMGO, SNC 80 e Bremazocina - respectivamente, é dependente da ativação do sistema dopaminérgico endógeno. Para tal, foi utilizado o modelo de hiperalgesia induzida por PGE<sub>2</sub>. Esse hiperalgésico apresenta uma vantagem em relação a outros hiperalgésicos inflamatórios (como a CG, por exemplo), uma vez que sua capacidade de sensibilizar diretamente os nociceptores, sem requerer a participação de células intermediárias, elimina a possibilidade da liberação ou ação de mediadores produzidos durante o processo inflamatório (Vinegar et al., 1987).

Assim, a administração de doses submáximas dos agonistas opioides promoveu antinocicepção intermediária que foi potencializada pela inibição da recaptação de DA. Além disso, o antagonismo dos receptores D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub> dopaminérgicos reverteu a antinocicepção induzida por dose máxima desses agonistas. Similar a nossos resultados, Tobaldini et al. (2017) mostraram que a analgesia central mediada pela administração de DAMGO na PAG foi bloqueada pela co-administração de antagonistas dopaminérgicos.

Nossos resultados sugerem que a antinocicepção opioide é potencializada pelo aumento extracelular de DA e consequente ativação de receptores tipo D<sub>2</sub> dopaminérgicos. Esses resultados apontam para potencial estratégia de potencialização da eficácia de doses mais baixas de opioides no controle da dor, reduzindo, em última análise, os efeitos adversos causados por esses medicamentos.

## Canabinoides

A ativação do sistema canabinoide periféricamente tem sido amplamente relacionada ao efeito analgésico de uma série de substâncias, tanto endógenas quanto exógenas (Oliveira et al., 2019; Romero et al., 2020; Diniz et al., 2022). Queiroz et al. (2025) descreveram que a antinocicepção induzida pela administração periférica de DA era dependente da ativação do sistema endocanabinoide com participação do endocanabinoide 2-AG. No presente estudo foi avaliada a via contrária. Investigou-se se a antinocicepção induzida por AEA e 2-AG era dependente da ativação do sistema dopaminérgico endógeno.

Os endocanabinoides AEA e 2-AG são produzidos mediante estimulação e não são armazenados em vesículas (Mechoulam et al., 1995; Sugiura et al., 1995; Stella et al., 1997; Wilson e Nicoll, 2001). Seus efeitos são de curta duração, o que dificulta o uso como medicamentos analgésicos. No entanto, o desenvolvimento de mecanismos farmacológicos que prolonguem ou potencializem seus efeitos é uma estratégia analgésica promissora, uma vez que os endocanabinoides são sintetizados especificamente em locais de atividade nociceptiva, e tal abordagem pode evitar os efeitos indesejáveis do agonismo global dos receptores canabinoides (Woodhams et al., 2015). No presente estudo, o inibidor da recaptação de DA foi usado em conjunto com doses submáximas de AEA e 2-AG. Os resultados mostraram que o aumento da disponibilidade endógena de DA promoveu a potencialização da antinocicepção de 2-AG, mas não de AEA, indicando uma interação importante entre DA e 2-AG. Adicionalmente, os receptores D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub> parecem ser ativados durante esse processo.

Como já ressaltado anteriormente, o efeito analgésico da DA está relacionado à ativação dos receptores da família D<sub>2</sub> (Liu et al., 1992; Cobacho et al., 2014; Liu et al., 2019; Queiroz et al., 2022). A explicação para a indução da antinocicepção via receptores D<sub>2</sub> é sua ação inibitória direta em terminais de fibras aferentes primárias ou neurônios de projeção. Isso também seria consistente com a influência inibitória dos receptores D<sub>2</sub> na excitabilidade

neuronal mediada via inibição da enzima adenilato ciclase e supressão e ativação das correntes de  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{K}^+$ , respectivamente (Missale et al., 1998). Por exemplo, na medula espinhal, os receptores D2 desempenham um papel analgésico ao reduzir a excitabilidade e a transmissão sináptica dos neurônios do gânglio da raiz dorsal (DGR) e neurônios espinhais (Liu et al., 1992).

Em consonância com nossos resultados, dados da literatura fornecem evidências da interação entre os sistemas dopaminérgico e endocanabinoide. Carta et al., em 1999, relacionaram os efeitos antinociceptivos do  $\Delta 9$ -THC com a ativação de receptores canabinoides e dopaminérgicos, inferindo que os agonistas do receptor DA potencializam a analgesia canabinoide. Além disso, os receptores CB e DA apresentam padrões de co-localização em algumas regiões, como neurônios no núcleo accumbens e estriado (Kearn et al., 2005; Pickel et al., 2006), e estudos indicam que tais receptores podem formar heterodímeros (Przybyla e Watts, 2009).

Os medicamentos analgésicos mais comumente prescritos para alívio da dor, como anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), inibidores da ciclooxigenase-2 (COX-2) e opioides, têm efeitos adversos como aumento do risco de sangramento, doença cardiovascular (Scheiman e Hindley, 2010; Negus, 2019), supressão da cicatrização óssea (Seidenberg e An, 2004), bem como tolerância e dependência (Hjsted et al., 2013; Lavand'homme e Steyaert, 2017). Essas evidências demonstram que é necessário explorar a eficácia analgésica de outros medicamentos existentes ou desenvolver novos medicamentos com efeitos adversos menos prejudiciais e com maior eficácia clínica.

Estudos pré-clínicos e clínicos sugerem que o sistema dopaminérgico pode se tornar um alvo importante no controle da dor. A administração de levodopa, um precursor de DA, demonstrou aliviar a dor associada à doença de Parkinson (Nebe e Ebersbach, 2009; Rana et al., 2017). Em modelos animais, a injeção de levodopa no espaço intratecal ou em algumas regiões do SNC demonstrou efeitos analgésicos satisfatórios (Cobacho et al., 2010; Dourado et al., 2016). Dito isso, nossos resultados indicam que a modulação da dor pelo

sistema dopaminérgico pode ser explorada como uma nova estratégia para o controle eficaz da dor.

Em relação a modulação da dor em nível periférico, tanto a indução quanto a manutenção da sensibilização central são dependentes do impulso periférico dos nociceptores (Baron et al., 2013; Richards e McMahon, 2013), indicando que intervenções terapêuticas direcionadas a esses neurônios podem ser estratégias terapêuticas promissoras.

### **Localização dos receptores dopaminérgicos**

Em nível periférico os receptores dopaminérgicos apresentam localizações distintas, condizentes com o tipo de função que exercem. Em nosso estudo, a análise qualitativa dos ensaios de imunohistoquímica mostraram a presença de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> em queratinócitos que compõe a epiderme, quando da administração de carragenina (CG). Realizando uma análise comparativa temporal, os dados mostraram uma intensificação da expressão desses receptores na segunda hora de efeito da CG. Esses dados estão convergentes com nossos resultados farmacológicos/comportamentais que demonstraram o envolvimento do sistema dopaminérgico, em especial a ativação dos receptores D<sub>2</sub>, de forma mais pronunciada na segunda hora de efeito de CG. Resultados esses, que nos direcionaram a realizar os experimentos subsequentes sempre na segunda hora de efeito de CG e dos mediadores inflamatórios.

Em consonância, dados da literatura já identificaram a presença de receptores dopaminérgicos em queratinócitos (Fuziwara et al., 2005; Tammaro et al., 2012). Parrado e colaboradores (2017) descreveram o papel imunorregulatório da DA presente em queratinócitos, demonstrando sua modulação na produção de citocinas nessas células por meio de receptores dopaminérgicos e adrenérgicos. Denda e colaboradores (2007) sugeriram que os queratinócitos epidérmicos fazem parte do sistema sensorial, uma vez que essas células apresentam uma série de receptores que são ativados por temperatura, estresse mecânico, pressão osmótica e estímulos químicos,

apresentando mecanismos de detecção sensorial semelhantes aos presentes nos sistemas nervosos periférico e central. Além do grupo tratado com CG, em nosso estudo, os animais com neuropatia periférica induzida por CCI também tiveram padrão semelhante de localização dos receptores D<sub>2</sub>, apresentando imunopositividade para tal receptor em queratinócitos da epiderme.

Além dos queratinócitos, identificamos a presença de receptores D<sub>2</sub> em células musculares lisas circundando vasos sanguíneos. O papel da DA na regulação da pressão arterial já foi bem documentado (Goldberg, 1972; Goldberg et al., 1978; Dupont et al., 1987) e a presença desses receptores nessa região pode estar relacionada a essa função.

Adicionalmente, uma variedade de células imunes produz DA em baixos níveis e seus receptores podem ser expressos nessas células, como linfócitos, neutrófilos, eosinófilos, macrófagos e monócitos (McKenna et al., 2002; Sarkar et al., 2010). Em nosso estudo observamos a presença de imunopositividade para receptores D<sub>2</sub> em células do infiltrado inflamatório com características compatíveis com macrófagos. Além dos receptores dopaminérgicos presentes em queratinócitos, a ativação desses receptores existentes nas células do infiltrado inflamatório podem ser responsáveis pelo efeito de modulação inibitória da dor pela DA, periféricamente.

## ***Conclusões***

---

---

## 7. CONCLUSÕES

Tomados em conjunto os resultados obtidos sugerem um importante papel para o sistema dopaminérgico endógeno na modulação periférica tanto da dor inflamatória quanto da dor neuropática. Além disso, apontam para o envolvimento da DA endógena e dos receptores dopaminérgicos na antinocicepção induzida por dois sistemas analgésicos importantes: opioide e canabinoide. A possibilidade terapêutica de modulação da dor através de ativação das vias endógenas poderia fornecer uma nova ferramenta para o controle não só da dor inflamatória, mas para outros tipos refratárias aos tratamentos convencionais.

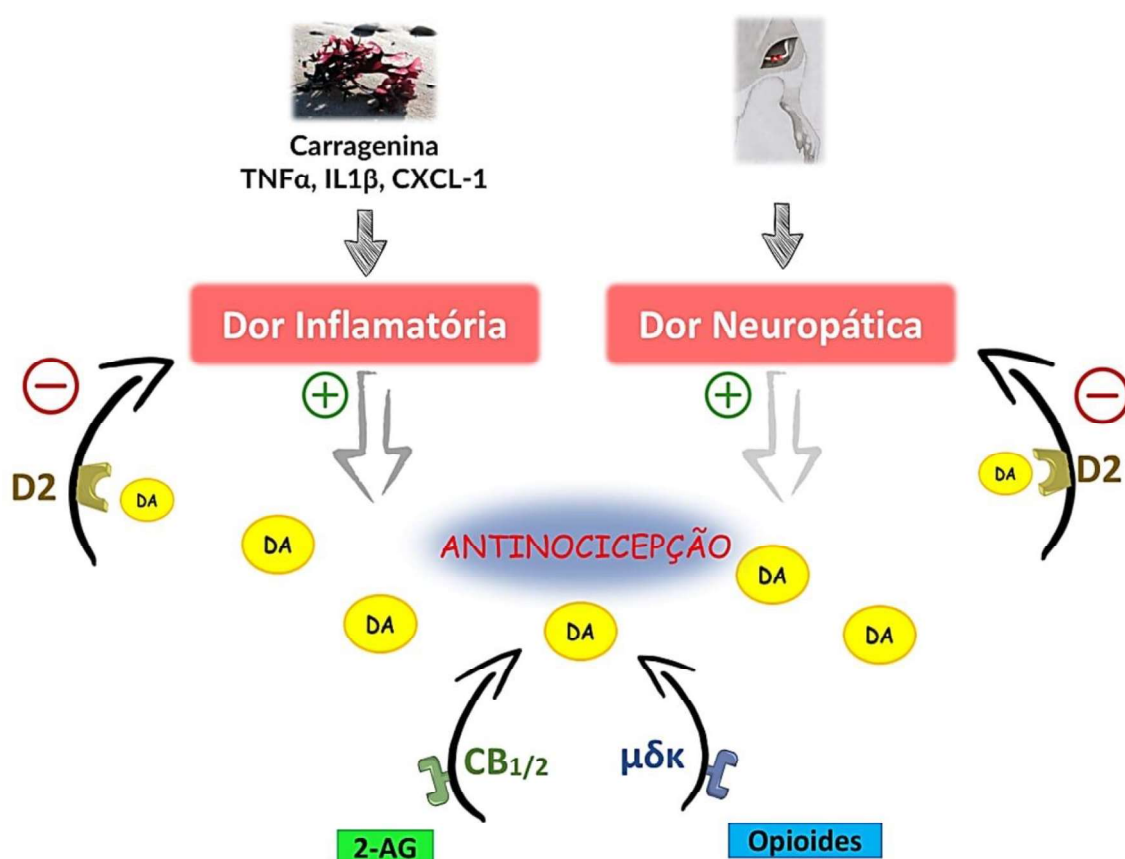


Figura 55. Representação esquemática dos mecanismos envolvidos na modulação endógena periférica da dor pelo sistema dopaminérgico.

## ***Referências***

---

---

## REFERÊNCIAS

- Aguilera, G.; Catt, K. J. Dopaminergic modulation of aldosterone secretion in the rat. **Endocrinology**, v.114(1), p.176-181, 1984.
- Almeida, T. F.; Roizenblatt, S.; Tufik, S. Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. **Brain Research**, v.1000(1-2), p.40-56, 2004.
- Altier, N.; Stewart, J. The role of dopamine in the nucleus accumbens in analgesia. **Life Sciences**, v.65(22), p.2269–2287, 1999.
- Alves, D. P.; Da Motta, P. G.; Lima, P. P.; Queiroz-Junior, C. M.; Caliari, M. V.; Pacheco, D. F.; Pacheco, C. F.; Francischi, J. N. Duarte, I. D. G. Inflammation mobilizes local resources to control hyperalgesia: The role of endogenous opioid peptides. **Pharmacology**, v.89, p.22–28, 2012.
- Alves, D. P.; Motta, P. G.; Romero, T. R. L.; Klein, A.; Duarte, I. D. NO/cGMP production is important for the endogenous peripheral control of hyperalgesia during inflammation. **Nitric Oxide**, v.8, p.8-13, 2013.
- Amarante, L. H.; Duarte, I. D. G. The  $\kappa$ -opioid agonist ( $\pm$ )-bremazocine elicits peripheral antinociception by activation of the L-arginine/nitric oxide/cyclic GMP pathway. **European Journal of Pharmacology**, v.454(1), p.19-23, 2002.
- Amenta, F.; Bronzetti, E.; Cantalamessa, F.; El-Assouad, D.; Felici, L.; Ricci, A.; Tayebati, S. K. Identification of dopamine plasma membrane and vesicular transporters in human peripheral blood lymphocytes. **Journal of Neuroimmunology**, v.117(1-2), p.133-142, 2001.
- Anastas, T. M.; Meints, S. M.; Gleckman, A. D.; Hirsh, A. T. Social Influences on Peer Judgments about Chronic Pain and Disability. **Journal of Pain**, p.1–8, 2019.
- Antonini, G.; Di Pasquale, A.; Cruccu, G.; Truini, A.; Morino, S.; Saltelli, G.; Romano, A.; Trasimeni, G.; Vanacore, N.; Bozzao, A. Magnetic resonance imaging contribution for diagnosing symptomatic neurovascular contact in classical trigeminal neuralgia: a blinded case-control study and meta-analysis. **Pain**, v.155, p.1464–1471, 2014.
- Aperia, A. C. Intrarenal dopamine: a key signal in the interactive regulation of sodium metabolism. **Annual review of physiology**, v.62(1), p.621-647, 2000.
- Arreola, R.; Alvarez-Herrera, S.; Pérez-Sánchez, G.; Becerril-Villanueva, E.; Cruz-Fuentes, C.; Flores-Gutierrez, E. O.; et al. Immunomodulatory effects mediated by dopamine. **Journal of immunology research**, v.2016(1), 3160486, 2016.

Bachrach, U.; Saxena, A. K.; Saxena, M.; Leurs, R.; Timmerman, H.; Lee, B.; et al. Characteristics of catechol O-methyltransferase (COMT) and properties of selective COMT inhibitors. **Progress in Drug Research**, p.291-350, 1992.

Baik, J. H. Dopamine signaling in reward-related behaviors. **Frontiers in neural circuits**, v.7, p.152, 2013.

Bannister, K.; Sachau, J.; Baron, R.; Dickenson, A. H. Neuropathic pain: mechanism-based therapeutics. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v.60(1), p.257-274, 2020.

Baron, R.; Binder, A.; Wasner, G. Neuropathic pain: diagnosis, pathophysiological mechanisms, and treatment, **The Lancet Neurology**, v.9, p.807-819, 2010.

Baron, R.; Hans, G.; Dickenson, A. H. Peripheral input and its importance for central sensitization. **Annals of Neurology**, v.74(5), p.630-6, 2013.

Basbaum, A. I.; Bautista, D. M.; Scherrer, G.; Julius, D. Cellular and Molecular Mechanisms of Pain. **Cell**, v.139, p.267-284, 2009.

Baune, B. T.; Caniato, R. N.; Garcia-Alcaraz, M. A.; Berger, K. Combined effects of major depression, pain and somatic disorders on general functioning in the general adult population. **Pain**, v.138(2), p.310–317, 2008.

Beaulieu, J. M.; Gainetdinov, R. R.; Sibley, D. R. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. **Pharmacological reviews**, v.63(1), p.182-217, 2011.

Benarroch, E. E. Descending monoaminergic pain modulation: bidirectional control and clinical relevance. **Neurology**, v.71, p.217–21, 2008.

Bennett, G. J.; Xie, Y. K. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. **Pain**, v.33, p.87-107, 1988.

Bergmann, M.; Sautner, T. Immunomodulatory effects of vasoactive catecholamines. **Wiener Klinische Wochenschrift**, v.114(17-18), p.752-761, 2002.

Besson, J. M. The neurobiology of pain. **The Lancet**, v.353(9164), p.1610–15, 1999.

Björklund, A.; Dunnett, S. B. Dopamine neuron systems in the brain: an update. **Trends in Neurosciences**, v.30, p.194–202, 2007.

Bouhassira, D.; Attal, N.; Fermanian, J.; Alchaar, H.; Gautron, M., Masquelier, E.; et al. Development and validation of the neuropathic pain symptom inventory. **Pain**, v.108(3), p.248-257, 2004.

Carlsson A. Basic concepts underlying recent developments in the field of Parkinson's disease. **Contemporary Neurology Series**, v.8, p.1–31, 1971.

Carlsson A. Speculations on the control of mental and motor functions by dopamine-modulated cortico-striato-thalamo-cortical feedback loops. **Mount Sinai Journal of Medicine**, v.55, p.6–10, 1988.

Carlsson, A.; Lindqvist, M.; Magnusson, T. 3,4-Dihydroxyphenylalanine and 5-hydroxytryptophan as reserpine antagonists. **Nature**, v.180:1200, 1957.

Carta, G.; Gessa, G. L.; Nava, F. Dopamine D2 receptor antagonists prevent  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol-induced antinociception in rats. **European journal of pharmacology**, v.384(2-3), p.153-156, 1999.

Cesare, P.; Mcnaughton, P. Peripheral pain mechanisms. **Current Opinion in Neurobiology**, v.7, p.493-499, 1997.

Chandrasoma, P. The Acute Inflammatory Response. In: LANGE, A. (Ed.). **Concise Pathology**, v.3, cap.3, 1998.

Chen, L.; Yang, G.; Grosser, T. Prostanoids and inflammatory pain. **Prostaglandins & other lipid mediators**, v.104, p.58-66, 2013.

Cobacho, N.; de la Calle, J. L.; Gonzalez-Escalada, J. R.; Paino, C. L. Levodopa analgesia in experimental neuropathic pain. **Brain Research Bulletin**, v.83, p.304–309, 2010.

Cobacho, N.; de la Calle, J. L.; Paíno, C. L. Dopaminergic modulation of neuropathic pain: analgesia in rats by a D2-type receptor agonist. **Brain research bulletin**, v.106, p.62-71, 2014.

Cohen, S. P.; Mao, J. Neuropathic pain: mechanisms and their clinical implications. **The Bmj**, v.348, 2014.

Colleoni, M.; Sacerdote, P. Murine models of human neuropathic pain. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, v.1802(10), p.924-933, 2010.

Cools, A. R.; Van Rossum, J. M. Excitation-mediating and inhibition-mediating dopamine-receptors: A new concept towards a better understanding of electrophysiological, biochemical, pharmacological, functional and clinical data. **Psychopharmacologia**, v.45, p.243-254, 1976.

Costa, A. C. O.; Romero, T. R. L.; Pacheco, D. F.; Perez, A. C.; Savernini, A.; Santos, R. R. A.; Duarte, I. D. G. Participation of AT1 and Mas receptors in the modulation of inflammatory pain. **Peptides**, v.61, p.17–22, 2014.

Costigan, M.; Scholz, J.; Woolf, C. J. Neuropathic pain: a maladaptive response of the nervous system to damage. **Annual Review of Neuroscience**, v.32, p.1-32, 2009.

Cruccu, G.; Finnerup, N. B.; Jensen, T. S.; Scholz, J.; Sindou, M.; Svensson, P.; Treede, R. D.; Zakrzewska, J. M.; Nurmikko, T. Trigeminal neuralgia: new classification and diagnostic grading for practice and research. **Neurology**, v.87, p.220–228, 2016.

Cruccu, G.; Gronseth, G.; Alksne, J.; Argoff, C.; Brainin, M.; Burchiel, K.; Nurmikko, T.; Zakrzewska, J. M. American Academy of Neurology Society; European Federation of Neurological Society. AAN-EFNS guidelines on trigeminal neuralgia management. **European Journal of Neurology**, v.15, p.1013–1028, 2008.

Cunha, F. Q.; Ferreira, S. H. Peripheral hyperalgesic cytokines. **Advances in experimental medicine and biology**, v.521, p.22-39, 2003.

Cunha, T. M.; Verri, W. A.; Silva J. S.; Poole, S.; Cunha, F. Q.; Ferreira, S. H. A cascade of cytokines mediates mechanical inflammatory hypernociception in mice. **PNAS**, v. 102(5), p.1755-1760, 2005.

Denda, M.; Nakatani, M.; Ikeyama, K.; Tsutsumi, M.; Denda, S. Epidermal keratinocytes as the forefront of the sensory system. **Experimental Dermatology**, v.16(3), p.157–161, 2007.

Dennis, S. G.; Melzack, R. Effects of cholinergic and dopaminergic agents of pain and morphine analgesia measured by three pain tests. **Experimental Neurology**, v.81, p.167–176, 1983.

Devor, M. Sodium channels and mechanisms of neuropathic pain. **Journal of Pain**, v.7(Suppl. 1), p.3–12, 2006.

Devor, M.; Govrin-Lippmann, R.; Rappaport, Z. H. Mechanism of trigeminal neuralgia: an ultrastructural analysis of trigeminal root specimens obtained during microvascular decompression surgery. **Journal of Neurosurgery**, v.96, p.532–543, 2002.

Devor, M.; Keller, C. H.; Deerinck, T. J.; Levinson, S. R.; Ellisman, M. H. Na<sup>+</sup> channel accumulation on axolemma of afferent endings in nerve end neuromas in *Apterionotus*. **Neuroscience Letters**, v.102, p.149-54, 1989.

Di Rosa, M.; Giroud, J. P.; Willoughby, D. A. Studies on the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. **The Journal of Pathology**, v.104(1), p.15-29, 1972.

Dinarello, C. A. Proinflammatory cytokines. **Chest Journal**, v.118(2), p.503-508, 2000.

Diniz, A.; Gonzaga, A. C. R.; Teófilo, A. L. H.; Miranda, F. A.; de Castro Perez, A.; Duarte, I. D. G.; Romero, T. R. L. Curcumin induces peripheral antinociception by opioidergic and cannabinoidergic mechanism: Pharmacological evidence. **Life Sciences**, v.293, p.120279, 2022.

Diniz, A.; Oliveira, C.; Fonseca, F. C. S.; Almeida, D. L.; Pereira, W. V. C.; Guimarães, F. S.; Perez, A.; Duarte, I. D. G.; Romero, T. R. L. Peripherally injected canabidiol reduces neuropathic pain in mice: Role of the 5 HT1A and TRPV1 receptors. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.660, p.58-64, 2023.

Dourado, M.; Cardoso-Cruz, H.; Monteiro, C.; Galhardo, V. Effect of motor impairment on analgesic efficacy of dopamine D2/3 receptors in a rat model of neuropathy. **Journal of Experimental Neuroscience**, v.10, JEN-S36492, 2016.

Dubin, A. E.; Patapoutian, A. Nociceptors: the sensors of the pain pathway. **Journal of Clinical Investigation**, v.120, p.3760–3772, 2010.

Dupont, A. G.; Lefebvre, R. A.; Bogaert, M. G. Identification and Characterization of Peripheral Neuronal Dopamine Receptors in the Rat. Clinical and Experimental Hypertension. **Part A: Theory and Practice**, v.9(5-6), p.913–929, 1987.

Dureja, G. P.; Iyer, R. N.; Das, G.; Ahdal, J.; Narang, P. Evidence and consensus recommendations for the pharmacological management of pain in India. **Journal of pain research**, p.709-736, 2017.

Ertas, A.; Sagduyu, N.; Arac, B.; Uludag, C.; Ertekin, C. Use of levodopa to relieve pain from painful symmetrical diabetic poly- neuropathy. **Pain**, v.75, p.257–259, 1998.

Fehrenbacher, J. C.; Vasko, M. R.; Duarte, D. B. Models of Inflammation: Carrageenan- or Complete Freund's Adjuvant (CFA)–Induced Edema and Hypersensitivity in the Rat. **Current Protocols in Pharmacology**, v.56(1), p.5.4.1-5.4.4, 2012.

Ferreira, S. H.; Nakamura, M. I-Prostaglandin hyperalgesia, a cAMP/Ca<sup>2+</sup> dependent process. **Prostaglandins**, v.18(2), p.179-190, 1979.

Finnerup, N. B.; Attal, N.; Haroutounian, S.; McNicol, E.; Baron, R.; Dworkin, R. H.; Gilron, I.; Haanpää, M.; Hansson, P.; Jensen, T. S.; Kamerman, P. R.; Lund, K.; Moore, A.; Raja, S. N.; Rice, A. S.; Rowbotham, M.; Sena, E.; Siddall, P.; Smith, B. H.; Wallace, M. Pharmacotherapy for neuropathic pain in adults: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet Neurology**, v.14, p.162–173, 2015.

Finnerup, N. B.; Jensen, M. P.; Norrbrink, C.; Trok, K.; Johannesen, I. L.; Jensen, T. S.; Werhagen, L. A prospective study of pain and psychological functioning following traumatic spinal cord injury. **Spinal Cord**, v.54, p.816–821, 2016.

Finnerup, N. B.; Kuner, R.; Jensen, T. S. Neuropathic pain: from mechanisms to treatment. **Physiological reviews**, 2020.

Finnerup, N. B.; Norrbrink, C.; Fuglsang-Frederiksen, A.; Terkelsen, A. J.; Hojlund, A. P.; Jensen, T. S. Pain, referred sensations, and involuntary muscle movements in brachial plexus injury. **Acta Neurologica Scandinavica**, v.121, p. 320–327, 2010.

Finnerup, N. B.; Otto, M.; McQuay, H. J.; Jensen, T. S.; Sindrup, S. H. Algorithm for neuropathic pain treatment: an evidence-based proposal. **Pain**, v.118(3), p.289-305, 2005.

Fleetwood-Walker, S. M.; Hope, P. J.; Mitchell, R. Antinociceptive actions of descending dopaminergic tracts on cat and rat dorsal horn somatosensory neurones. **The Journal of Physiology**, v.399, p.335–348, 1988.

Flores, J. A.; El Banoua, F.; Galan-Rodriguez, B.; Fernandez-Espejo, E. Opiate anti-nociception is attenuated following lesion of large dopamine neurons of the periaqueductal grey: critical role for D1 (not D2) dopamine receptors. **Pain**, v.110, p.205–214, 2004.

Fuziwara, S.; Suzuki, A.; Inoue, K.; Denda, M. Dopamine D2-like receptor agonists accelerate barrier repair and inhibit the epidermal hyperplasia induced by barrier disruption. **Journal of investigative dermatology**, v.125(4), p.783-789, 2005.

Gao, X.; Zhang, Y. Q.; Wu, G. C. Effects of dopaminergic agents on carrageenan hyperalgesia in rats. **European journal of pharmacology**, v.406(1), p.53-58, 2000.

Garrick, N. A.; Murphy, D. L. Differences in the preferential deamination of Inorepinephrine, dopamine and serotonin by MAO in rodent and primate brains. In: Usdin, E.; Weiner, N.; Youdim, M. B. H. (eds) Function and regulation of monoamine enzymes. **Basic and clinical aspects**, p.517–525, 1981.

Goldberg, L. I. Cardiovascular and renal actions of dopamine: potential applications. **Pharmacological. Reviews.**, v.24, p.1-29, 1972.

Goldberg, L. I.; Volkman, P. H.; Kohli, J. D. A Comparison of the Vascular Dopamine Receptor with Other Dopamine Receptors. Annual Review of **Pharmacology and Toxicology**, v,18(1), p.57–79, 1978.

Goldstein, D. S.; Eisenhofer, G.; Kopin, I. J. Sources and significance of plasma levels of catechols and their metabolites in humans. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v.305, p.800–811, 2003.

Gonzaga, A. C. R.; Quintao, J. L.; Souza, G. G.; Romero, T. R. L.; Silva, G. C.; Lemos, V. S.; Campolina-Silva, G.; Oliveira, C. A.; Mahecha, G. A. B.; Duarte, I.D.G. Endogenous cholinergic system involved in peripheral analgesic control in mice is activated by TNF- $\alpha$ , CXCL-1 and IL-1  $\beta$ . **Pharmacology**, v. 1, p. 100, 2024.

Guclu, B.; Sindou, M.; Meyronet, D.; Streichenberger, N.; Simon, E.; Mertens, P. Cranial nerve vascular compression syndromes of the trigeminal, facial and vago-glossopharyngeal nerves: comparative anatomical study of the central myelin portion and transitional zone; correlations with incidences of corresponding hyperactive dysfunctional syndromes. **Acta Neurochirurgica (Wien)**, v.153, p. 2365–2375, 2011.

Guiard, B. P.; Gotti, G. The high-precision liquid chromatography with electrochemical detection (HPLC-ECD) for monoamines neurotransmitters and their metabolites: a review. **Molecules**, v.29(2), p.496, 2024.

Hampson, E. C.; Vaney, D. I.; Weiler, R. Dopaminergic modulation of gap junction permeability between amacrine cells in mammalian retina. **Journal of Neuroscience**, v.12(12), p.4911-4922, 1992.

Hantraye, P. Modeling dopamine system dysfunction in experimental animals. **Nuclear Medicine and Biology**, v.25(8), p.721-772, 1998.

Hecke, O. V.; Torrance, N; Smith, B. H. Chronic pain epidemiology and its clinical relevance. **British Journal of Anaesthesia**, v.111(1), p.13–18, 2013.

Henningesen, P.; Zipfel, S.; Herzog, W. Management of functional somatic syndromes. **Lancet**, v.369, p.946-55, 2007.

Henriksen, G.; Willoch, F. Imaging of opioid receptors in the central nervous system. **Brain**, v.131(5), p.1171-1196, 2008.

Hertting, G.; Axelrod, J. Fate of tritiated noradrenaline at the sympathetic nerve endings. **Nature**, v.192, p.172–173, 1961.

Hjsted, J.; Ekholm, O.; Kurita, G.P.; Juel, K.; Sjgren, P. Addictive behaviors related to opioid use for chronic pain: a population-based study. **Pain**, v.154(12), p.2677–2683, 2013.

Hopkins, S. J. The pathophysiological role of cytokines. **Legal Medicine**, v.5, p.S45-S57, 2003.

Hung, P. S.; Chen, D. Q.; Davis, K. D.; Zhong, J.; Hodaie, M. Predicting pain relief: use of presurgical trigeminal nerve diffusion metrics in trigeminal neuralgia. **NeuroImage: Clinical**, v.15, p.710–718, 2017.

IASP (International Association for the Study of Pain), 2020. Disponível em: <<http://www.iasp-pain.org>>.

Jang, K.; Garraway, S. M. A review of dorsal root ganglia and primary sensory neuron plasticity mediating inflammatory and chronic neuropathic pain. **Neurobiology of Pain**, v.100151, 2024.

Ji, R. R.; Kohno, T.; Moore, K. A.; Woolf, C. J. Central sensitization and LTP: do pain and memory share similar mechanisms? **Trends in Neurosciences**, v.26(12), p. 696–705, 2003.

Julius, D.; Basbaum, A. I. Molecular mechanisms of nociception. **Nature**, v.413, p.203-210, 2001.

Kababian, J. W.; Calne, D. B. Multiple receptors for dopamine. **Nature**, v.277, p.93-96, 1979.

Katz, J.; Melzack, R. Referred sensations in chronic pain patients. **Pain**, v.28(1), p.51-59, 1987.

Kawabata, A.; Nishimura, Y.; Takagi, H. L-Leucyl-L-arginine, naltrindole and Darginine block antinociception elicited by L-arginine in mice with carrageenin-induced hyperalgesia. **British Journal of Pharmacology**, v.107(4), p.1096–1101, 1992.

Kawano, M.; Takagi, R.; Saika, K.; Matsui, M.; Matsushita, S. Dopamine regulates cytokine secretion during innate and adaptive immune responses. **International immunology**, v.30(12), p.591-606, 2018.

Kearn, C. S. Concurrent stimulation of cannabinoid CB1 and dopamine D2 receptors enhances heterodimer formation: a mechanism for receptor cross-talk? **Molecular Pharmacology**, v.67, p.1697-1704, 2005.

Keren, A.; Gilhar, A.; Ullmann, Y.; Zlotkin-Frušić, M.; Soroka, Y.; Domb, A. J.; Levite, M. Instantaneous depolarization of T cells via dopamine receptors, and inhibition of activated T cells of Psoriasis patients and inflamed human skin, by D1-like receptor agonist: Fenoldopam. **Immunology**, v.158(3), p.171-193, 2019.

Kernbaum, S.; Hauchecorne, J. Administration of levodopa for relief of herpes zoster pain. **Journal of the American Medical Association**, v.246, p.132–134, 1981.

Khachaturian, H.; Watson, S. J. Some perspectives on monoamine opioid peptide interaction in rat central nervous system. **Brain Research Bulletin**, v.9, p.441–462, 1982.

Kieffer, B. L.; Gavériaux-Ruff, C. Exploring the opioid system by gene knockout. **Progress in Neurobiology**, v.66(5), p.285–306, 2002.

Kim, J. Y.; Tillu, D. V.; Quinn, T. L.; Mejia, G. L.; Shy, A.; Asiedu, M. N.; Murad, E.; Schumann, A. P.; Totsch, S. K.; Sorge, R. E.; Mantyh, P. W.; Dussor, G.; Price, T. J. Spinal dopaminergic projections control the transition to pathological pain plasticity via D1/D5-mediated mechanism. **Journal of Neuroscience**, v.35, p.6307–6317, 2015.

Klein, M. O.; Battagello, D. S; Cardoso, A. R.; Hauser, D. N.; Bittencourt, J. C.; Correa, R. G. Dopamine: Functions, Signaling, and Association with Neurological Diseases. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v.39, p.31–59, 2019.

Klusakova, I.; Dubovy, P. Experimental models of peripheral neuropathic pain based on traumatic nerve injuries - an anatomical perspective. **Annals of Anatomy**, v.191, p.248-59, 2009.

Kocsis, J. D.; Waxman, S. G. Ionic channel organization of normal and regenerating mammalian axons. **Progress in Brain Research**, v.71, p.89–101. 1987.

Kumar, M.; Konkalmatt, P.; Asico, L. D.; Hunt, J.; Latham, P.; Jose, P. A.; Armando, I. Dopamine D2 Receptor Specific Deletion in the Renal Proximal Tubules Increases Blood Pressure in Males but Not Female Mice. **Circulation**, v.140(Suppl\_1), p.A15988-A15988, 2019.

Lavand'homme, P.; Steyaert, A. Opioid-free anesthesia opioid side effects: tolerance and hyperalgesia. **Best practice & research Clinical anaesthesiology**, v.31(4), p.487-498, 2017.

Latif, S.; Jahangeer, M.; Razia, D. M.; Ashiq, M.; Ghaffar, A.; Akram, M.; et al. Dopamine in Parkinson's disease. **Clinica chimica acta**, v.522, p.114-126, 2021.

Le Bars, D.; Gozariu, M.; Cadden, S. W. Animal models of nociception. **Pharmacological Reviews**, v.53, p.597-652, 2001.

Lindblom, J.; Kask, A.; Hägg, E.; Härmark, L.; Bergström, L.; Wikberg, J. Chronic infusion of a melanocortin receptor agonist modulates dopamine receptor binding in the rat brain. **Pharmacological research**, v.45(2), p.119-124, 2002.

Liu, QS., Qiao, J. T.; Dafny, N. D2 dopamine receptor involvement in spinal dopamine-produced antinociception. **Life sciences**, v.51(19), p.1485-1492, 1992.

Liu, S.; Tanga, Y.; Shua, H.; Tatum, D.; Baia, Q.; Crawford, J.; Xing, Y.; Lobe, M. K.; Bellinger, L.; Kramer, P.; Tao, F. Dopamine receptor D2, but not D1, mediates descending dopaminergic pathway-produced analgesic effect in a trigeminal neuropathic pain mouse model. **Pain**, v.160, p.334–344, 2019.

Love, S.; Hilton, D. A.; Coakham, H. B. Central demyelination of the Vth nerve root in trigeminal neuralgia associated with vascular compression. **Brain Pathology**, v.8, p.1–11, 1998.

Macleod, R. M.; Lehmeyer, J. E. Studies on the Mechanism of the Dopamine-Plasma Flow. **Journal of Clinical Investigation**, v.43(6), p.1116-1124, 1964.

Magnusson, J. E.; Fisher, K. The involvement of dopamine in nociception: the role of D(1) and D(2) receptors in the dorsolateral striatum. **Brain Research**, v.855, p.260 – 266, 2000.

Mansour, A.; Fox, C. A.; Burke, S.; Meng, F.; Thompson, R. C.; Akil, H.; Watson, S.J. Mu, delta, and kappa opioid receptor mRNA expression in the rat CNS: An in-situ hybridization study. **The Journal of Comparative Neurology**, v.350(3), p.412–438, 1994.

Matt, S. M.; Gaskill, P. J. Where is dopamine and how do immune cells see it? dopamine-mediated immune cell function in health and disease. **Journal of Neuroimmune Pharmacology**, v.15, p.114-164, 2020.

McDonald, R. H.; Goldberg, L. I.; McNay, J. L.; Tuttle, E. P. Effects of Dopamine in Man: Augmentation of Sodium Excretion, Glomerular Filtration Rate, and Renal

Mediated Inhibition of Prolactin Secretion. **Endocrinology**, v.94(4), p.1077–1085, 1974.

McKenna, F.; McLaughlin, P. J.; Lewis, B. J.; Sibbring, G. C.; Cummers, J. A.; Bowen-Jones, D.; Moots, R. J. Dopamine Receptor Expression on Human T- and B-Lymphocytes, Monocytes, Neutrophils, Eosinophils and NK Cells: A Flow Cytometric Study. **Journal of Neuroimmunology**, v.132, p.34-40, 2002.

Mechoulam, R.; Ben-Shabat, S.; Hanus, L.; Ligumsky, M.; Kaminski, N. E.; Schatz, A. R.; et al. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. **Biochemical pharmacology**, v.50(1), p.83-90, 1995.

Meiser J.; Weindl, D.; Hiller K. Complexity of dopamine metabolism. **Cell Communication and Signaling**, 11:34, 2013.

Melzack, R.; Wall, P. D. Pain Mechanisms: A New Theory. **Science**, v.150(3699),

Mense, S. Basic neurobiologic mechanisms of pain and analgesia. **The American Journal of Medicine**, v.75(5), p.4–14, 1983.

Meyer, R. A.; Ringkamp, M.; Campbell, J. N.; Raja, S. N. Peripheral mechanisms of cutaneous nociception. In Wall and Melzack's Textbook of Pain, S. B. McMahon e M. Koltzenburg, eds. **Philadelphia: Elsevier**, p.3–34, 2008.

Millan, M. J. Descending control of pain. **Progress in Neurobiology**, v.66(6), p.355- 474, 2002.

Millan, M. J. The induction of pain: An integrative review. **Progress in Neurobiology**, v.57(1), p.1–164, 1999.

Missale, C.; Nash, S. R.; Robinson, S. W.; Jaber, M.; Caron, M. G. Dopamine receptors: from structure to function. **Physiological Reviews**, v.78, p.189–225, 1998.

Morgan, M. J.; Franklin, K. B. J. Dopamine receptor subtypes and formalin test analgesia. **Pharmacology Biochemistry & Behavior**, v.40, p.317-322, 1991.

Motta, P. G.; Perez, A. C.; Alves, D. P.; Duarte, I. D. G. Peripheral control of inflammatory but not neuropathic pain by endogenous cholinergic system. **Pharmacology**, v.88, p.18–25, 2011.

Nakagawa, M.; Kuri, M.; Kambara, N.; Tanigami, H.; Tanaka, H.; Kishi, Y.; Hamajima, N. Dopamine D2 receptor Taq IA polymorphism is associated with postoperative nausea and vomiting. **Journal of anesthesia**, v.22, p.397-403, 2008.

Nakamura, M.; Ferreira, S. H. A peripheral sympathetic component in inflammatory hyperalgesia. **European Journal of Pharmacology**, v.135(2), p.145-153, 1987.

Nakano, K.; Higashi, T.; Takagi, R.; Hashimoto, K.; Tanaka, Y.; Matsushita, S. Dopamine released by dendritic cells polarizes Th2 differentiation. **International Immunology**, v.21(6), p.645–654, 2009a.

Nakano, K.; Matsushita, S.; Saito, K.; Yamaoka, K.; Tanaka, Y. Dopamine as an immune-modulator between dendritic cells and T cells and the role of dopamine in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. **Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi**, v.32, p.1–6, 2009b.

Nebe, A.; Ebersbach, G. Pain intensity on and off levodopa in patients with Parkinson's disease. **Movement Disorders**, v.24(8), p.1233-1237, 2009.

Necas, J.; Bartosikova, L. Carrageenan: a review. **Veterinarni Medicina**, v.58(4), p.187–205, 2013.

Negus, S. S. Core outcome measures in preclinical assessment of candidate analgesics. **Pharmacological Reviews**, v.71(2), p.225-266, 2019.

Nesse, R. M.; Schulkin, J. An evolutionary medicine perspective on pain and its disorders. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v.374, 20190288, 2019.

Niederberger, E.; Kuhlein, H.; Geisslinger, G. Update on the pathobiology of neuropathic pain. **Expert Review of Proteomics**, v.5, p.799-818, 2008.

Nockemann, D.; Rouault, M.; Labuz, D.; Hublitz, P.; McKnelly, K.; Reis, F. C.; et al. The K channel GIRK2 is both necessary and sufficient for peripheral opioid-mediated analgesia. **EMBO Molecular Medicine**, v.5, p.1263–1277, 2013.

O'Donnell, M. J.; Diener, H. C.; Sacco, R. L.; Panju, A. A.; Vinisko, R.; Yusuf, S. PRoFESS Investigators. Chronic pain syndromes after ischemic stroke: **PRoFESS trial. Stroke**, v.44, p.1238–1243, 2013.

Oliveira, C. C.; Castor, M. G. M.; Castor, C. G. M.; Costa, A. F.; Ferreira, R. C. M.; Silva, J. F.; Pelaez, J. M. N.; Capettini, L. S. A.; Lemos, V. S. Duarte, I. D. G.; Perez, A. C.; Santos, S. H. S.; Romero, T. R. L. Evidence for the involvement of opioid and cannabinoid systems in the peripheral antinociception mediated by resveratrol. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.369, p.30–38, 2019.

Oliveira, C. C.; Matos, N. A.; Carvalho, C. V.; Lage, G. A.; Pimenta, L. P. S.; Duarte, I. D.; Romero, T. R. L.; Klein, A.; Castro, A. P. Anti-inflammatory and antinociceptive properties of the hydroalcoholic fractions from the leaves of *Annona crassiflora* Mart. in mice. **Inflammopharmacology**, v.27, p.397–408, 2018.

Oliveira, L. H. D.; Melo, E. B.; Bruni, A. T. The potential use of dopamine transport inhibitors in the treatment of neuropsychiatric disorders. **Brazilian Journal of Health Review**, v.4, p.12105–12128, 2021.

Österberg, A.; Boivie, J.; Thuomas, K. A. Central pain in multiple sclerosis—prevalence and clinical characteristics. **European Journal of Pain**, v.9, p.531–542, 2005.

Pacheco, D. F.; Reis, G. M.; Francischi, J. N.; Castro, M. S.; Perez, A. C.; Duarte, I. D.  $\delta$ -Opioid receptor agonist SNC80 elicits peripheral antinociception via  $\delta 1$  and  $\delta 2$  receptors and activation of the l-arginine/nitric oxide/cyclic GMP pathway. **Life sciences**, v.78(1), p.54–60, 2005.

Pacheco, R.; Prado, C. E.; Barrientos, M. J.; Bernales, S. Role of dopamine in the physiology of T-cells and dendritic cells. **Journal of neuroimmunology**, v.216(1–2), p.8–19, 2009.

Paiva, E. S.; Coginotti, V.; Müller, C. S.; Parchen, C. F.; Urbaneski, F. Manejo da dor. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.46(4), p.292–296, 2006.

Parrado, A. C.; Salaverry, L. S.; Mangone, F. M.; Apicella, C. E.; Gentile, T.; Canellada, A.; Rey-Roldán, E. B. Differential response of dopamine mediated by  $\beta$ -adrenergic receptors in human keratinocytes and macrophages: potential implication in wound healing. **Neuroimmunomodulation**, v.24(4–5) p.282–291, 2018.

Patel, R.; Dickenson, A. H. Mechanisms of the gabapentinoids and  $\alpha 2\delta$ -1 calcium channel subunit in neuropathic pain. **Pharmacology Research & Perspectives**, v.4(2), e00205, 2016.

Paulus, W.; Trenkwalder, C. Less is more: pathophysiology of dopaminergic-therapy-related augmentation in restless legs syndrome. **The Lancet Neurology**, v.5, p.878–886, 2006.

Peker, S.; Kurtkaya, O.; Uzün, I.; Pamir, M. N. Microanatomy of the central myelin-peripheral myelin transition zone of the trigeminal nerve. **Neurosurgery**, v.59, p.354–359, 2006.

Pellicer, F.; Ortega-Legaspi, J. M.; López-Avila, A.; Coffeen, U.; Jaimes, O. Dopamine pathways and receptors in nociception and pain. **Pharmacology of pain**, p.241-253, 2010.

Pert, C. B.; Snyder, S. H. Properties of opiate-receptor binding in rat brain. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.70(8), p.2243-2247, 1973.

Pickel, V. M.; Chan, J.; Kearns, C. S.; Mackie, K. Targeting dopamine D2 and cannabinoid-1 (CB1) receptors in rat nucleus accumbens. **Journal of Comparative Neurology**, v.495(3), p.299-313, 2006.

Poole, S.; Cunha, F.; Ferreira, S. H. Bradykinin, cytokines and inflammatory hyperalgesia. **Pain and neuroimmune interactions**, p.31-54, 2000.

Potvin, S.; Grignon, S.; Marchand, S. Human evidence of a supra-spinal modulating role of dopamine on pain perception. **Synapse**, v.63(5), p.390-402, 2009.

Przybyla, J. A.; Watts, V. J. Ligand-induced regulation and localization of cannabinoid CB1 and dopamine D2L receptor heterodimers. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v.332(3), p.710-719, 2010.

Queiroz, B. F. G.; Fonseca, F. C. S.; Barra, W. C. P.; Viana, G. B.; Irie, A. L.; Perez, A.; Romero, T. R. L.; Duarte, I. D. G. Interaction between the dopaminergic and endocannabinoid systems promotes peripheral antinociception. **European Journal of Pharmacology**, v.987, p.177195, 2025.

Queiroz, B. F. G.; Fonseca, F. C. S.; Ferreira, R. C. M.; Romero, T. R. L.; Perez, A. C.; Duarte, I. D. G. Analgesia and pain: Dual effect of dopamine on the peripheral nociceptive system is dependent on D2-or D1-like receptor activation. **European Journal of Pharmacology**, v.922, 2022.

Quintão, J. L. D.; Gonzaga, A. C. R.; Galdino, G.; Romero, T. R. L.; Silva, J. F.; Lemos, V. S.; Campolina-Silva, G. H.; Oliveira, C. A.; Mahecha, G. B.; Duarte, I. D. TNF- $\alpha$ , CXCL-1 and IL-1  $\beta$  as activators of the opioid system involved in peripheral analgesic control in mice. **European Journal of Pharmacology**, v.896, 2021.

Raja, S. N.; Carr, D. B.; Cohen, M.; et al. The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. **Pain**, v.161(9), p.1976-1982,

Rana, A. Q.; Qureshi, D.; Sabeh, W.; Mosabbir, A.; Rahman, E.; Sarfraz, Z.; Rana, R. Pharmacological therapies for pain in Parkinson's disease—a review paper. **Expert Review of Neurotherapeutics**, v.17(12), p.1209-1219, 2017.

Randall, L. O.; Selitto J. J. A. method for measurement of analgesic activity of inflamed tissue. **Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie**, v.111(4), p.409 – 419, 1957.

Raouf, R.; Quick, K.; Wood, J. N. Pain as a channelopathy. **The Journal of Clinical Investigation**, v.120(11), p.3745–3752, 2010.

Reynolds, D. Surgery in the Rat during Electrical Analgesia Induced by Focal Brain Stimulation. **Science**, v.164(3878), p.444–445, 1969.

Ricci, A. F.; Rossodivita, I.; Avola, R.; Tayiebaty, S. K. The dopaminergic system in hypertension. **Clinical and Experimental Hypertension**, v.23, p.15-24, 2001.

Richards, N.; McMahon, S. B. Targeting novel peripheral mediators for the treatment of chronic pain. **British Journal of Anaesthesia**, v.111(1), p.46-51, 2013.

Richardson, J. D.; Vasko, M. R. Cellular Mechanisms of Neurogenic Inflammation. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v.302(3), p.839–845, 2002.

Rojas-Corrales, M. O.; Casas, J.; Moreno-Brea, M. R.; Gibert-Rahola, J.; Mico, J. A. Antinociceptive effects of tricyclic antidepressants and their noradrenergic metabolites. **European Neuropsychopharmacology**, v.13(5), p.355-363, 2003.

Romanelli, P.; Esposito, V. The functional anatomy of neuropathic pain. **Neurosurgery Clinics**, v.15(3), p.257-268, 2004.

Romero, T. R. L.; Miranda e Castor, M. G.; Parrella, C.; Piscitelli, F.; Di Marzo, V.; Duarte, I. D. G.  $\alpha$  2-Adrenoceptor agonist induces peripheral antinociception via the endocannabinoid system. **Pharmacological Reports**, v.72, p.96-103, 2020.

Romero, T. R. L.; Guzzo, L.; Duarte, I. D. G. Mu, Delta, and Kappa opioid receptor agonists induce peripheral antinociception by activation of endogenous noradrenergic system. **Journal of Neuroscience Research**, v. 90, p.1654-1661, 2012.

Romero, T. R. L.; Rezende, L. C.; Guzzo, L.; Duarte, I. D. G. CB<sub>1</sub> and CB<sub>2</sub> cannabinoid receptor agonists induce peripheral antinociception by activation of the endogenous noradrenergic system. **Pain and Analgesic Mechanisms**, v. 116(2), p.463-472, 2013.

Ronchetti, S.; Migliorati, G.; Delfino, D. V. Association of inflammatory mediators with pain perception. **Biomedicine & pharmacotherapy**, v.96, p.1445-1452, 2017.

Ross, S. B. Synaptic concentration of dopamine in the mouse striatum in relationship to the kinetic properties of the dopamine receptors and uptake mechanism. **Journal of Neurochemistry**, v.56, p.22–29, 1991.

Salveti, M. G.; Pimenta, C. A. M. Dor crônica e a crença de autoeficácia. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v.41(1), p.135-40, 2007.

Sampaio, I. Estatística Aplicada À Experimentação Animal, **4a ed. FEP MVZ**, 2015.

Santiago, V. Painful Truth: The Need to Re-Center Chronic Pain on the Functional Role of Pain. **Journal of Pain Research**, v.15, p.497-512, 2022.

Sarkar, C.; Basu, B.; Chakroborty, D.; Dasgupta, P. S.; Basu, S. The immunoregulatory role of dopamine: an update. **Brain, behavior, and immunity**, v.24(4), p.525-528, 2010.

Scheiman, J. M.; Hindley, C. E. Strategies to optimize treatment with NSAIDs in patients at risk for gastrointestinal and cardiovascular adverse events. **Clinical therapeutics**, v.32(4), p.667-677, 2010.

Scholz, J.; Finnerup, N. B.; Attal, N.; Aziz, Q.; Baron, R.; Bennett, M. I.; et al. Classification Committee of the Neuropathic Pain Special Interest Group (NeuPSIG). The IASP classification of chronic pain for ICD-11: chronic neuropathic pain. **Pain**, v.160(1), p.53-59, 2019.

Scholz, J.; Woolf, C. J. Can we conquer pain? **Nature neuroscience**, v.5(Suppl 11), p.1062-1067, 2002.

Seeman, P. Targeting the dopamine D2 receptor in schizophrenia. **Expert Opinion on Therapeutic Targets**, v.10, p.515–531, 2006.

Seeman, P.; Ko, F.; Jack, E.; Greenstein, R.; Dean, B. Consistent with dopamine super sensitivity, RGS9 expression is diminished in the amphetamine-treated animal model of schizophrenia and in postmortem schizophrenia brain. **Synapse**, v.61, p.303–309, 2007.

Seidenberg, A. B.; An, Y. H. Is there an inhibitory effect of COX-2 inhibitors on bone healing? **Pharmacological research**, v.50(2), p.151-156, 2004.

Selph, S.; Carson, S.; Fu, R.; Thakurta, S.; Low, A.; McDonagh, M. Drug class review: neuropathic pain. **Update**, v.1, 2011.

Sherwood, E. R.; Toliver-Kinsky, T. Mechanisms of the inflammatory response. **Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology**, v.18(3), p.385-405, 2004.

Snider, S. R.; Kuchel, O. Dopamine: an important neurohormone of the sympathoadrenal system. Significance of increased peripheral dopamine release for the human stress response and hypertension. **Endocrine Reviews**, v.4(3), p.291-309, 1983.

Sotomayor-Zárate, R.; Cruz, G.; M Renard, G.; Espinosa, P.; D Ramirez, V. Sex hormones and brain dopamine functions. **Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry**, v.14(2), p.62-71, 2014.

Spahn, V.; Fischer, O.; Endres-Becker, J.; Schäfer, M.; Stein, C.; Zöllner, C. Opioid withdrawal increases transient receptor potential vanilloid 1 activity in a protein kinase A- dependent manner. **Pain**, v.154, p.598–608, 2013.

Stein, C. Targeting pain and inflammation by peripherally acting opioids. **Frontiers in pharmacology**, v.4, p.123, 2013.

Stein, C.; Hassan, A. H. S.; Lehrberger, K.; Stein, C.; Giefing, J.; Yassouridis, A. Local analgesic effect of endogenous opioid peptides. **The Lancet**, v.342(8867), p.321–324, 1993.

Stella, N.; Schweitzer, P.; Piomelli, D. A second endogenous cannabinoid that modulates long-term potentiation. **Nature**, v.388(6644), p.773-778, 1997.

Suaudeau, C.; Costentin, J. Analgesic effect of the direct D2 dopamine receptor agonist RU 24926 and cross tolerance with morphine. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v.9, p.147-152, 1995.

Sugiura, T.; Kondo, S.; Sukagawa, A.; Nakane, S.; Shinoda, A.; Itoh, K.; Waku, K.; et al. 2-Arachidonoylglycerol: a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. **Biochemical and biophysical research communications**, v.215(1), p.89-97, 1995.

Tammaro, A.; Cavallotti, C.; Gaspari, A. A.; Narcisi, A.; Parisella, F. R. Dopaminergic receptors in the human skin. **Journal of biological regulators and homeostatic agents**, v.26(4), p.789-795, 2012.

Taylor, B. K.; Joshi, C.; Uppal, H. Stimulation of dopamine D2 receptors in the nucleus accumbens inhibits inflammatory pain. **Brain research**, v.987(2), p.135-143, 2003.

Tobaldini, G.; Reis, R. A.; Sardi, N. F.; Lazzarini, M. K.; Tomim, D. H.; Lima, M. M. S.; Fischer, L. Dopaminergic mechanisms in periaqueductal gray-mediated antinociception. **Behavioural Pharmacology**, v.29(1), p.225-233, 2017.

Torres, G. E.; Gainetdinov, R. R.; Caron, M. G. Plasma membrane monoamine transporters: structure, regulation and function. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 4, p.13-25, 2003.

Tritsch, N. X.; Sabatini, B. L. Dopaminergic modulation of synaptic transmission in cortex and striatum. **Neuron**, v.76(1), p.33-50, 2012.

Tsantoulas, C.; McMahon, S. B. Opening paths to novel analgesics: the role of potassium channels in chronic pain. **Trends in Neurosciences**, v.37(3), p.146–158, 2014.

Vallone, D.; Picetti, R.; Borrelli, E. Structure and function of dopamine receptors. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v.24, p.125–132, 2000.

Van de Velde, F.; Lourenco, N. D.; Pinheiro, H. M.; Bakkerd, M. Carrageenan: a food-grade and biocompatible support for immobilisation techniques. **Advanced Synthesis and Catalysis**, v.344, p.815–835, 2002.

Vasudeva, K.; Andersen, K.; Zeyzus-Johns, B.; Hitchens, T. K.; Patel, S. K.; Balducci, A.; et al. Imaging neuroinflammation in vivo in a neuropathic pain rat model with near-infrared fluorescence and <sup>19</sup>F magnetic resonance. **PloS one**, v.9(2), p.e90589, 2014.

Vetter, I.; Cheng, W.; Peiris, M.; Wyse, B.D.; Roberts-Thomson, S. J.; Zheng, J.; et al. Rapid, opioid-sensitive mechanisms involved in transient receptor potential vanilloid 1 sensitization. **Journal of Biological Chemistry**, v.283, p.19540–19550, 2008.

Vinegar, R.; Truax, J. F.; Selph, J. L.; Johnston, P. R.; Venable, A. L.; Mckenzie, K. K. Pathway to carrageenan-induced inflammation in the hind limb of the rat. **Federation Proceedings**, v.46, p.118–126, 1987.

Voulalas, P. J.; Ji, Y.; Jiang, L.; Asgar, J.; Ro, J. Y.; Masri, R. Loss of dopamine D1 receptors and diminished D1/5 receptor-mediated ERK phosphorylation in the periaqueductal gray after spinal cord lesion. **Neuroscience**, v.343, p.94–105, 2017.

Vranken, J. H. Mechanisms and treatment of neuropathic pain. **Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry**, v.9(1), p.71–78, 2009.

Wall, P. D; The laminar organization of dorsal horn and effects of descending impulses. **The Journal of Physiology**, v.188, p.403–423, 1967.

Weinstein, J. J.; Chohan, M. O.; Slifstein, M.; Kegeles, L. S.; Moore, H.; Abi-Dargham, A. Pathway-specific dopamine abnormalities in schizophrenia. **Biological psychiatry**, v.81(1), p.31–42, 2017.

Willems, J. L.; Buylaert, W.; Lefebvre, R.; Bogaert, M. Neuronal dopamine receptors on autonomic ganglia and sympathetic nerves and dopamine receptors in the gastrointestinal system. **Pharmacological Reviews**, v.37(2), p.165–216, 1985.

Wilson, R. I.; Nicoll, R. A. Endogenous cannabinoids mediate retrograde signalling at hippocampal synapses. **Nature**, v.410(6828), p.588–592, 2001.  
Winter, C. A.; Risley, E. A.; Nuss, G. W. Carrageenin-Induced Edema in Hind Paw of the Rat as an Assay for Antiinflammatory Drugs. **Experimental Biology and Medicine**, v.111, p.544–547, 1962.

Wood, P. B. Role of central dopamine in pain and analgesia. **Expert Review of Neurotherapeutics**, v.8(5), p.781-797, 2008.

Wood, P. L.; Pasternak, G. W. Specific  $\mu$  opioid isoreceptor regulation of nigrostriatal neurons: in vivo evidence with naloxonazine. **Neuroscience Letters**, v.37, p.291–293, 1983.

Wood, P. L.; Stotland, M.; Richard, J. W.; Rackham, A. Actions of  $\mu$ ,  $\kappa$ ,  $\delta$  and agonist/antagonist opiates on striatal dopaminergic function. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v.215, p.697–703, 1980.

Woodhams, S. G.; Sagar, D. R.; Burston, J. J.; Chapman, V. The role of the endocannabinoid system in pain. **Pain control**, p.119-143, 2015.

Woolf, C. J. A new strategy for the treatment of inflammatory pain prevention or elimination of central sensitization. **Drugs**, v.47, p.1-9, 1994.

Woolf, C. J. Evidence for a central component of post-injury pain hypersensitivity. **Nature**, v.306(5944), p.686-688, 1983.

Woolf, C. J. What is this thing called pain? **The Journal of Clinical Investigation**, v.120(11), p.3742-3744, 2010.

Yazdi-Ravandi, S.; Razavi, Y.; Haghparsat, A.; Goudarzvand, M.; Haghparsat, A. Orexin A induced antinociception in the ventral tegmental area involves D1 and D2 receptors in the nucleus accumbens. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v.126, p.1–6, 2014.

Yeragani, V. K.; Tancer, M.; Chokka, P.; Baker, G. B. Arvid Carlsson, and the story of dopamine. **Indian journal of psychiatry**, v.52(1), p.87-88, 2010.

## ***Anexos***



## ANEXOS

### Anexo I - Protocolo de aprovação do projeto pelo Comitê de Ética no Uso de Animais



**UFMG**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**CEUA**  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Prezado(a):

Esta é uma mensagem automática do sistema Solicite CEUA que indica mudança na situação de uma solicitação.

**Protocolo CEUA:** 129/2021  
**Título do projeto:** Participação da dopamina na modulação endógena periférica da dor inflamatória em camundongos  
**Finalidade:** Pesquisa  
**Pesquisador responsável:** Igor Dimitri Gama Duarte  
**Unidade:** Instituto de Ciencias Biologicas  
**Departamento:** Departamento de Farmacologia

**Situação atual:** Decisão Final - Aprovado

Aprovado na reunião ordinária on-line do dia 14/06/2021. Validade: 14/06/2021 à 13/06/2026  
Belo Horizonte, 14/06/2021.

Atenciosamente,

Sistema Solicite CEUA UFMG  
[https://aplicativos.ufmg.br/solicite\\_ceua/](https://aplicativos.ufmg.br/solicite_ceua/)  
Universidade Federal de Minas Gerais  
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha  
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005  
31270-901 – Belo Horizonte, MG – Brasil  
Telefone: (31) 3409-4516  
[www.ufmg.br/bioetica/ceua](http://www.ufmg.br/bioetica/ceua) - [cetea@prpq.ufmg.br](mailto:cetea@prpq.ufmg.br)

## Anexo II - Publicação relacionada ao trabalho

European Journal of Pharmacology 987 (2025) 177195



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

European Journal of Pharmacology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/ejphar](http://www.elsevier.com/locate/ejphar)



### Interaction between the dopaminergic and endocannabinoid systems promotes peripheral antinociception

Bárbara Formiga Gonçalves de Queiroz, Flávia Cristina de Sousa Fonseca ,  
Walace Cassio Pinto Barra , Giovanna Bauer Viana , Audrey Lopes Irie ,  
Andrea de Castro Perez, Thiago Roberto Lima Romero, Igor Dimitri Gama Duarte

Laboratory of Pain and Analgesia, Department of Pharmacology, Institute of Biological Sciences, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil

#### ARTICLE INFO

##### Keywords:

Dopamine  
Endocannabinoids  
Pain  
Analgesia  
Peripheral antinociception

#### ABSTRACT

**Background:** Dopamine has been widely related to pain modulation, at central and peripheral levels. In this study we aimed to investigate the mechanisms involved in peripheral antinociception, evaluating the interaction between the dopaminergic and endocannabinoid systems in this event.

**Methods:** Male Swiss mice (30–40 g) were pre-sensitized by administration of the hyperalgesic PGE<sub>2</sub> (2 µg/paw). The nociceptive threshold was measured using the paw withdrawal test.

**Results:** Dopamine (80 ng/paw) promoted antinociception. This effect was reversed by the CB<sub>1</sub> and CB<sub>2</sub> cannabinoid receptor antagonists AM251 (20, 40, and 80 µg/paw) and AM630 (25, 50, and 100 µg/paw). JZL (4 µg/paw), an inhibitor of the degradation of the 2-arachidonylethanolamide (2-AG), potentiated the antinociceptive action of the submaximal dose of dopamine (5 ng/paw). While anandamide degradation and reuptake inhibitors (MAFP 0.5 µg/paw and VDM11 2.5 µg/paw) did not promote changes in intermediate antinociception induced by dopamine. Anandamide at a submaximal dose (12.5 ng/paw) promoted intermediate antinociception that was not potentiated by the administration of the dopamine reuptake inhibitor GBR 12783 (16 µg/paw). In contrast, the administration of GBR potentiated the intermediate antinociception induced by a submaximal dose of 2-AG (10 µg/paw). Furthermore, the dopaminergic receptor antagonists D<sub>2</sub> Remoxipride (4 µg/paw) and D<sub>3</sub> U99194 (16 µg/paw) reversed the antinociception mediated by the maximum dose of this endocannabinoid (20 µg/paw). In contrast, the D<sub>4</sub> receptor antagonist L-745,870 (16 µg/paw) did not change the nociceptive threshold.

**Conclusions:** In this way, we demonstrate the interaction between the dopaminergic and endocannabinoid systems to promote analgesia peripherally.