



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Alfenas
UNIFAL-MG

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação
Av. Jovino Fernandes Sales, 2.600 - Alfenas - MG CEP 37133-840
<http://www.unifal-mg.edu.br/ppgcr/>



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

GABRIELA XAVIER SANTOS

**ENVOLVIMENTO CENTRAL DOS RECEPTORES 5-HT_{1A} NA ANTINOCICEPÇÃO
INDUZIDA PELA FOTOBIMODULAÇÃO EM MODELO ANIMAL DE DOR
NEUROPÁTICA**

ALFENAS/MG

2020

GABRIELA XAVIER SANTOS

**ENVOLVIMENTO CENTRAL DOS RECEPTORES 5-HT_{1A} NA ANTINOCICEPÇÃO
INDUZIDA PELA FOTOBIMODULAÇÃO EM MODELO ANIMAL DE DOR
NEUROPÁTICA**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências da Reabilitação pelo Programa de Pós-graduação em Ciências da Reabilitação da Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Ciências da Reabilitação.

Linha de Pesquisa: Processo de avaliação, prevenção e reabilitação das disfunções neurológicas, cardiorrespiratórias, vasculares e metabólicas.

Orientadora: Prof^a Dr^a Luciana Maria dos Reis

**ALFENAS/MG
2020**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas

S237e Santos, Gabriela Xavier
Envolvimento central dos receptores 5-HT1A na antinocicepção
induzida pela fotobiomodulação em modelo animal de dor neuropática /
Gabriela Xavier Santos -- Alfenas/MG, 2020.
72. il. --

Orientadora: Luciana Maria dos Reis
Dissertação (Mestrado em Ciências da Reabilitação) - Universidade
Federal de Alfenas, 2020.
Bibliografia.

I. Nociceptividade. 2. Camundongos. 3. Serotonina. 4. Reabilitação.
I. Reis, Luciana Maria dos. II. Título.

CDD-615.82



Ministério da Educação
Universidade Federal de Alfenas

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700 - Bairro centro, Alfenas/MG - CEP 37130-001
Telefone: (35) 3701-9000 - <http://www.unifal-mg.edu.br>

ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO Nº 31

Às 13:30 horas do dia 05 de agosto de 2020, foi realizada a sessão de defesa pública de dissertação da discente **GABRIELA XAVIER SANTOS** do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação.

A apresentação oral do trabalho “ **ENVOLVIMENTO CENTRAL DOS RECEPTORES 5-HT1A NA ANTINOCICEPÇÃO INDUZIDA PELA FOTOBIMODULAÇÃO EM MODELO ANIMAL DE DOR NEUROPÁTICA** ” teve duração de 0h, e 45min.

De acordo com os requisitos legais, a comissão examinadora designada para proceder ao exame foi presidida pela orientadora, **Prof(a). Dr(a). Luciana Maria dos Reis - (UNIFAL-MG)** e composta pelos professores: **Prof. Dr. Giovane Galdino de Souza - (UNIFAL-MG)** e **Prof. Dr. Nivaldo Antônio Parizotto - (UFPB)**.

A arguição teve duração total de 2h e 30min. Em reunião secreta a Comissão Examinadora fez a apreciação da dissertação e considerou a candidata:

Aprovada Aprovada condicionalmente Reprovada

Parecer final dos examinadores: (opcional)



Documento assinado eletronicamente por **Giovane Galdino de Souza, Professor do Magistério Superior**, em 05/08/2020, às 15:58, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luciana Maria dos Reis, Professor do Magistério Superior**, em 05/08/2020, às 15:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Nivaldo Antonio Parizotto, Usuário Externo**, em 05/08/2020, às 15:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0345509** e o código CRC **23428639**.

AGRADECIMENTOS

Á Deus pela oportunidade de estudar, pois, a educação é capaz de transformar vidas, por me prover sabedoria, força, discernimento e esperança.

Ao corpo docente de fisioterapia da UNIFAL que foram essenciais na construção do meu conhecimento.

A minha orientadora Luciana Maria dos Reis que é meu exemplo de pessoa e profissional, me ensinou a dar os primeiros passos na pesquisa científica e por compartilhar comigo todo seu conhecimento.

Aos amigos do laboratório por estarem juntos comigo nesta caminhada e me ajudaram muitas vezes.

Aos meus pais que são tudo na minha vida, obrigada por sonharem este sonho junto comigo.

Ao Danillo por toda ajuda, apoio, incentivo a sempre estar buscando o melhor para mim.

A todas as pessoas que estiveram junto comigo nesta trajetória e torcem por mim.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Código de Financiamento 001 e da Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG.

A Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), na pessoa do Prof. Dr. Nivaldo Antônio Parizotto, pela colaboração científica e financeira.

“Ser feliz é encontrar força no perdão,
esperança nas batalhas, segurança no palco
do medo, amor nos desencontros. É agradecer
a Deus a cada minuto pelo milagre da vida!”

(Fernando Pessoa)

RESUMO

A dor neuropática é decorrente de lesão ou doença que acomete o sistema somatossensorial. É uma resposta mal adaptativa, sem valor biológico e importante causa de incapacidade permanente, principalmente quando cronicada. A preocupação em reduzir a dor neuropática e suas consequências tem estimulado a realização de pesquisas, em modelos animais, com diversos recursos. De forma particular, a Fotobiomodulação (FBM) tem sido amplamente utilizada em investigações sobre regeneração tecidual e redução da dor. Entretanto, seus mecanismos de ação, principalmente na modulação central do estímulo doloroso, permanecem não esclarecidos na literatura. Estudos demonstraram que o sistema serotoninérgico está envolvido na modulação da dor, principalmente pela ativação da via supra-espinhal, no entanto, o papel da FBM nesse processo de modulação da dor ainda não está bem elucidado. Desta forma, o objetivo deste estudo foi investigar o envolvimento central dos receptores 5-HT_{1A} sobre o comportamento nociceptivo de camundongos submetidos à constrição crônica do nervo ciático (CCI) e posterior aplicação da FBM. Para tal, camundongos machos (Suíço- albino) foram submetidos à CCI. Posteriormente, os animais receberam infusão de WAY100635 (antagonista dos receptores 5-HT_{1A}) ou salina intra-cerebroventricular seguidos de irradiação com laser infravermelho (808 nm), no modo contínuo com potência de 100 mW e dose de 0 J/cm² (Grupo Controle) e 50 J/cm². A hiperalgesia ao estímulo térmico foi avaliada pelo teste da placa quente, enquanto a alodinia ao estímulo mecânico, por filamentos de *von Frey*. Após a CCI os animais apresentaram redução do limiar nociceptivo ($p < 0,001$) quando comparados ao grupo SHAM. No teste de *von Frey*, apenas o grupo CCI + Salina + FBM 50 J/cm² apresentou aumento do limiar nociceptivo ($p < 0,001$) após aplicação da FBM em todos os momentos de mensuração em comparação com os grupos CCI + SALINA + FBM 0 J/cm², CCI + WAY100635 + FBM 50 J/cm² e CCI + WAY100635 + FBM 0 J/cm². Resultados semelhantes também foram encontrados no teste da placa quente, onde o grupo CCI + Salina + FBM 50 J/cm² apresentou aumento do limiar nociceptivo após aplicação da FBM nos momentos 120 e 180 minutos de avaliação da latência nociceptiva. Diante dos resultados apresentados pode-se sugerir o envolvimento dos receptores 5-HT_{1A} no SNC, visto que o WAY100635 foi capaz de

reverter o efeito antinociceptivo proporcionado pela FBM em animais submetidos à CCI.

Palavras-chave: Nocicepção. Laser. Camundongos. Serotonina. Reabilitação.

ABSTRACT

Neuropathic pain is due to injury or disease that affects the somatosensory system. It is a poorly adaptive response, has no biological value and is an important cause of permanent disability, especially when chronic. The concern to reduce neuropathic pain and its consequences has stimulated research, in animal models, with different resources. In particular, photobiomodulation has been widely used in investigations on tissue regeneration and pain reduction. However, its mechanisms of action, mainly in the central modulation of the painful stimulus, remain unclear in the literature. Studies have shown that the serotonergic system is involved in pain modulation, mainly by activating the supraspinal pathway, however the role of photobiomodulation (FBM) in this pain modulation process is still not well understood. Thus, the aim of this study was to investigate the central involvement of 5-HT_{1A} receptors on the nociceptive behavior of mice submitted to chronic sciatic nerve constriction (CCI) and subsequent application of FBM. Subsequently, the animals received an infusion of WAY100635 (5-HT_{1A} receptor antagonist) or saline intracerebroventricular followed by irradiation with infrared laser (808 nm), continuous-wave mode, optical power of 100 mW, and dose of 0 J/cm² (Control Group) and 50 J/cm². Hyperalgesia to the thermal stimulus was evaluated by the hot plate test, while allodynia to the mechanical stimulus, by von *Frey* filament. After the CCI, the animals showed a reduction in the nociceptive threshold ($p < 0.001$) when compared to the SHAM group. In the *von Frey* test, only the CCI + Saline + FBM 50 J/cm² group showed an increase in the nociceptive threshold after applying the FBM at all times of measurement with ($p < 0.001$) in comparison with the other groups (2) CCI + SALINE + FBM 0 J/cm², (3) CCI + WAY100635 + FBM 50 J/cm² and (4) CCI + WAY100635 + FBM 0 J/cm². Similar results were also found in the hot plate test, where the CCI + Saline + FBM 50 J/cm² group showed an increase in the nociceptive threshold after the application of FBM in the following moments of assessment of nociceptive latency 120 and 180 minutes. In view of the results presented, it is possible to suggest the involvement of 5HT_{1A} receptors in the CNS, since WAY100635 was able to reverse the antinociceptive effect provided by FBM in animals submitted to CCI.

Keywords: Nociception. Lasers. Mice. Serotonin. Rehabilitation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Etapas da nocicepção ate a percepção do estímulo nocivo.	18
Figura 2 - Estruturas encefalicas envolvidas na modulação da dor.	24
Figura 3 - Neurônios serotoninérgicos localizados no núcleo da rafe e as suas projeções ascendentes e descendentes.	26
Figura 4 - A absorção do feixe de luz vermelha ou infravermelha por cromóforos celulares específicos ou fotoacceptores localizados na mitocôndria.	29
Figura 5 - Fluxograma dos grupos de animais utilizados na experimentação.	34
Figura 6 - Estereotaxia para colocação da cânula na região ICV.	35
Figura 7 - Procedimento de CCI.	36
Figura 8 - Equipamento Laser Duo (MM OPTICS® São Carlos, SP, Brasil) utilizado na FBM sobre a CCI.	39
Figura 9 - Aparato utilizado para avaliações da alodinia mecânica.	42
Figura 10 - Filamentos de von Frey de diferentes espessuras utilizados na avaliação do limiar nociceptivo mecânico.	42
Figura 11 - Hot Plate (Insight®, Equipamentos Científicos Ltda, Brasil) utilizado para avaliação da hiperalgesia térmica.	43
Figura 12 - Dispersão do azul de metileno na região ICV.	44
Figura 13 - Representação esquemática do protocolo experimental.	45
Gráfico 1 - Avaliação do limiar nociceptivo mecânico antes e após o procedimento cirúrgico.	48
Gráfico 2 - Avaliação do limiar nociceptivo mecânico antes e após o procedimento cirúrgico.	48
Gráfico 3 - Avaliação do limiar nociceptivo mecânico para investigação do envolvimento dos receptores 5HT1A na antinocicepção promovida pela fotobiomodulação (FBM) em animais com constrição crônica do nervo ciático (CCI).	50
Gráfico 4 - Avaliação da latência nociceptiva pelo teste da Placa Quente para investigação do envolvimento dos receptores 5HT1A na antinocicepção proporcionado pela fotobiomodulação (FBM) em animais com constrição crônica do nervo ciático (CCI).	51

Quadro 1 - Informações sobre o dispositivo, irradiação e parâmetros de tratamento.	40
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

`	Minutos
°C	Grau Celsius
µl	Microlitro
5-HT	Serotonina
ATP	Adenosina Trifosfato
Ca ⁺²	Cálcio
cAMP	Adenosina monofosfato cíclico
CCI	Chronic constriction injuria
CCO	Citocromo C oxidase
CDME	Corno dorsal da medula espinhal
CGRP	Peptídeo Relacionado ao Gene da Calcitonina
CID	<i>International Classification of Diseases</i>
DN	Dor neuropática
ERO	Espécies reativas de oxigênio
FBM	Fotobiomodulação
g	Gramma
IASP	<i>International Association for the Study of Pain</i>
ICV	Intracerebroventricular
i.p	Intraperitoneal
J	Joules
J/cm ²	Joules por centímetros quadrado
K ⁺	Potássio
LC	Lócus coeruleus
NGF	Fatores de crescimento nervoso
nm	Nanômetro
nmol	Nanomol
NO	Óxido nítrico
PGE ₂	Prostaglandina E ₂
RAIC	<i>Rostral Agranular Insular Cortex</i> - Cortex Insular Agranular Rostral
RVM	<i>Rostral Ventromedial Medulla</i> - Bulbo Rostral Ventromedial
s	Segundos

S1	Córtex somatossensorial primário
SCP	Substância Cinzenta Periaquedutal
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Sistema Nervoso Periférico
SP	Substância P
TENS	Estimulação elétrica nervosa transcutânea
W	Watts
W/cm ²	Watts por centímetro quadrado
WAY100635	N - {2 - [4 -(2- metoxifenil) -1- piperazina] etil} - N - (2-piridinil) ciclohexacarboxiamida triidrocloro)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1	CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A DOR.....	15
2.2	VIAS AFERENTES DE TRANSMISSÃO DA DOR	16
2.3	DOR NEUROPÁTICA.....	18
2.4	MODULAÇÃO DA DOR	22
2.5	FOTOBIMODULAÇÃO	27
2.6	MODELOS ANIMAIS/ EVIDÊNCIAS EXPERIMENTAIS	29
2.7	JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA DO ESTUDO	31
3	OBJETIVO	32
3.1	OBJETIVO GERAL.....	32
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
4	MATERIAIS E MÉTODOS	33
4.1	ANIMAIS.....	33
4.2	PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS	34
4.2.1	Estereotaxia	34
4.2.2	Constricção Crônica do Nervo Ciático.....	36
4.3	DROGA	37
4.4	PROCEDIMENTO PARA INFUSÃO DA DROGA.....	37
4.5	APLICAÇÃO DA FOTOBIMODULAÇÃO	37
4.6	TESTES NOCICEPTIVOS	40
4.6.1	Avaliação da alodinia mecânica	41
4.6.2	Avaliação da hiperalgesia térmica	42
4.7	ANALISE MACROSCÓPICA DA REGIÃO INTRACEREBROVENTRICULAR.....	43
4.8	DELINEAMENTO DO ESTUDO	44
4.9	ANÁLISE ESTATÍSTICA	45
5	RESULTADOS	47
5.1	LIMIAR NOCICEPTIVO ANTES E APÓS O PROCEDIMENTO CIRURGICO VALIADO PELO TESTE DE VON FREY E PLACA QUENTE	47

5.2	ENVOLVIMENTO DOS RECEPTORES 5HT1A NA ANTINOCICEPÇÃO PROMOVIDA PELA FBM EM ANIMAIS SUBMETIDOS À CCI AVALIADOS PELO TESTE DA PLACA QUENTE.	48
5.3	ENVOLVIMENTO DOS RECEPTORES 5HT1A NA ANTINOCICEPÇÃO PROMOVIDA PELA FBM EM ANIMAIS SUBMETIDOS À CCI AVALIADOS PELO TESTE DA PLACA QUENTE.	50
6	DISCUSSÃO	52
7	CONCLUSÃO	58
	REFERÊNCIAS	59
	ANEXO	74

1 INTRODUÇÃO

A dor crônica é um problema comum, complexo e angustiante que gera impacto significativo na qualidade de vida dos indivíduos acometidos (OSSIPOV; MORIMURA; PORRECA, 2014).

A *International Association for the Study of Pain* (IASP) juntamente com especialistas de dor em todo mundo se reuniram com o objetivo de desenvolver uma classificação nova e pragmática da dor crônica para a *International Classification of Diseases (CID)*. De acordo com a nova classificação, a dor crônica pode ser descrita em sete grupos, sendo eles: (1) dor primária crônica, (2) dor crônica de câncer, (3) dor crônica pós-traumática e pós-cirúrgica, (4) dor neuropática crônica, (5) dor de cabeça crônica e dor orofacial, (6) dor visceral crônica e (7) dor musculoesquelética crônica (TREEDE *et al.*, 2015).

A dor neuropática (DN) é causada por lesão ou doença que acomete o sistema nervoso somatossensorial. A prevalência da DN tende a aumentar nos próximos anos devido ao aumento da expectativa de vida da população e à maior incidência de condições clínicas que causam lesão do sistema nervoso, como *Diabetes Mellitus* e câncer em tratamento com quimioterápicos (COLLOCA *et al.*, 2017).

Embora a DN seja descrita como um tipo de dor crônica, com componente inflamatório associado em suas fases iniciais, o estudo desta condição clínica em seus diferentes estágios de progressão contribui para a compreensão dos efeitos dos diferentes tipos de tratamento em cada fase (HUGHES *et al.*, 2013; OKAMOTO *et al.*, 2019).

O manejo da DN é um desafio para os profissionais da área da saúde. O tratamento farmacológico com antidepressivos tem comumente como alvo o sistema serotoninérgico, especificamente os receptores 5-HT_{1A} pós-sináptico, porém muitas vezes apresenta efeitos colaterais indesejados e melhora insatisfatória dos sintomas (CHOI; CHO; JANG, 2013; HALEEM, 2018).

Novos estudos estão sendo realizados com finalidade de oferecer novas opções de tratamento para indivíduos com DN com menos efeitos colaterais. A fotobiomodulação (FBM) tem demonstrado resultados satisfatórios no tratamento da DN de diversas etiologias, no entanto, os mecanismos de ação da FBM não são totalmente compreendidos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A DOR

A dor é o principal motivo pelo qual as pessoas vão à busca do serviço de saúde (DINAKAR; STILLMAN, 2016). De acordo com a IASP, a dor pode ser definida como uma experiência sensorial e emocional desagradável associada, ou semelhante, a uma lesão tecidual real ou potencial (RAJA *et al.*, 2020).

O fenômeno doloroso é complexo e vai além da nocicepção. A nocicepção é o evento caracterizado pela codificação e processamento do estímulo nocivo, já a dor é designada como subjetiva, pois envolve outros componentes além da nocicepção como o cognitivo afetivo (emocional), experiência prévia, fatores contextuais, psicológicos, sociocultural além do gênero e idade (DUBIN; PATAPOUTIAN, 2010; GOLD; GERHART, 2010).

A avaliação da dor foi incluída como o 5º sinal vital, fazendo parte da rotina de avaliação de todos os profissionais da área da saúde, onde é investigado se há a presença de dor, intensidade, localização, característica e tempo de duração (ARAUJO; ROMERO, 2015).

De acordo com o tempo de ocorrência da lesão, a dor pode ser classificada em aguda, subaguda e crônica (DINAKAR; STILLMAN, 2016). A dor aguda é de curta duração, geralmente inferior a quatro semanas e possui etiologia identificável resultante de dano tecidual, a dor subaguda persiste por um período de 4 a 12 semanas e a dor crônica persiste após o tempo normal de cura ou cicatrização de uma lesão, com a presença de dor persistente ou recorrente com duração que excede três meses (TREEDE *et al.*, 2015; QASEEM, 2017).

A persistência do evento doloroso, além do tempo previsto de cura, não possui função de alerta e exibe como características o comprometimento funcional, sofrimento, incapacidade física e emocional reduzindo a qualidade de vida (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

Dentre os principais tipos de dor, pode-se destacar a (1) dor nociceptiva (somática e/ou visceral), (2) dor neuropática (DN) e (3) dor nociplástica (NIJS *et al.*, 2019).

A dor nociceptiva ocorre por ativação fisiológica de nociceptores presentes nas vias ascendentes da dor, está relacionada à lesão tecidual e tem a função de alerta e proteção dos tecidos (BENNETT *et al.*, 2006). Em contrapartida, a DN se desenvolve como consequência direta de uma lesão ou doença que afeta o sistema nervoso central (SNC) ou periférico (HATCH *et al.*, 2018). A dor nociplástica surge da nocicepção alterada, apesar de não haver evidência clara de dano tecidual real ou ameaça causando a ativação de nociceptores periféricos ou evidência de doença ou lesão do sistema somatossensorial que causem dor (KOSEK *et al.*, 2016).

2.2 VIAS AFERENTES DE TRANSMISSÃO DA DOR

A dor fisiológica é importante para nossa sobrevivência, pois nos permite identificar estímulos nocivos que são prejudiciais e interferem no equilíbrio da homeostase do corpo (TABOR *et al.*, 2016).

Os receptores responsáveis por captar o estímulo nocivo são denominados nociceptores. Estes estão presentes nas terminações de neurônios aferentes primários localizadas nas articulações, pele, músculos, tendões, fáscias, ossos, vísceras e vasos arteriais e respondem seletivamente a estímulos nocivos de alta magnitude de origem química, mecânica ou térmica (ALMEIDA; ROIZENBLATT; TUFIK, 2004; GOLD; GERHART, 2010).

Após a ativação dos nociceptores, a informação nociceptiva é conduzida da periferia à medula espinal, através da qual a informação irá ascender para o encéfalo. Este processo envolve quatro etapas conhecidas como transdução, transmissão, modulação e percepção (ELLISON, 2017) (FIGURA 1).

A transdução é o processo de conversão, através da abertura dos canais iônicos (sódio, potássio e cálcio) dos nociceptores, de um estímulo nocivo (térmico, mecânico ou químico) em potenciais de ação (MCCLESKEY; GOLD, 1999). Vale salientar que os nociceptores não só detectam os estímulos nocivos, mas também possuem propriedades eferentes com liberação de neurotransmissores, como a substância P (SP) e o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP). Este fenômeno é conhecido como inflamação neurogênica e ocorre quando se tem perda

de integridade dos tecidos, com o objetivo de aumentar o processo inflamatório (JULIUS; BASBAUM, 2001).

A transmissão refere-se à passagem dos potenciais de ação do terminal periférico em direção ao SNC. É realizada especificamente através das fibras aferentes primárias que podem ser classificadas, de acordo com suas propriedades anatômicas e funcionais, em fibras A β , A δ e C, sendo as duas últimas relacionadas à transmissão do impulso doloroso (JULIUS; BASBAUM, 2001; WOOLF; MA, 2007).

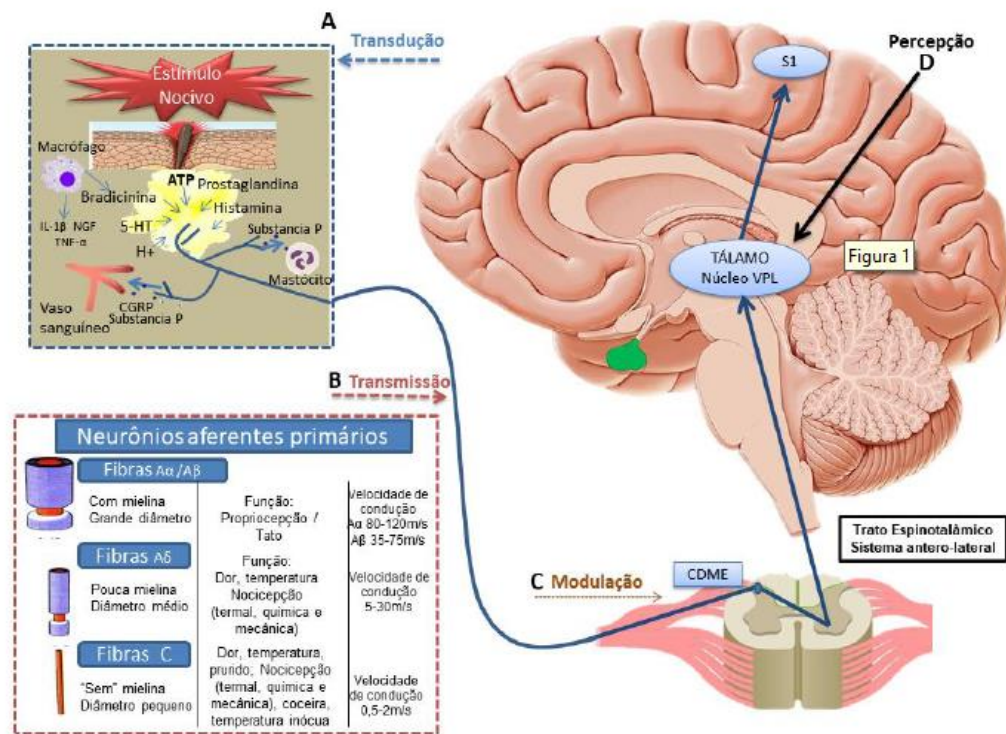
As fibras do tipo A β possuem generosa camada de mielina e velocidade de condução rápida (30 a 100 m/s), sendo ativadas frente a estímulos inócuos (tato, vibração, propriocepção e pressão). As fibras A δ possuem camada de mielina inferior a fibra A β e velocidade de condução lenta (5 e 30 m/s) responsáveis pela transmissão da dor aguda inicial, por último as fibras do tipo C, também denominadas fibras polimodais, são de pequeno diâmetro, não possuem bainha de mielina, possuem velocidade de condução lenta (0,5 a 2 m/s) são responsáveis pela condução da dor crônica que possui como característica ser lenta, difusa e prolongada (JULIUS; BASBAUM, 2001; WOOLF; MA, 2007).

Ao serem conduzidas até o corno dorsal da medula espinhal (CDME), as informações nociceptivas poderão fazer conexão com interneurônios inibitórios ou neurônios excitatórios de segunda ordem, através dos quais as informações irão ascender aos centros superiores por meio de tratos especializados (DINAKAR; STILLMAN, 2016). Estes tratos se conectam com várias regiões dos centros superiores sendo o tálamo uma delas. Por fim, os impulsos são projetados no córtex somatossensorial para interpretação e em outras áreas do encéfalo para uma resposta integrada aos estímulos dolorosos (STEEDS, 2009).

A percepção da dor ocorre através da integração de várias regiões cerebrais conhecidas como neuromatrix. Dentre essas regiões podemos citar o córtex somatossensorial, encarregado pelo componente sensitivo-discriminativo da dor, e as estruturas que compõem o sistema límbico, como a formação reticular, septo, hipocampo, hipotálamo, substância cinzenta periaquedutal (SCP), responsáveis pelo componente afetivo-motivacional da dor. O córtex cerebral é a região responsável pela resposta cognitivo-avaliador que envolve comportamento aprendido do indivíduo em relação à experiência dolorosa e, portanto, pode controlar a percepção da dor (DINAKAR; STILLMAN, 2016; ELLISON, 2017).

A modulação da dor ocorre no CDME por meio da ativação de interneurônios inibitórios ou pela liberação de neurotransmissores nas vias descendentes envolvidas no processo de modulação do estímulo doloroso (KWON *et al.*, 2014; OSSIPOV; MORIMURA; PORRECA, 2014).

Figura 1 - Etapas da nociceção até a percepção do estímulo nocivo



Fonte: Adaptado de PURVES (2010)

Legenda: CDME= corno dorsal da medula espinal, S1 = córtex somatosensorial primário, VPL = Ventral pósterio-lateral.

2.3 DOR NEUROPÁTICA

De acordo com a definição proposta pela IASP, a DN é decorrente de uma lesão ou doença que afeta o sistema somatosensorial (JENSEN *et al.*, 2011).

Diferente da dor nociceptiva, a DN é mal adaptativa, não tem valor biológico e é importante causa de incapacidade permanente, principalmente quando cronicada, não podendo ainda ser classificada de acordo com o tempo de instalação, pois o

surgimento da neuropatia pode ocorrer em dias, semanas ou meses (BENBOUZID *et al.*, 2008; ELLISON, 2017).

A fisiopatologia da dor neuropática não está completamente esclarecida, mas sabe-se que, indivíduos com neuropatias periféricas ou centrais, há modificações anatômicas, eletrofisiológicas e neuroquímicas significativas das vias nervosas periféricas e dos núcleos e tratos implicados no processamento sensitivo (UEDA, 2006).

A presença de focos ectópicos de potenciais de ação, que se originam espontaneamente sem a presença de estímulos, é descrita como um componente da fisiopatologia da DN. Estes focos ectópicos ocorrem devido à cessação no trajeto do nervo periférico, ocasionado pela lesão nervosa, impedindo que as proteínas produzidas pelo corpo dos neurônios sejam transportadas até o seu terminal periférico (CLINE; OCHOA; TOREBJORK, 1989; TESFAYE; BOULTON; DICKENSON, 2013). Outro contribuinte para o disparo espontâneo das fibras nervosas após a lesão é o aumento da expressão dos canais de sódio, como Nav1.3, Nav1.7 e Nav1.8, nos gânglios da raiz dorsal e ao redor do neuroma. Essa disseminação dos canais de sódio pode também desencadear sensibilização central, levando à alodinia (LEVINSO; LUO; HENRY, 2012; COHEN; MAO, 2014).

O dano à bainha de mielina leva à falta de isolamento entre os neurônios e permite que fibras do tipo A β façam conexão com neurônios envolvidos na transmissão nociceptiva. Este evento é denominado comunicação efática e é descrito como responsável, juntamente com a presença de focos ectópicos, pela hiperalgesia e alodinia observadas na DN (COHEN; MAO, 2014).

Um componente importante nos mecanismos da DN está relacionado às alterações neuroplásticas que ocorrem ao longo da via nociceptiva na medula espinhal e em várias regiões do encéfalo. Dentre estas alterações observa-se aumento da expressão dos nociceptores e neurônios de segunda ordem, aumento da excitabilidade neuronal na medula espinhal com ativação dos receptores excitatórios de glutamato e hiperativação das vias nociceptivas ascendentes (DOUGHERTY; WILLIS, 1992; WILLIS; WILLIAN, 2001; GUO *et al.*, 2002).

Além disso, após lesão nervosa, o mecanismo de inibição da nocicepção é afetado, ocorrendo redução nos níveis de neurotransmissores inibitórios, como o GABA e a glicina, tanto nos terminais de neurônios aferentes como nos interneurônios inibitórios localizados no CDME (ELLISON, 2017). A nível supraespinhal também é

observado redução dos neurotransmissores envolvidos na modulação da dor como a noradrenalina, serotonina (5-HT), dopamina e opióides endógenos (COHEN; MAO, 2014).

Assim como nos demais tipos de dor crônica, a DN promove a ativação de regiões encefálicas importantes nas reações afetivas à dor, como a área parabraquial, núcleo central da amígdala, SCP e áreas do córtex cerebral relacionado às emoções, à integração sensorial e à personalidade, o que favorece o surgimento de comorbidades como a ansiedade e depressão, problemas psicológicos, distúrbio no sono, disfunção cognitiva, retraimento social (HUNT; BESTER, 2005; BENBOUZID *et al.*, 2008; INOUE *et al.*, 2017) e consequente piora na qualidade de vida.

Estima-se que a DN acometa cerca de 7 a 10 % da população geral sendo considerada um problema de saúde pública com grande ônus financeiro relacionado a consultas médicas, hospitalizações e perda da capacidade de trabalho (O'CONNOR; DWORKIN, 2009; VAN HECKE *et al.*, 2013). É provável que a incidência da DN aumente nos próximos anos devido ao aumento de indivíduos com câncer, em tratamento com quimioterápicos, aumento da incidência de Diabetes *Mellitus* e envelhecimento populacional global (COLLOCA *et al.*, 2017).

A etiologia da DN é bem heterogênea, variando substancialmente tanto em termos da localização anatômica quanto à causa. Sabe-se que indivíduos que apresentam alterações metabólicas como Diabetes *Mellitus*, deficiência de vitamina B, infecção causada pelo vírus da varicela *zoster* ou vírus da imunodeficiência humana (HIV), indivíduos expostos a neurotoxinas como quimioterapia ou consumo de álcool excessivo, lesão do nervo ocasionada por trauma ou síndrome do aprisionamento ou outra qualquer condição que afete a integridade do SNC ou periférico, estão propensos a desenvolverem DN (VON HEHN; BARO; WOOLF, 2012; SCHOLZ *et al.*, 2019).

Entretanto, o desenvolvimento da DN não depende exclusivamente da ocorrência de lesão ou doença acometendo o sistema somatossensorial. Fatores ambientais como dieta e estilo de vida, associados ao genótipo individual são fatores determinantes para o surgimento ou não desta condição clínica (VON HEHN; BARO; WOOLF, 2012).

Independente da causa da DN, a manifestação clínica é semelhante, sendo dor espontânea, alodinia e hiperalgesia os principais sintomas observados (DWORKIN *et al.*, 2003; TRUINI; CRUCCU, 2006). A dor espontânea ocorre independente da

presença de estímulo, podendo manifestar-se de forma paroxística, descrita como sensação de choque elétrico, ou de forma constante, relatada como sensação de dor em queimação. Em contra partida, a alodinia e a hiperalgesia são sintomas de dor evocada (dependente de estímulos). A alodinia é descrita como dor diante de um estímulo inócuo e a hiperalgesia como exacerbação da dor frente a um estímulo doloroso (PIGATTO *et al.*, 2016). A hiperalgesia pode ser classificada como primária, quando os nociceptores são sensibilizados após dano tecidual, ou secundária, observada no tecido adjacente não danificado devido à sensibilização no SNC (COHEN; MAO, 2014). Outro sintoma comum na prática clínica é a parestesia, descrita como sensação de formigamento (TRUINI; CRUCCU, 2006).

Sintomas negativos, como hipoestesia, caracterizada pela sensação reduzida à estímulos não dolorosos; hipoalgesia, sensação reduzida a estímulos dolorosos; hipoestesia térmica, sensação reduzida frente a estímulos térmicos; e palipoestesia, sensação reduzida à vibração, também fazem parte do diagnóstico de DN (TRUINI; CRUCCU, 2006; PIGATTO *et al.*, 2016).

Por se tratar de uma experiência essencialmente subjetiva, o diagnóstico da DN envolve também descritores verbais dos sujeitos acometidos, avaliados por meio de questionários padronizados que auxiliam na triagem pelos profissionais da saúde. A maioria desses questionários inclui perguntas sobre a característica da dor, como presença de dor em queimação, parestesia, ataques de dor, hipersensibilidade mecânica e térmica e dormência, no entanto, são usados apenas para triagem, sendo necessária realização de avaliação clínica mais aprofundada (CRUCCU *et al.*, 2010).

O manejo da DN é um desafio tanto para clínicos como para pesquisadores, devido a sua complexidade. Dentre a vasta gama de tratamentos para DN podemos citar o farmacológico e o não farmacológico. Os antiepiléticos, como a pregabalina e a gabapentina, os antidepressivos tricíclicos e os inibidores seletivos de recaptção de serotonina são os fármacos considerados de primeira linha para o tratamento da DN (FINNERUP *et al.*, 2015). No entanto, boa parte dos pacientes não apresenta melhora satisfatória dos sintomas, além do aumento de efeitos adversos ou colaterais pelo uso prolongado.

Várias pesquisas vêm sendo desenvolvidas com o objetivo de oferecer outras opções de tratamento além do farmacológico. Acupuntura, estimulação transcraniana por corrente contínua, estimulação magnética transcraniana, terapia cognitivo comportamental, estimulação elétrica nervosa transcutânea (TENS) e mobilização

neural são terapias e técnicas utilizadas para o manejo da DN (ATTAL *et al.*, 2016; XU; ZHANG; HUANG, 2016; DIMITROVA; MURCHISON; OKEN, 2017; BASSON; OLIVIER, 2017; BASSON *et al.*, 2017; LOVAGLIO *et al.*, 2019).

O tratamento com FBM vem se destacando pelos seus efeitos positivos para o tratamento da DN tanto em humanos quanto em modelos animais (DE ANDRADE; BOSSINI; PARIZOTTO, 2016; DE PEDRO *et al.*, 2019).

2.4 MODULAÇÃO DA DOR

A modulação descendente da dor envolve diferentes estruturas do SNC e um amplo sistema envolvendo diferentes neurotransmissores. Este sistema modulador foi descoberto por meio de estudos em modelos animais e posteriormente confirmado em estudos clínicos por meio do avanço tecnológico em neuroimagem e farmacologia (OSSIPOV; MORIMURA; PORRECA, 2014).

A dor é um fenômeno dinâmico, onde as informações nociceptivas podem ser moduladas em diferentes níveis no SNC antes que a dor seja totalmente percebida por estruturas corticais (BINGEL; SCHOELL; BÜCHE, 2007; MARCHAND, 2008).

A modulação da dor no CDME se faz por meio da ativação de fibras táteis mielinizadas. Antes do estímulo doloroso chegar ao SNC, o mesmo pode ser modulado pelo SNP por meio da ativação de fibras A β que são altamente mielinizadas e capazes de ativar interneurônios inibitórios na substância gelatinosa, minimizando ou até mesmo cessando a chegada do estímulo doloroso ao encéfalo (MELZACK; WALL, 1965). Diante desta teoria, esfregar uma área dolorosa alivia a dor, no entanto, em algumas condições de dor crônica, como a DN, esfregar a região dolorosa pode aumentar a percepção da dor em decorrência da sensibilização central (VON HEHN; BARO; WOOLF, 2012; COHEN; MAO, 2014).

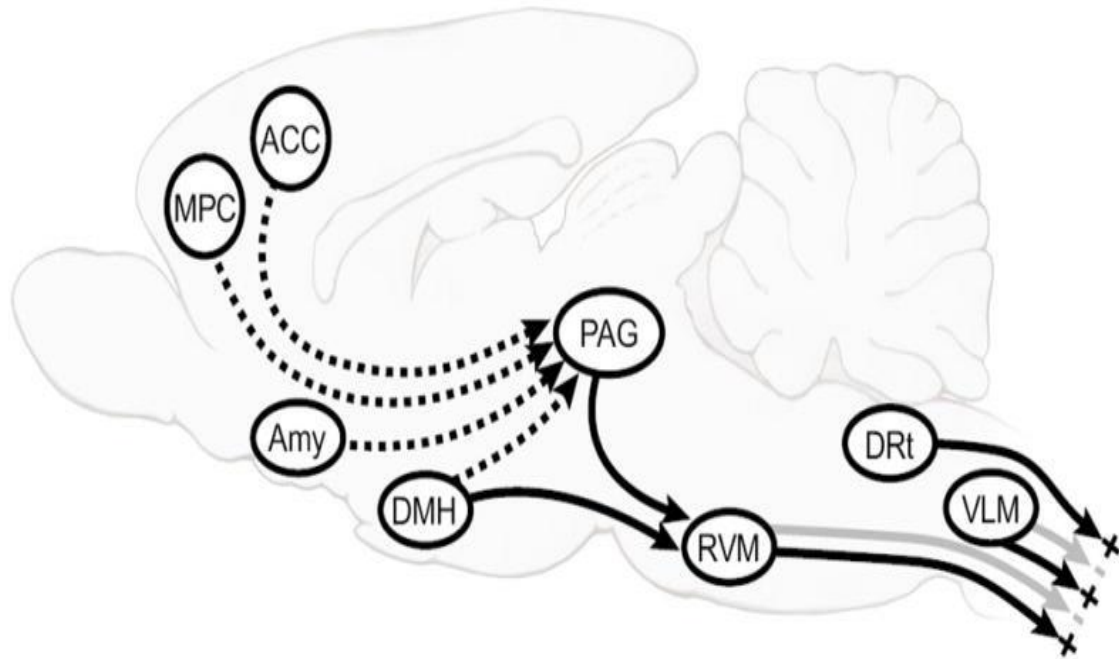
Estruturas do SNC como córtex pré-frontal, córtex cingulado anterior, córtex insular, amígdala, hipotálamo periventricular e póstero-lateral, substância cinzenta periaquedutal (SCP), locus coeruleus (LC) e bulbo rostral ventromedial (RVM, do inglês *Rostral Ventromedial Medulla*) exercem importante papel na via descendente de modulação da dor, seja de forma direta ou indiretamente (FIGURA 2)

(HEINRICHER *et al.*, 2009; OSSIPOV; MORIMURA; PORRECA, 2014; KWON *et al.*, 2014).

Dentre as estruturas relacionadas ao controle descendente da dor, a SCP exerce importante função (VANEGAS; SCHAIBLE, 2004). Recebe conexões eferentes de regiões cerebrais superiores e envia projeções descendentes para o LC e RVM modulando a dor. Em 1969, Reynolds em seu estudo mostrou que estimulação elétrica da SCP ventral produziu analgesia, permitindo assim a realização de um procedimento cirúrgico em ratos sem o uso de sedativos. A SCP também tem sido relacionada à modulação da dor decorrente da lesão de nervos periféricos (NARITA *et al.*, 2003). A estimulação elétrica da coluna ventral da SCP é capaz de reduzir a alodinia mecânica e térmica, observadas após lesão nervosa periférica em ratos (LEE *et al.*, 2000). Os receptores CB1 localizados na SCP dorsolateral estão envolvidos no efeito modulador da nocicepção após aplicação da FBM em camundongos com Constrição crônica do nervo ciático (SANTOS *et al.*, 2020).

Evidências científicas apontam que estruturas supraespinais como a RVM, não só exercem efeito inibitório através das células “OFF”, mas também podem ativar as fibras “ON” responsáveis pela facilitação da dor (PORRECA; OSSIPOV; GEBHART, 2002).

Figura 2 - Estruturas encefálicas envolvidas na modulação da dor



Fonte: HEINRICHER *et al.* (2009)

Legenda: Córtex cingulado anterior (ACC), amígdala (AMY), núcleo dorsomedial do hipotálamo (DMH), córtex medial pré-frontal (MPC), substância cinzenta periaquedutal (PAG), bulbo rostral ventromedial (RVM), nucleodorsal reticular (DRt), bulbo rostral ventromedial (VLM).

O efeito modulatório da dor pelas estruturas supraespinhais ocorre através dos neurotransmissores como dopamina, 5-HT e noradrenalina (KWON *et al.*, 2014; BANNISTER; DICKENSON, 2016).

Os receptores dopaminérgicos D2 e D3 têm sido relacionados à modulação da nocicepção crônica (COFFEEN *et al.*, 2008). Sabe-se que a principal fonte de vias dopaminérgicas descendentes está na região do hipotálamo posterior periventricular (PAULUS; TRENKWALDER, 2006). Este sistema dopaminérgico mesolímbico possui uma relação estreita com a área do córtex insular agranular rostral (RAIC, do inglês *Rostral Agranular Insular Cortex*), uma região importante que recebe aferências somáticas e tem sido relacionada ao *input* nociceptivo. Foi mostrado que o RAIC faz conexões eferentes enviando projeções para hipotálamo lateral, rafe dorsal, PAG, região pericerulear, medula rostroventral e núcleos parabraquiais (JASMIN *et al.*, 2004).

O sistema noradrenérgico é crucial para várias atividades no corpo, incluindo a modulação da dor. Este sistema é composto por diferentes receptores adrenérgicos localizados em todo sistema nervoso e classificado por grupos de A1 a A7

(PERTOVAARA, 2006). De forma particular, na região do LC estão localizados os neurônios noradrenérgicos A6 que enviam projeções descendentes para a medula espinhal, proporcionando efeito antinociceptivo (JONES; GEBHART, 1986; TAVARES *et al.*, 1996).

A 5-HT é um importante neurotransmissor encontrado tanto no SNC como na periferia e desempenha importante papel na regulação de diversas funções, dentre elas a modulação da dor (BERGER; GRAY; ROTH, 2009). A 5-HT possui sete tipos de receptores (5-HT1, 5-HT2, 5-HT3, 5-HT4, 5-HT5, 5-HT6 e 5-HT7) e 15 subtipos, de acordo com suas características farmacológicas, estruturais e transduccionais. Os subtipos de receptores de 5-HT são acoplados a proteína G, com exceção dos receptores 5-HT3 (TAO *et al.*, 2019).

Devido à multiplicidade de receptores serotoninérgicos, a 5-HT possui efeito dual na modulação da dor, podendo gerar aumento ou diminuição da mesma a depender de fatores como subtipo de receptor ativado, localização anatômica do receptor, dose de agonista e antagonista, tipo de dor e tempo de duração (CORTES-ALTAMIRANO *et al.*, 2018).

Embora tenha ocorrido um avanço na compreensão do papel da neurotransmissão serotoninérgica na modulação da dor, seus mecanismos de ação ainda não são totalmente compreendidos, principalmente a nível medular e supraespinhal. Sabe-se que os receptores 5-HT1A, 5-HT1B, 5-HT1D E 5-HT7 tendem a apresentar efeito antinociceptivo, enquanto a ativação dos receptores 5-HT2A E 5-HT3 tendem a promover a nocicepção (MILLAN, 2002; SUZUKI; RYGH; DICKENSON, 2004; RAHMAN *et al.*, 2020).

No SNC, grande parte dos neurônios serotoninérgicos é encontrada no núcleo da rafe, localizado no tronco cerebral. Estes neurônios enviam projeções ascendentes para várias estruturas cerebrais e descendentes para medula espinhal (FIGURA 3). A ativação de projeções descendentes permite a liberação de 5-HT no CDME nos terminais das projeções diretas ou nos interneurônios espinhais (KATO *et al.*, 2006; WINKLER *et al.*, 2006).

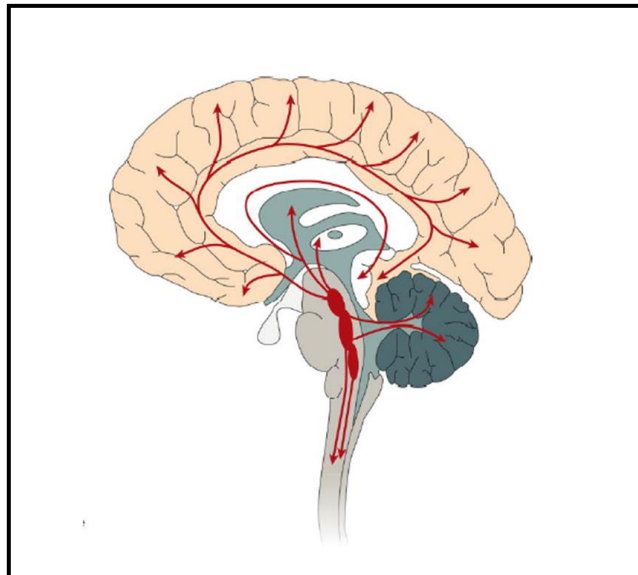
Dentre os diversos subtipos de receptores serotoninérgicos pode-se destacar o 5-HT1A, presente em grande quantidade nas áreas envolvidas na mediação ou modulação da dor como núcleo da rafe, amígdala, córtex cingulado, ínsula, córtex pré-frontal, fibras nociceptivas aferentes e CDME principalmente nas lâminas I e II (AZMITIA *et al.*, 1996; MARTIKAINEN *et al.*, 2007). Os receptores 5-HT1A

desempenham importante papel na via descendente da antinocicepção no tronco cerebral e medula espinal em ratos intactos, com lesão do nervo e com inflamação (LIU *et al.*, 2002).

A ativação dos receptores 5-HT_{1A} no terminal pós-sináptico, inibe a atividade da adenilato ciclase, resultando em redução da concentração intracelular de adenosina monofosfato cíclico (cAMP) (KWON *et al.*, 2014; HALEEM, 2018). Como resultado ocorre a abertura dos canais de K⁺ e o fechamento dos canais de Ca²⁺, com consequente inibição do neurônio aferente primário e redução da liberação de glutamato e SP no CDME (KWON *et al.*, 2014; CHOI; CHO; JANG, 2013; QUAGLIA *et al.*, 2017; HALEEM, 2018; HALEEM, 2019;).

O sistema de modulação descendente da dor precisa estar preservado, pois a perda do controle descendente da dor, associada a outros fatores como genético e ambiental, é um elemento importante no desenvolvimento e manutenção da dor persistente (BINGEL; SCHOELL; BÜCHE, 2007).

Figura 3 - Neurônios serotoninérgicos localizados no núcleo da rafe e as suas projeções ascendentes e descendentes



Fonte: BERGER; GRAY; ROTH (2009).

2.5 FOTOBIMODULAÇÃO

O ano de 1960 foi um marco importante no uso terapêutico da luz com a invenção da tecnologia a Laser de material sólido utilizando o rubi, criado por Theodore H. Maiman. Desde então, vários pesquisadores se empenharam para avaliar o efeito do Laser nos tecidos biológicos (ANDERS; LANZAFAME; ARANY, 2015).

Os primeiros Lasers vermelhos foram comercializados por volta dos anos setenta e eram compostos de Hélio–Neônio. Posteriormente, foi desenvolvido o Laser no espectro infravermelho composto de arseneto de gálio (Ga-As) e arseneto de gálio alumínio (GaAlAs) (ORTIZ *et al.*, 2001).

O termo Laser é um acrônimo do inglês *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*. Este termo foi utilizado durante algum tempo para representar terapias que utilizam dispositivos de luz como recurso, entretanto, esta utilização não é mais considerada apropriada, pois atualmente são usados outros tipos de dispositivos de luz além do laser. De forma semelhante, o termo terapia laser de baixa intensidade (LLLT) foi considerado ambíguo, podendo incluir outras terapias como a fotodinâmica e optogenética (KITCHEN, 1991; ANDERS; LANZAFAME; ARANY, 2015). Desta forma, em 2014, a associação Norte-Americana de Terapia com Luz e a Associação Mundial para Terapia a Laser chegaram em um consenso para escolha do novo termo. A palavra fotobiomodulação (FBM) foi o termo de escolha para descrever o uso da aplicação da luz não ionizante. A FBM engloba fonte de luz como o Laser, LEDs e luz de banda larga, no espectro visível e no infravermelho (ANDERS *et al.*, 2015; ARANY; BAXTER; LANZAFAME, 2019).

A FBM é utilizada na prática clínica para tratamento de diversas condições clínicas utilizando comprimento de onda no espectro vermelho e infravermelho na faixa de 630 nm a 1300nm (DE SOUSA *et al.*, 2016).

O feixe de luz emitido pelo Laser contém fótons que quando emitidos sobre o tecido são absorvidos pelos cromóforos endógenos em especial o Citocromo C Oxidase (CCO) mitocondrial levando ao aumento no transporte de elétrons, estimulando a síntese de trifosfato de adenosina (ATP), óxido nítrico (NO), espécie reativa de oxigênio (ERO) e Ca^{2+} e proporcionando aumento da energia celular que, por sua vez, estimula a proliferação celular, acelera o processo de cicatrização de

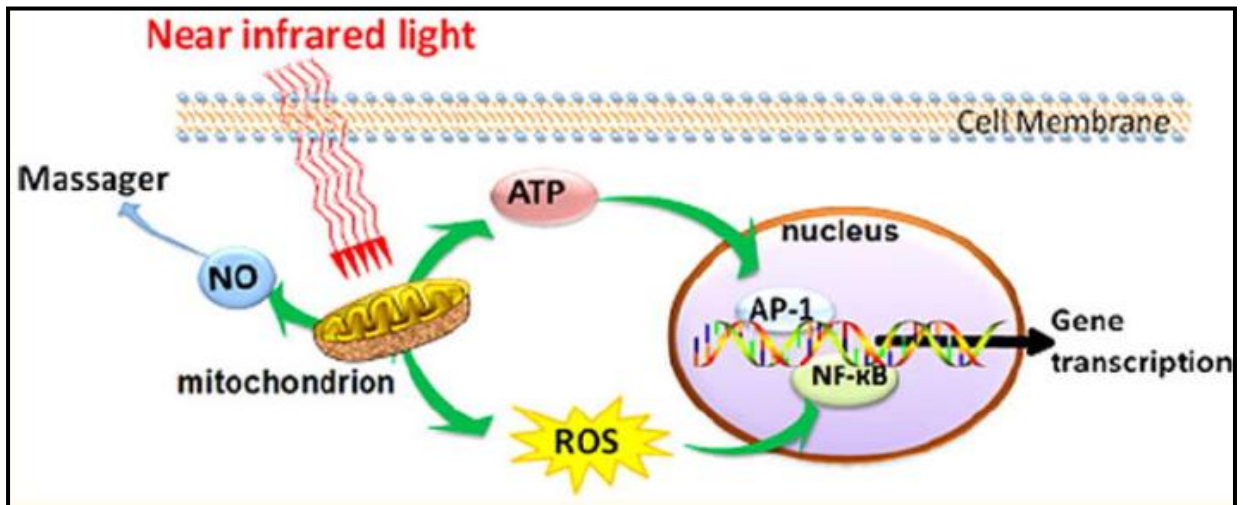
feridas, reduz a inflamação e inibe a dor (HUANG *et al.*, 2009; CHUNG *et al.*, 2012) (FIGURA 4).

A FBM atua como um recurso analgésico através de dois mecanismos distintos: (1) a luz pode interagir diretamente com neurônios levando a inibição temporária do transporte axonal em fibras nervosas de pequeno diâmetro (A δ e C) e (2) a luz pode ter ação antiinflamatória reduzindo as citocinas pró inflamatórias como a prostaglandinas e interleucinas, o que diminui a ativação de nociceptores e atenua a dor (CHOW; DAVID; ARMATI, 2007; ALVES *et al.*, 2013).

Estudos apontam efeitos benéficos da aplicação da FBM para tratamento de dores crônicas, em especial a DN (DE ANDRADE; BOSSINI; PARIZOTTO, 2016; ANJU; MAIYA; HANDE, 2019; DE PEDRO *et al.*, 2020). Existem evidências científicas relacionadas aos mecanismos de ação periféricos da FBM na DN, dentre elas o aumento dos níveis de neurotransmissores relacionados ao alívio da dor, como a β -endorfina e 5HT aumento da expressão do marcador de crescimento neuronal GAP 43, proporcionando regeneração do nervo ciático e melhora na funcionalidade e ativação dos receptores canabinóides do tipo CB1 (WALKER, 1983; CHOW; DAVID; ARMATI, 2007; WANG *et al.*, 2014; DE ANDRADE *et al.*, 2017; SANTOS *et al.*, 2020).

Entretanto, permanece obscuro na literatura se a aplicação da FBM periféricamente envolve a liberação de 5-HT nas vias descendentes envolvidas na modulação da dor.

Figura 4 - A absorção do feixe de luz vermelha ou infravermelha por cromóforos celulares específicos ou fotoreceptores localizados na mitocôndria



Fonte: CHUNG *et al.* (2012).

2.6 MODELOS ANIMAIS/ EVIDÊNCIAS EXPERIMENTAIS

Modelos animais foram criados para facilitar o estudo dos mecanismos intrínsecos, que dificilmente seriam possíveis em seres humanos (ZIMMERMANN, 2001; NIEDERBERGER; KÜHLEIN; GEISSLINGER, 2008; CHALLA, 2015). Dentre estes modelos podem ser citados a constrição Crônica do Nervo Ciático (CCI), proposto por Bennett e Xie (1988), o qual simula condição clínica da compressão nervosa crônica, como na síndrome do túnel do carpo ou irritação da raiz nervosa por hérnia de disco lombar ou cervical; transecção do nervo espinhal, modelo adequado para simular dor no membro fantasma; secção parcial do nervo ciático, que reproduz condição clínica de contusão nervosa acidental ou lesão nervosa induzida por tiro; ligação dos nervos espinhais, que simula lesão da raiz dorsal e plexos nervosos; avulsão do plexo braquial, que reproduz um tipo frequente de lesão por tração do nervo em humanos (SELTZER; DUBNER; SHIR, 1990; KIM; CHUNG, 1992; RODRIGUES FILHO *et al.*, 2003; CHALLA, 2015).

Estes modelos animais reproduzem sintomas de hiperalgesia, dor espontânea e alodinia semelhantes aos sintomas observados na prática clínica em humanos (NIEDERBERGER; KÜHLEIN; GEISSLINGER, 2008; CHALLA, 2015).

A lesão parcial do nervo ciático através de constrição crônica caracteriza um dos modelos frequentemente utilizados como material experimental na investigação sobre DN (BENNETT; XIE, 1988; HU *et al.*, 2016; ZHANG *et al.*, 2016; VINCENZETTI *et al.*, 2019). A utilização deste modelo em ratos e camundongos resulta em edema intraneural, comprimindo o nervo e axotomizando efetivamente muitas fibras nervosas, mas não todas, sendo considerado um modelo confiável e de fácil reprodução (BENNETT; XIE, 1988).

A preocupação em reduzir a DN e suas consequências tem estimulado a realização de pesquisas em modelos animais usando fármacos como anticonvulsivantes, ansiolíticos, antiinflamatórios não-esteroidais, antidepressivos e canabinóides (KONTINEN; DICKENSON, 2000; VAZQUEZ *et al.*, 2005; HU *et al.*, 2016; KAZANTZIS *et al.*, 2016; VINCENZETTI *et al.*, 2019; SANTOS *et al.*, 2020).

De forma particular, o efeito antinociceptivo da serotonina (5-HT) tem sido observado em modelos de DN. Estudos demonstram que fármacos inibidores da recaptação de 5HT como duloxetine e amoxetina, administradas oralmente, aliviaram a alodinia mecânica e a hiperalgesia térmica após CCI de ratos (ZHANG *et al.*, 2016). A ativação dos receptores 5HT_{1A} pelo 8-OH-DPAT reduziu a hipersensibilidade mecânica e o comportamento tipo depressivo em ratos com CCI (HU *et al.*, 2016). A estimulação da RVM proporcionou analgesia o qual foi acompanhada da liberação de 5HT na medula espinhal e atenuada pela administração de antagonistas serotoninérgicos (BUHLER; PROUDFIT; GEBHART, 2004). Entretanto, a serotonina tem um complexo papel na regulação da dor, favorecendo, em alguns casos, o estado de hiperalgesia que é atenuado pela administração periférica de antagonistas dos receptores serotoninérgicos (ARDID *et al.*, 2001).

Modelos experimentais também são utilizados em estudos sobre os efeitos da FBM no manejo da DN. A aplicação de FBM (660 nm, 9 J/cm²) em ratos com CCI promoveu redução da alodinia mecânica, melhora da recuperação funcional dos nervos ciático, tibial e fibular e modulação da inflamação, através da redução dos níveis de TNF- α , IL-1 β e HIF-1 α e aumento dos fatores de crescimento endotelial (VEGF) e crescimento nervoso (NGF) (HSIEH *et al.*, 2012). Camundongos com CCI tratados com FBM (808nm, 20J/cm² ou 40J/cm²) apresentaram melhora da hiperalgesia térmica e mecânica e aumento dos níveis de β -endorfina (DE ANDRADE *et al.*, 2017).

Evidências científicas têm demonstrado resultados favoráveis do uso FBM para tratamento da DN, no entanto, há escassez de dados que elucidem os mecanismos de ação da FBM a nível supraespinal, principalmente em relação à neurotransmissão serotoninérgica

2.7 JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA DO ESTUDO

Devido a sua gravidade e resistência à maioria dos analgésicos clássicos, a DN tem sido considerada um desafio na prática clínica. A preocupação em reduzir a DN e suas consequências tem estimulado a realização de estudos em modelos animais de neuropatia periférica.

Estudos apontam efeitos positivos da FBM para alívio da dor neuropática tanto em humanos como em modelos animais, entretanto, os mecanismos de ação supra espinais da FBM são pouco compreendidos, necessitando do uso de modelos animais para investigá-los.

A FBM é um recurso amplamente utilizado por fisioterapeutas e outros profissionais na prática clínica para tratamento de diversas desordens. Embora os estudos clínicos sejam de grande relevância na tomada de decisão de qual técnica ou recurso utilizar, é necessária a ampliação de estudos em pesquisas básicas para elucidar e compreender melhor os mecanismos de ação envolvidos, contribuindo assim com a prática baseada em evidências.

3 OBJETIVO

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar o envolvimento dos receptores 5HT1A do SNC na antinocicepção da DN após aplicação da FBM em camundongos submetidos à CCI.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Foram definidos como objetivos específicos:

- a) avaliar o efeito da FBM (50 J/cm²) na nocicepção mecânica e hiperalgesia térmica em camundongos submetidos à CCI;
- b) investigar a participação dos receptores 5-HT1A do SNC na antinocicepção promovida pela FBM em camundongos submetidos a CCI após aplicação periférica da FBM.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 ANIMAIS

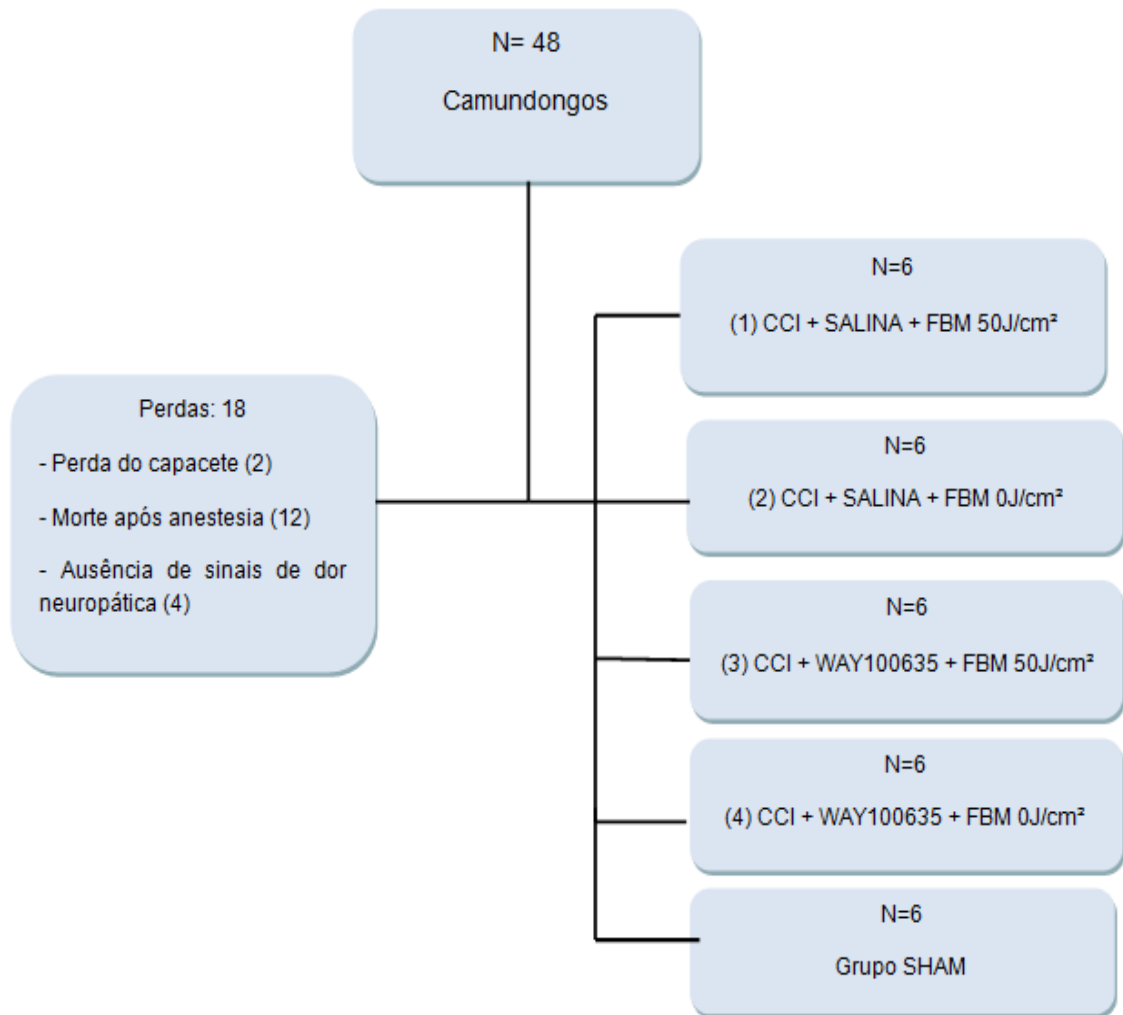
Foram utilizados 48 camundongos machos (Suíço- albino) provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

A pesquisa foi previamente aprovada pela Comissão de Ética para o Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG), sob o número do protocolo 20/2019 e todos os experimentos seguiram as normas de ética estabelecidas para experimentação com animais acordados, recomendadas pela IASP (*International Association for the Study of Pain*) e as normas que regulamentam aspectos éticos da utilização de animais de laboratório elaborados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da UNIFAL (ZIMMERMANN, 1983). O número de animais utilizados no experimento foi o mínimo necessário para demonstrar o efeito ao tratamento recebido, com base em estudos prévios da literatura (RASHID; UEDA, 2005; NAKAJIMA *et al.*, 2012; HOSHINO; OBATA; SAITO, 2015).

Os animais foram alocados aleatoriamente em grupos (FIGURA 5) em caixa de prolipropileno (410 x 340 x 160) com o fundo forrado com maravalha que ficaram armazenadas em estantes apropriadas para tal.

Uma vez recebidos do Biotério Central da UFMG, os animais foram mantidos no biotério da UNIFAL-MG Campus II. Os animais foram mantidos sob condições de temperatura controladas a $\pm 22^\circ$ e ciclo claro/escuro de 12h iniciando com o ciclo claro às 7h da manhã e noturno às 19h. Os animais tiveram livre acesso a ração e água até o dia dos experimentos, os quais foram realizados no período diurno entre as 7h e às 16h. Antes da avaliação do limiar nociceptivo térmico e mecânico os animais foram ambientados na sala de experimentação por um período de 1 hora.

Figura 5 - Fluxograma dos grupos de animais utilizados na experimentação



Fonte: Da autora.

4.2 PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS

4.2.1 Estereotaxia

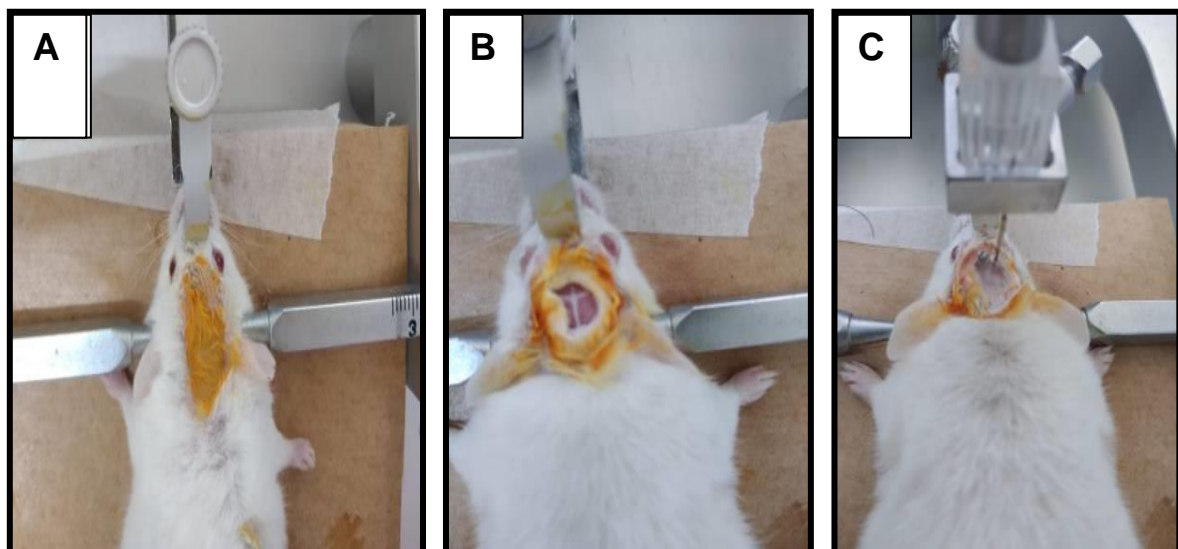
Inicialmente os animais foram anestesiados com Ketamina (DOPALEN®) (90-150 mg/kg) e xilasina (ANASEDAN®) (7,5-16 mg/Kg) intraperitoneal (i.p). Após detecção da sedação completa, através da ausência ou depressão dos reflexos protetores, foi realizada tricotomia da parte superior da cabeça e os animais foram

posicionados no estereotáxico. A estabilização da cabeça do animal no estereotáxico foi realizada por meio de duas barras auriculares e os dentes incisivos foram encaixados no equipamento para fixação do focinho de modo que a cabeça do animal ficasse bem alinhada e estabilizada (FORNARI *et al.*, 2012). Após o posicionamento correto, uma solução de iodo foi aplicada na parte superior da cabeça e uma incisão foi feita no local seguida da assepsia na região do crânio com hastes flexíveis com pontas de algodão (FIGURA 6).

As coordenadas estereotáficas para a região intracerebroventricular (ICV), foram estabelecidas de acordo com o Atlas de Franklin e Paxinos (1997) e estudo prévio da literatura de Podolan *et al.* (2019) sendo utilizadas as seguintes coordenadas partindo do bregma anteroposterior: (AP)= -0,2mm, lateral (L)= \pm 1,0 mm e ventral (V)= -2mm.

A região da calota craniana foi perfurada com uma broca utilizando o micromotor (BELTEC®) e uma cânula 10 mm com calibre 25x07mm, confeccionada manualmente a partir de uma agulha hipodérmica, foi colocada na região ICV e fixada com uma mistura de resina líquida (JET®) e em pó (VIPI FLASH®) formando um capacete. Após a fixação da cânula, um mandril foi inserido com o objetivo de evitar possível obstrução e contaminação (FORNARI *et al.*, 2012).

Figura 6 - Estereotaxia para colocação da cânula na região ICV



Fonte: Da autora

Legenda: a) Tricotomia da região superior da cabeça e assepsia com iodo

b) Exposição das suturas do crânio

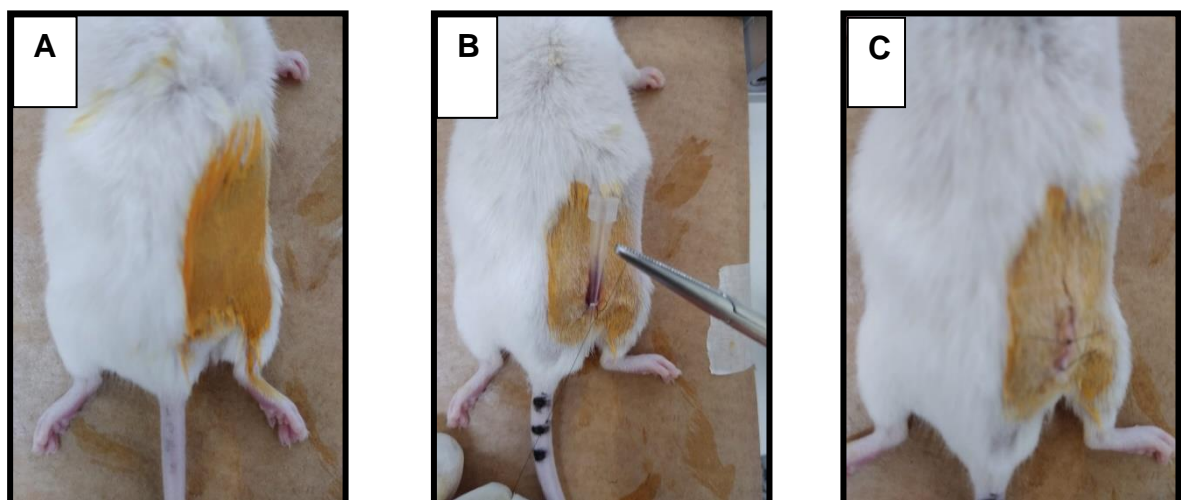
c) Colocação da cânula e fixação com resina.

4.2.2 Constrição Crônica do Nervo Ciático

Ainda sob o efeito da anestesia e com o animal posicionado sobre o estereotáxico, foi realizada a CCI usando o método descrito originalmente por Bennet e Xie (1998) com pequenas modificações propostas por (ZHAO *et al.*, 2012). Inicialmente, foi realizada incisão no membro posterior direito do animal, a fáscia entre o glúteo e o bíceps femoral foi seccionada e o nervo ciático direito foi exposto próximo a sua trifurcação. O tecido ao redor do nervo foi cuidadosamente cortado a uma distância de aproximadamente 8mm e posteriormente, foi realizado a compressão do nervo através de três ligaduras com fio estéril não inflamatório mononylon 6.0 (TECHNEWCOMO®) (FIGURA 7). O mesmo procedimento foi realizado no grupo Sham, porém não foram realizadas amarraduras ao redor do nervo. Após o procedimento cirúrgico, os animais foram colocados sobre a mesa *heat pad* (placa aquecida) com temperatura aproximada de 37°C até a recuperação completa da anestesia e posteriormente foram alocados as suas respectivas caixas.

No 7º dia após o procedimento cirúrgico, os animais foram avaliados quanto ao limiar nociceptivo mecânico e térmico para detecção dos sinais neuropáticos. Somente os animais que apresentaram hiperalgesia e alodinia permaneceram para a sequência dos experimentos.

Figura 7 - Procedimento de CCI



Fonte: Da autora

Legenda: a) Tricotomia da região glútea da pata traseira direita e assepsia com iodo
 b) Exposição do nervo ciático e constrição com 3 ligaduras
 c) Sutura externa.

4.3 DROGA

Para investigar a participação do receptor 5HT1A no SNC foi utilizado o WAY100635 (N - {2 - [4 -(2- metoxifenil) -1- piperazina] etil} - N - (2-piridinil) ciclohexacarboxiamida triidrocloreto) (Sigma Aldrech®), antagonista seletivo do receptor 5HT1A, dissolvido em salina. Foi realizada infusão ICV na dose 5,6 nmol e volume 2,5 µL. A dose foi baseada em estudo prévio da literatura (NUNES-DE-SOUZA; RODGERS; CANTO-DE-SOUZA, 2011). Os animais do grupo controle receberam infusão de salina.

4.4 PROCEDIMENTO PARA INFUSÃO DA DROGA

Sete dias após o procedimento cirúrgico, os animais receberam infusão ICV de droga antagonista dos receptores serotoninérgicos 5-HT1A (WAY100635 dose 5,6 nmol) ou salina (grupo controle). Para este procedimento uma agulha de injeção com calibre de 33-gauge cujo comprimento ultrapassava 1,0 mm a ponta da cânula-guia, foi inserida dentro da mesma. A agulha de injeção foi conectada, por meio de tubo de polietileno (PE-10) a microsseringa Hamilton de 10 µl.

A droga ou salina foram injetadas cuidadosamente de forma manual, onde foi injetado um volume de 2,5 µl de solução durante um período de 60 segundos. O procedimento de micro injeção consistiu na remoção do mandril e inserção da agulha de injeção dentro da cânula. O movimento de uma pequena bolha de ar no tubo de polietileno antes, durante e depois da injeção confirmou o fluxo da solução (NUNES-DE-SOUZA *et al.*, 2000). Após a infusão da droga ou salina, a agulha permaneceu dentro da cânula por mais 30 segundos com a finalidade de evitar o refluxo da droga.

4.5 APLICAÇÃO DA FOTOBIMODULAÇÃO

O equipamento de FBM utilizado foi o Laser Duo (MM OPTICS® São Carlos, SP, Brasil) (FIGURA 8). Os parâmetros utilizados foram: comprimento de onda de 830 nanômetros, modo de emissão contínuo, potência de 100mW, fluência de 50J/cm², baseado em estudo prévio da literatura (SANTOS *et al.*, 2020). Os demais parâmetros e informações sobre o dispositivo são mostrados no Quadro 1.

A FBM foi aplicada imediatamente após infusão das soluções ICV. Para tal procedimento os animais foram manualmente retidos com auxílio de uma flanela, de modo que não causasse estresse aos animais. A ponteira laser foi posicionada perpendicularmente à pele sobre a área de CCI e a irradiação foi realizada uma única vez, transcutaneamente, usando a técnica de aplicação pontual. Os animais do grupo controle receberam o mesmo procedimento porém com o aparelho desligado.

Figura 8 - Equipamento Laser Duo (MM OPTICS® São Carlos, SP, Brasil) utilizado na FBM sobre a CCI



Fonte: Da autora.

Quadro 1 - Informações sobre o dispositivo, irradiação e parâmetros de tratamento

Fabricante	MM Optics (São Carlos, SP, Brasil)
Identificação do Modelo	LASER DUO
Tipo emissor	GaAIAs e InGaAIP
Comprimento da onda	808nm \pm 10nm
Potência Óptica	100mW \pm 20%
Espectro Eletromagnético	Infravermelho
Área do feixe	3mm ²
Modo de operação	Contínuo
Dose	50J/cm ²
Intensidade	3.333 mW/cm ²
Energia Radiante (J)	1,5 J
Tempo total de irradiação	15 segundos
Técnica de Aplicação	Técnica pontual
Número de sessões	1 sessão

Fonte: Da autora.

4.6 TESTES NOCICEPTIVOS

Para avaliação da alodinia mecânica e hiperalgesia térmica, foram utilizados os testes de *von Frey* e Placa Quente, respectivamente. No teste de *von Frey* foram realizadas 3 medidas na pata traseira direita de cada animal, separadas por intervalos de 3 minutos. A média das 3 medidas foi descrita como o limiar nociceptivo.

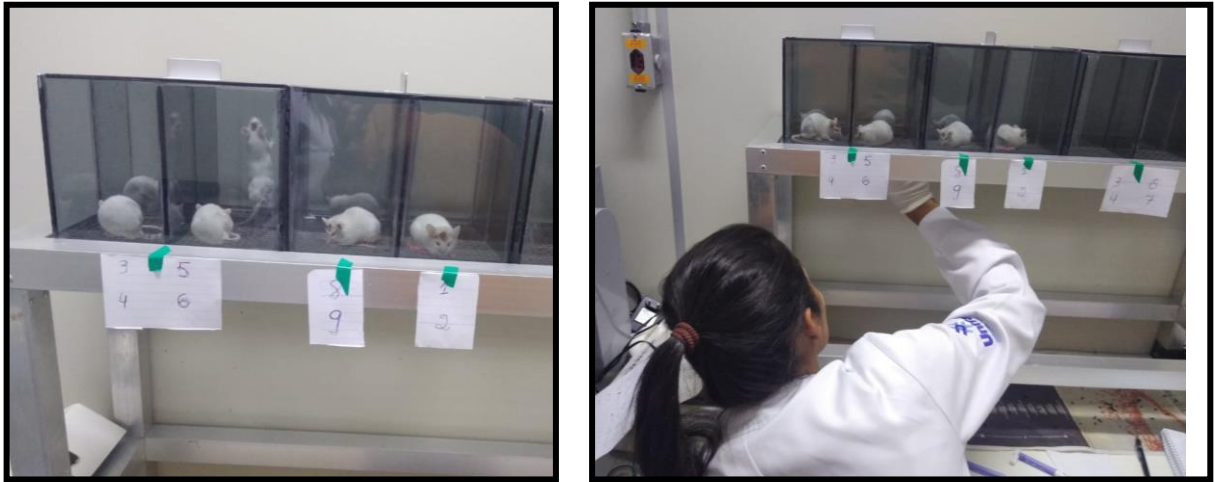
Os animais foram testados antes da cirurgia de CCI (linha de base) e no 7º dia após a cirurgia para detectar sinais de neuropatia. Após infusão da droga ou salina e aplicação da FBM, os animais foram novamente submetidos aos testes nos tempos 5', 30', 60', 120' e 180'. Os animais que não demonstraram redução significativa ($p < 0,05$) no limiar sensorial após a CCI, comparados com os valores obtidos na linha de base, foram excluídos do estudo.

4.6.1 Avaliação da alodinia mecânica

Para avaliação da nocicepção ao estímulo mecânico foi utilizado o aparato de *von Frey*. Os animais foram colocados dentro de caixas individuais de vidro fume (18x18x14,5), posicionadas sobre uma grade de metal que permitia a avaliação do limiar nociceptivo mecânico da pata direita de cada animal (FIGURA 9), conforme descrito por Chaplan *et al.* (1994). Os animais foram aclimatados no aparato por um período de 15 á 20 minutos e a temperatura da sala de experimentação foi mantida por volta de 22°. O limiar de retirada da pata foi avaliado por meio de um conjunto de monofilamentos tipo estesiômetro (AESTHESIA®, EUA) de várias espessuras 0,07g, 0,16g, 0,4g, 0,6g, 1,0g, 1,4g e 2,0g (FIGURA 10).

Os filamentos foram aplicados perpendicularmente sobre a superfície plantar da pata posterior direita, com uma pressão suficiente para curvá-los. O teste sempre foi iniciado usando o menor filamento em direção ao mais espesso. O filamento que era capaz de gerar resposta como *flinch* ou lambe a pata estimulada foi descrito como o estímulo capaz produzir resposta nociceptiva.

Figura 9 - Aparato utilizado para avaliações da alodinia mecânica



Fonte: Da autora

Legenda: a) animais em ambientação

b) animais sendo avaliados por monofilamentos de von Frey.

Figura 10 - Filamentos de von Frey de diferentes espessuras utilizados na avaliação do limiar nociceptivo mecânico



Fonte: Da autora.

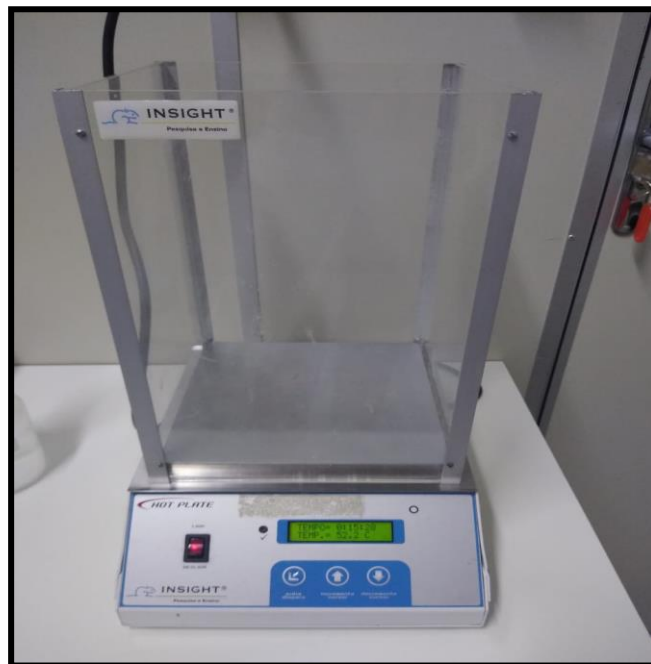
4.6.2 Avaliação da hiperalgesia térmica

A hiperalgesia ao estímulo térmico foi avaliada por meio do teste da Placa Quente (*Hot Plate Insight®*) (FIGURA 11). Este teste mensura a latência de retirada da pata diante de um estímulo térmico aplicado na superfície plantar em segundos.

Os animais foram colocados sobre o aparato, a uma temperatura de 52 °C onde foi observada a resposta de tolerância máxima do animal, indicada pelo comportamento de lambar, saltar ou *flinch* da pata traseira (WILSON *et al.*, 2002; KAYSER *et al.*, 2007).

O tempo de *cut off* (limite máximo) imposto sobre o animal na Placa Quente foi de 25 segundos, a fim de evitar possíveis lesões nos tecidos (KURASHI *et al.*, 1983). A sala de experimentação foi mantida a uma temperatura de 22°C.

Figura 11 - Hot Plate (Insight®, Equipamentos Científicos Ltda, Brasil) utilizado para avaliação da hiperalgesia térmica



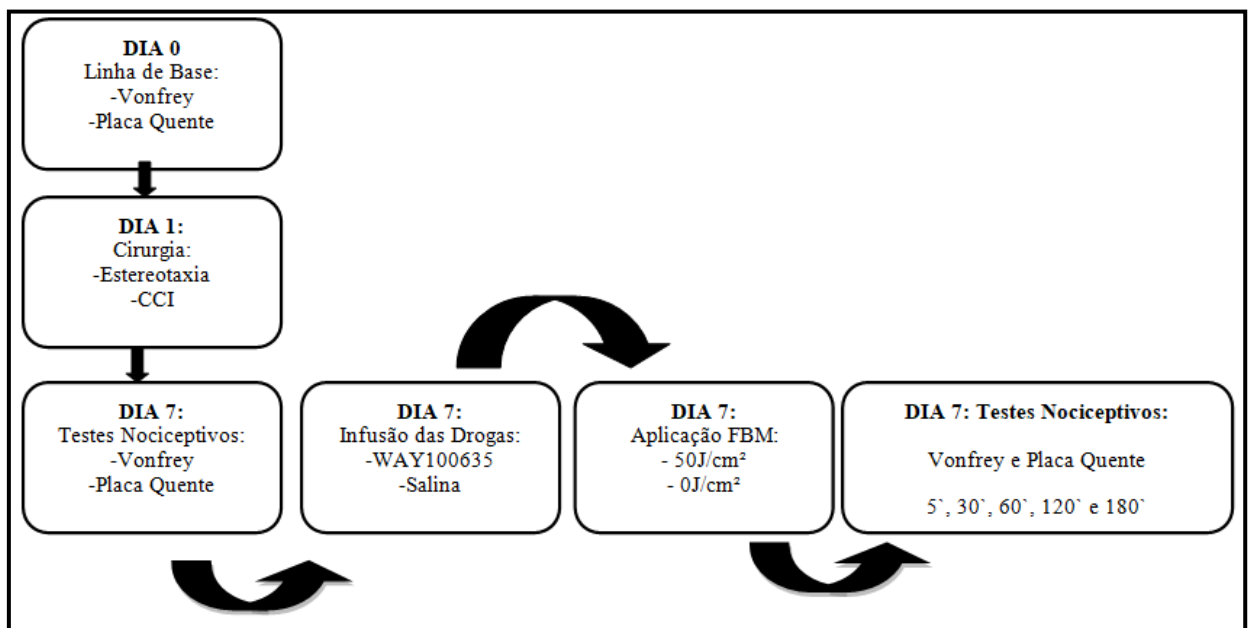
Fonte: Da autora.

4.7 ANALISE MACROSCOPICA DA REGIÃO INTRACEREBROVENTRICULAR

Após o término dos experimentos todos os animais receberam injeção central de 0.5 µl de uma solução de 1% de azul de metileno, de acordo com o procedimento

Frey e placa quente para verificar se houve redução do limiar nociceptivo em comparação com os valores obtidos na linha de base. Após a detecção dos sinais de neuropatia, foi realizada infusão ICV da droga antagonista do receptor 5HT1A ou salina seguido da aplicação da FBM 0J/cm² ou 50J/cm². A avaliação do limiar nociceptivo mecânico e térmico foi realizada novamente nos momentos 5', 30', 60', 120' e 180' após aplicação da FBM (FIGURA 13).

Figura 13 - Representação esquemática do protocolo experimental



Fonte: Da autora

Legenda: CCI= Constrição Crônica do Nervo Ciático; FBM=Fotobiomodulação; 5', 30', 60', 120' e 180' = tempo em minutos referente a avaliação do limiar nociceptivo; WAY100635 = antagonista dos receptores 5HT1A; J= joules.

4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados paramétricos foram apresentados como média \pm E.P.M. O limiar nociceptivo mecânico e térmico foram avaliados pela análise de variância de duas vias (*two-way ANOVA*), seguida pelo pós-teste Bonferroni. A comparação entre os grupos SHAM e CCI foram realizadas pelo teste *One-way ANOVA*, seguido pelo teste de Turkey. Foram considerados estatisticamente significativos os valores de $p < 0,05$. As

análises estatísticas e elaboração das figuras foram realizadas através do *software GraphPad Prism* versão 5.0 (*GraphPad Software, La Jolla, CA*).

5 RESULTADOS

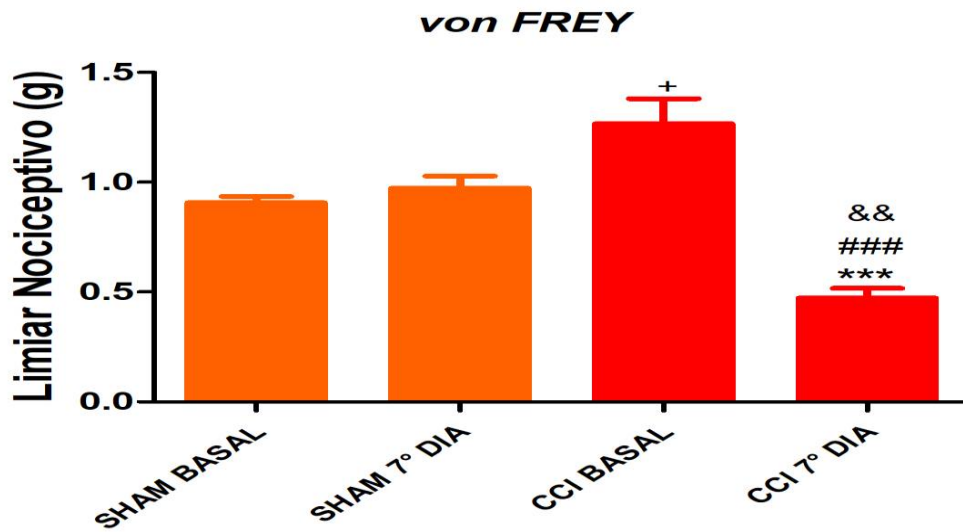
5.1 LIMIAR NOCICEPTIVO ANTES E APÓS A CIRURGIA AVALIADO PELO TESTE DE VON FREY E PLACA QUENTE

Os Gráficos 1 e 2 referem-se ao limiar nociceptivo mecânico avaliado pelo teste de von *Frey* e à latência nociceptiva térmica avaliada pelo teste da Placa Quente, respectivamente.

Observa-se no Gráfico 1 que o grupo SHAM BASAL e SHAM 7° DIA apresentaram limiar nociceptivo menor ($p < 0,05$) em relação ao grupo CCI BASAL. Porém, no sétimo dia após o procedimento cirúrgico, o grupo CCI 7° DIA apresentou redução do limiar nociceptivo mecânico quando comparado ao CCI BASAL ($p < 0,001$) e ao grupo SHAM 7° DIA ($p < 0,001$) e SHAM BASAL ($p < 0,01$).

O Gráfico 2 demonstra que o grupo CCI 7° DIA apresentou redução do limiar nociceptivo quando comparado aos grupos CCI BASAL ($p < 0,01$) e SHAM BASAL ($p < 0,01$).

Gráfico 1 - Avaliação do limiar nociceptivo mecânico antes e após o procedimento cirúrgico



Fonte: Da autora

Legenda: Os dados representam a média \pm E.P.M do limiar nociceptivo em gramas (g). Análise realizada por meio do teste *One-way* ANOVA, seguido pelo pós-teste de Turkey. Os símbolos *******; **###** ($p < 0,001$) e **&&** ($p < 0,01$), indicam significância estatística do grupo CCI 7° DIA em relação ao CCI BASAL, SHAM 7° dia e SHAM BASAL. O símbolo **+** indica significância estatística ($p < 0,05$) do grupo CCI BASAL em relação ao SHAM BASAL e SHAM 7° DIA.

Gráfico 2 - Avaliação da latência nociceptiva térmica antes e após o procedimento cirúrgico



Fonte: Da autora

Legenda: Os dados representam a média \pm E.P.M da latência nociceptiva em segundos (s). Os dados foram analisados por meio do teste *One-way* ANOVA, seguido pelo pós-teste de Turkey. O símbolo ****** indica significância estatística ($p < 0,01$) do grupo CCI 7° DIA em relação ao CCI BASAL. O símbolo **#**; indica significância estatística ($p < 0,01$) do grupo CCI 7° DIA em relação ao SHAM BASAL.

5.2 ENVOLVIMENTO DOS RECEPTORES 5HT1A NA ANTINOCICEPÇÃO PROMOVIDA PELA FBM EM ANIMAIS SUBMETIDOS À CCI AVALIADOS PELO TESTE DA PLACA QUENTE.

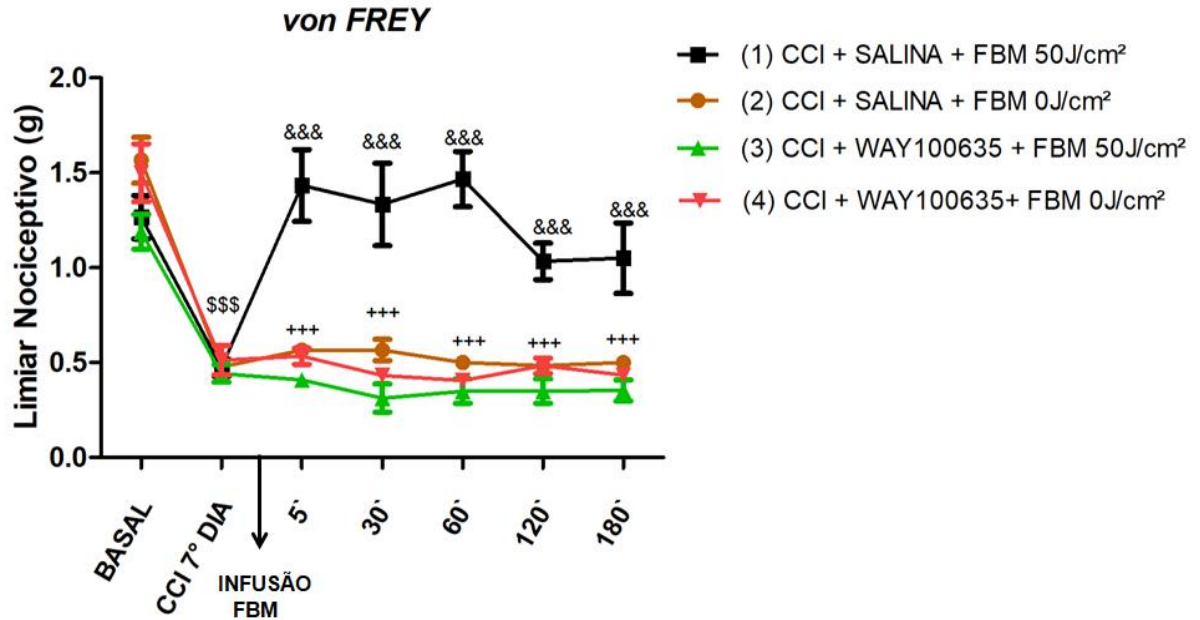
O Gráfico 3 mostra os resultados referentes ao limiar nociceptivo mecânico avaliado pelo teste de von *Frey*. No sétimo dia após a CCI foi observada redução do limiar nociceptivo mecânico ($0,47 \pm 0,12$) ($p < 0,001$) em comparação aos valores obtidos na linha de base ($1,38 \pm 0,32$).

Após irradiação com FBM, houve aumento significativo do limiar nociceptivo mecânico no grupo (1) CCI + SALINA + FBM 50J/cm² ($p < 0,001$) quando comparado aos grupos (2) CCI + SALINA + FBM 0J/cm², (3) CCI + WAY100635 + FBM 50J/cm² e (4) CCI + WAY100635 + FBM 0J/cm².

O aumento no limiar nociceptivo mecânico, observado no grupo (1) CCI + SALINA + FBM 50J/cm², teve início 5 minutos após a aplicação da FBM perdurando até o último momento da mensuração aos 180 minutos, com diferença significativa ($p < 0,001$) em comparação aos demais grupos, em todos os momentos de mensuração.

O WAY100635 reverteu o efeito antinociceptivo promovido pela FBM, conforme observado na comparação entre os grupos (1) CCI + Salina + FBM 50J/cm² e (3) CCI + WAY100635 + FBM 50J/cm² ($p < 0,001$). Nos grupos (2) CCI + SALINA + FBM 0J/cm² e (4) CCI + WAY100635 + FBM 0J/cm², que receberam FBM placebo, não foi observada alteração do limiar nociceptivo.

Gráfico 3 - Avaliação do limiar nociceptivo mecânico para investigação do envolvimento dos receptores 5HT1A na antinocicepção promovida pela fotobiomodulação (FBM) em animais com constrição crônica do nervo ciático (CCI)



Fonte: Da autora

Legenda: Os dados representam a média \pm E.P.M. do limiar nociceptivo em gramas (g). Os dados foram analisados por meio do teste *Two-way*, seguido do pós-teste de comparações múltiplas de Bonferroni. O símbolo &&& indica significância estatística ($p < 0,001$) do grupo (1) CCI +SALINA+ FBM50J/cm² em relação aos grupos (2) CCI + SALINA + FBM 0J/cm², (3) CCI + WAY100635 + FBM 50J/cm² e (4) CCI + WAY100635. O símbolo +++ indica significância estatística ($p < 0,001$) do grupo (3) CCI + WAY100635 + FBM 50J/cm² em relação ao grupo (1) CCI +SALINA+ FBM50J/cm². O símbolo \$\$\$ indica significância estatística ($p < 0,001$) do sétimo dia após CCI em relação aos valores basais, avaliado pelo teste *One-way* ANOVA, seguido pelo pós-teste de Turkey. Os grupos foram compostos por N=6 animais por grupo.

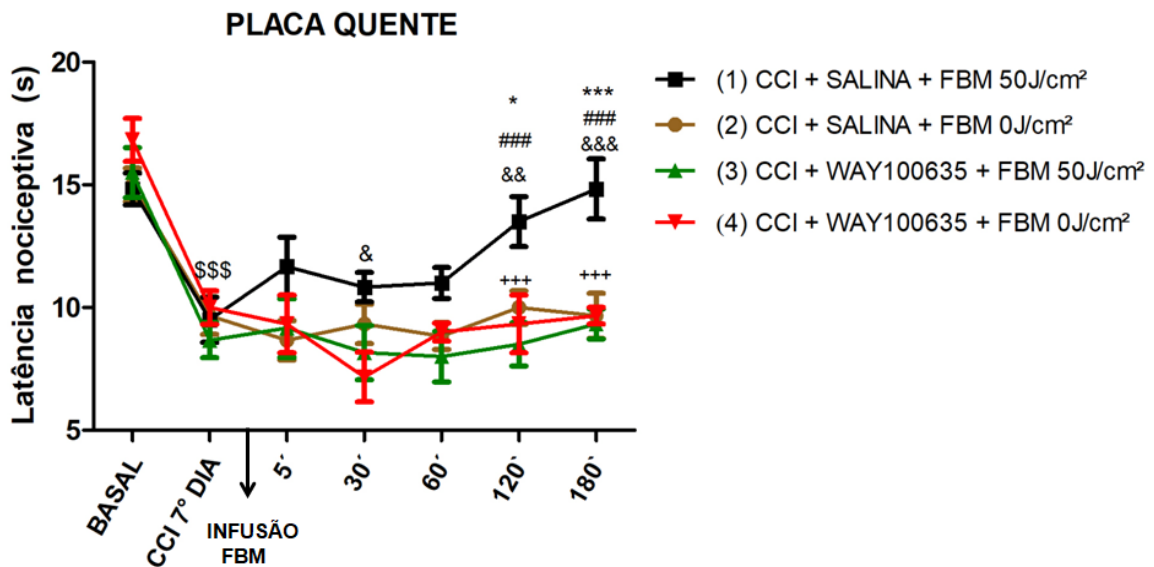
5.3 ENVOLVIMENTO DOS RECEPTORES 5HT1A NA ANTINOCICEPÇÃO PROMOVIDA PELA FBM EM ANIMAIS SUBMETIDOS À CCI AVALIADOS PELO TESTE DA PLACA QUENTE.

O Gráfico 4 mostra os resultados referentes ao limiar nociceptivo térmico avaliado pelo teste da Placa Quente. No sétimo dia após a CCI foi observada redução do limiar nociceptivo térmico ($9,45 \pm 1,84$) ($p < 0,001$) em comparação aos valores obtidos na linha de base ($15,54 \pm 2,04$).

Aos 120` houve aumento significativo na latência nociceptiva no grupo (1) CCI + SALINA + FBM 50J/cm² em comparação com os grupos (2) CCI + SALINA + FBM 0J/cm² (p<0,05) e (3) CCI+ WAY100635 + 50J/cm² (p<0,001). Este efeito também foi observado aos 180` em comparação aos grupos (2) CCI + SALINA + FBM 0J/cm², (3) CCI + WAY100635 + 50J/cm² e (4) CCI + WAY100635 + 0J/cm² (p<0,001).

Foi observado diferença na latência nociceptiva nos momentos de mensuração 30` (p<0,05), 120` (p<0,01) e 180` (p<0,001) entre o grupo (1) CCI + Salina + FBM 50J/cm² e o grupo (4) CCI+ WAY100635 + 0J/cm². Não foi encontrada significância estatística nos momentos 5 e 60 minutos (p>0,05).

Gráfico 4 - Avaliação da latência nociceptiva pelo teste da Placa Quente para investigação do envolvimento dos receptores 5HT1A na antinocicepção promovida pela fotobiomodulação (FBM) em animais com constrição crônica do nervo ciático (CCI)



Fonte: Da autora

Legenda: Os dados representam a média \pm E.P.M. da latência nociceptiva em segundos (s). Os dados foram analisados utilizando o teste *Two-way* ANOVA, seguido do pós-teste de comparações múltiplas Bonferroni. Os símbolos * (p<0,05) *** (p<0,001) indicam significância no grupo (1) CCI + SALINA + FBM50J/cm² em comparação ao (2) CCI + SALINA + FBM 0J/cm²; os símbolos & (p<0,05), && (p<0,01) e &&& (p<0,001) indicam significância estatística do grupo (1) CCI + SALINA + FBM50J/cm² em comparação com (4) CCI + WAY100635 + FBM0J/cm²; ### (p<0,001) indica significância no grupo (1) CCI + SALINA + FBM50J/cm² em comparação ao (3) CCI +WAY100635 + FBM 50J/cm². O símbolo +++ indica significância estatística(p<0,001) do grupo (3) CCI + WAY100635 + FBM 50J/cm² em relação ao grupo (1) CCI +SALINA+ FBM50J/cm². O símbolo \$\$\$ indica significância estatística (p<0,001) após CCI em relação aos valores basais, avaliado pelo teste *One-way* ANOVA, seguido pelo pós-teste de Turkey. Os grupos foram compostos por N=6 animais por grupo.

6 DISCUSSÃO

Modelos experimentais foram criados para elucidar os mecanismos envolvidos no surgimento da DN e desenvolver tratamentos eficazes para o controle da mesma (COLLEONI; SACERDOTE, 2010; AUSTIN; WU; MOALEM-TAYLOR, 2012; SOUSA *et al.*, 2016). No presente estudo, o modelo utilizado para indução da DN foi o de CCI, inicialmente descrito por Bennett e Xie (1988), porém com colocação de apenas três ligaduras ao redor do nervo ciático (SOMMER; SCHÄFERS, 1998; WALCZAK; BEAULIEU, 2006; COSTA *et al.*, 2008; ZHAO *et al.*, 2012).

O presente estudo demonstrou redução significativa do limiar nociceptivo mecânico e da latência nociceptiva térmica, avaliados pelos testes de *von Frey* e Placa Quente, respectivamente, no sétimo dia após o procedimento cirúrgico, no grupo CCI em relação à sua linha de base e ao grupo SHAM, demonstrando que o modelo de CCI foi eficaz em reproduzir os sinais de neuropatia como a hiperalgesia e alodinia. Vale salientar que o grupo SHAM foi submetido ao mesmo procedimento cirúrgico que o grupo CCI, porém sem ligação do nervo ciático. A ausência de alteração do limiar nociceptivo no grupo SHAM, no sétimo dia de avaliação em comparação aos valores basais, demonstrou a não participação do componente inflamatório relacionado ao corte cutâneo e muscular, corroborando com outros estudos da literatura (COSTA *et al.*, 2008; ZHANG; YANG; DOUGHERT, 2018; MEDEIROS *et al.*, 2019).

Embora tenha sido observada diferença nos valores basais nos animais do grupo SHAM em relação ao grupo CCI, ambos os grupos apresentaram valores, referentes ao limiar nociceptivo, compatíveis com o padrão descrito na literatura, na ausência de lesão (SOUZA *et al.*, 2015; DOS SANTOS *et al.*, 2019; ELISEI, 2019).

No presente estudo, foi abordada a DN em sua fase inicial, sete dias pós CCI. Embora a DN seja descrita como um tipo de dor crônica, apresentando possível componente inflamatório associado em seus estágios iniciais, o estudo desta condição clínica em seus diferentes estágios de progressão é importante para maior compreensão do seu desenvolvimento e do efeito dos diferentes tipos de tratamento em cada estágio (OKAMOTO *et al.*, 2001; XU *et al.*, 2016).

Os tratamentos farmacológicos disponíveis para o alívio da DN possuem eficácia limitada devido aos efeitos colaterais e alguns pacientes não apresentam melhora satisfatória dos sintomas (SINGH *et al.*, 2017). A terapia por FBM vem se

destacando cada dia mais devido aos seus resultados positivos e por se tratar de um método não invasivo, com baixo ou nenhum efeito colateral e poucas contra indicações como aplicação na região dos olhos, sobre células cancerígenas, sobre o útero gravídico e em condições de fotossensibilidade (DE SOUSA *et al.*, 2016; PAOLILLO *et al.*, 2020).

No presente estudo, a aplicação da FBM promoveu analgesia em camundongos após CCI, demonstrada pelo aumento do limiar nociceptivo mecânico e térmico no grupo CCI + SALINA + FBM 50 J/cm² em comparação com os demais grupos do estudo. Estes resultados corroboram com o estudo realizado por De Andrade *et al.* (2017), no qual o tratamento com a FBM foi capaz de proporcionar efeito antinociceptivo mecânico e térmico em camundongos com CCI, avaliados pelos testes de *Randall Selitto* e Placa Quente, respectivamente. Entretanto, os animais apresentaram antinocicepção somente a partir do 30^o dia de tratamento com a FBM, enquanto, no presente estudo, os animais apresentaram aumento do limiar nociceptivo com uma única aplicação. Esta diferença pode ser devido ao momento de mensuração do limiar nociceptivo após a aplicação da FBM, não descrito no estudo em questão, ou ao modelo animal utilizado, uma vez que, no estudo de De Andrade *et al.* (2017) foram realizadas quatro ligaduras ao redor do nervo ciático conforme descrito inicialmente por Bennett e Xie (1988).

Em outro estudo de Micheli *et al.* (2017), a aplicação da FBM promoveu efeito antinociceptivo em ratos após CCI. O tratamento foi iniciado uma semana após a cirurgia, totalizando 10 aplicações em dias diferentes. Foram utilizados dois feixes de luz laser com comprimentos de onda 808nm e 905nm simultaneamente, por meio da técnica de contato pontual sobre dois pontos (CCI e lateral do calcâneo), seguida da técnica de varredura no membro posterior do animal. Utilizaram-se dois protocolos, sendo (1) laser: potência média de 680 mW, potência de pico de 140W, fluência 1,08 J/cm² e energia 3.4 J/ponto; e varredura realizada por 124 s potência média 1700 mW, potência de pico 140 W, fluência 5,28 J/cm² e energia 211.13 J; e (2) laser: 980 mW de potência média, potência de pico 1 kW \pm 20%, fluência 0,94 J/cm² energia 2,96 J/ponto; e varredura durante 108 s, 1.940 mW de potência média, potência de pico 1 kW \pm 20%, fluência 5,24 J/cm² e energia 209,8 J. Em ambos os protocolos utilizados, foram observados efeitos positivos sobre o limiar nociceptivo, no entanto, o protocolo 2, no qual foi utilizada maior potência, observou-se efeito antinociceptivo mais pronunciado, avaliado pelo analgesímetro de pressão. Embora neste estudo tenha

sido utilizado o laser próximo do infravermelho e com alta intensidade, diferente do presente estudo que utilizou a FBM de baixa intensidade, os autores demonstraram que na primeira aplicação, realizada uma semana após a CCI, houve efeito antinociceptivo, iniciado cinco minutos após a aplicação e perdurando por trinta minutos. Na quinta aplicação o efeito antinociceptivo perdurou por 180 minutos.

No presente estudo, uma única aplicação da FBM 50 J/cm² proporcionou aumento do limiar nociceptivo mecânico e térmico, entretanto, o efeito antinociceptivo mecânico iniciou 5 minutos após a aplicação da FBM, enquanto o efeito anti-hiperalgésico avaliado pela placa quente teve início mais tardio, iniciando aos 120 minutos após a aplicação da FBM. Esta diferença em relação ao tempo de início do efeito antinociceptivo promovido pela FBM pode ser justificado pelo tipo de fibra estimulada, uma vez que o teste da placa quente ativa as fibras A δ e avalia resposta analgésica a nível supraespinal, enquanto o teste de von Frey avalia a alodina tátil, no qual é observada resposta involuntária ao estimular a pata do animal com o monofilamento (CHAPLAN *et al.*, 1994; JULIUS; BASBAUM, 2001, ZHUANG; LUNDERBERG; YU, 2002).

Embora exista uma grande variabilidade nos estudos de FBM em relação aos parâmetros como dosimetria, potência, comprimento de onda e protocolo de tratamento, os resultados são sempre promissores. Várias evidências científicas vão ao encontro dos resultados encontrados no presente estudo, demonstrando que FBM possui efeito antinociceptivo com redução da hipersensibilidade mecânica e térmica e da alodina em ratos e camundongos submetidos à CCI (HSIEH *et al.*, 2012; MASOUMIPOOR *et al.*, 2014; JANZADEH *et al.*, 2016; OLIVEIRA *et al.*, 2017).

É importante ressaltar que para atingir um efeito terapêutico eficaz com a FBM é necessária a escolha de parâmetros ideais com base na "Lei de Arndt-Schulz" onde estímulos fracos aceleram levemente a atividade vital, enquanto estímulos fortes a suprimem até que uma resposta negativa seja alcançada (DE FREITAS; HAMBLIN, 2016).

A aplicação da FBM em animais após CCI também possui efeito biomodulador de substâncias envolvidas no desenvolvimento da DN. A FBM reduz significativamente os níveis de HIF - 1 α , TNF - α e IL - 1 β e a expressão das proteínas P2X3 (envolvida na indução da dor) e ácida fibrilar glial (GFAP), aumenta os níveis de fator de crescimento endotelial (VEGF), fator de crescimento nervoso (NGF), BCL2

(protege a mitocôndria aumentando a sobrevivência da célula), S100 e glutathione (antioxidante) (HSIEH *et al.*, 2012; JANZADEH *et al.*, 2016; OLIVEIRA *et al.*, 2017).

Embora os efeitos antinociceptivo e modulador de substâncias envolvidas na gênese da DN promovidos pela FBM sejam bem descritos na literatura, o envolvimento de estruturas supraspinhais na mediação destes efeitos permanece pouco explorado. O presente estudo investigou o envolvimento dos receptores 5HT1A no SNC sobre a nocicepção mecânica e térmica de camundongos submetidos a CCI e tratados com a FBM. Foi observado que a infusão intracerebroventricular de WAY100635, antagonista seletivo dos receptores 5HT1A de serotonina, foi capaz de reverter o efeito antinociceptivo promovido pela FBM 50 J/cm². Semelhante aos nossos resultados, Erthal *et al.* (2013) demonstraram o envolvimento dos receptores 5HT1A e 5HT1B no efeito antinociceptivo promovido pelo laser infravermelho (830 nm, 3J/cm²) aplicado sobre o ponto de acupuntura ST36 (Zusanli) de ratos submetidos ao teste do ácido acético e formalina. No entanto, este efeito antinociceptivo foi revertido após administração subcutânea de pindolol, um antagonista não seletivo do receptor 5HT1A e 5HT1B, na dose 1 mg/kg. Vale salientar que o estudo avaliou o efeito periférico do 5-HT1A e 5HT1B, mas não sua ação central.

Os receptores 5-HT1A estão envolvidos no efeito antinociceptivo promovido pela a estimulação do córtex motor primário e córtex somatossensorial secundário de ratos após ligação unilateral dos nervos espinhais (L5-L6) (VIISANEN; PERTOVAARA, 2010; SAGALAJEV *et al.*, 2017). Os autores demonstraram que o efeito antinociceptivo foi mediado pelos receptores 5-HT1A na medula espinhal, uma vez que o bloqueio destes receptores por WAY100635 administrado intratecal reverteu o efeito antinociceptivo da estimulação do córtex motor primário e somatossensorial avaliado pelo teste de calor nocivo.

A 5-HT apresenta papel dual na modulação da dor, podendo exercer efeito anti ou pró nociceptivo, dependendo do tipo e subtipo de receptores ativados, localização anatômica dos mesmos e dose de antagonista e agonista (CORTES-ALTAMIRANO *et al.*, 2018). Serra e Ashmawi (2010) demonstraram em seu estudo que receptores serotoninérgicos periféricos não estão envolvidos no efeito antinociceptivo promovido pela FBM em ratos com dor inflamatória induzida por carragenina e avaliados pelo teste de *von Frey*, pois a administração de metisergida 1 µg/pata, um antagonista não seletivo dos receptores serotoninérgicos, não reverteu o efeito antinociceptivo promovido pela FBM (660nm, 2,5 J/cm²). Em oposição a estes resultados, o presente

estudo demonstrou o envolvimento dos receptores 5-HT_{1A} no SNC na modulação da nocicepção promovida pela FBM.

Corroborando com os resultados do presente estudo, Tomaz de Magalhães *et al.* (2016) demonstraram em um estudo clínico, realizado em pacientes com cefaleia tensional, que o tratamento com FBM (830nm, 3,4J, 100mW) reduziu o quadro de dor. De acordo com os autores do estudo, este efeito pode estar relacionado ao aumento dos níveis de 5HT no sangue e regulação do fluxo sanguíneo na artéria temporal superficial detectado pelo Doppler.

Liu *et al.* (2002) realizaram um estudo para confirmar qual tipo de receptor de 5-HT estava envolvido na antinocicepção de ratos com lesão nervosa, inflamação e na ausência de lesão. Os resultados indicaram que os receptores 5-HT_{1A}, mas não os receptores 5-HT₂ e 5-HT₃, desempenham papel importante na antinocicepção mediada pela via descendente do tronco cerebral para a medula espinhal. A modulação da dor após aplicação da FBM no presente estudo pode ser explicada pela ativação da via inibitória descendente por meio dos receptores serotoninérgico 5HT_{1A} (AZMITIA *et al.*, 1996; MARTIKAINEN *et al.*, 2007; PERRIN *et al.*, 2011).

Novos estudos vêm sendo realizados com aplicação de FBM diretamente sobre o crânio com o objetivo de atingir diretamente áreas encefálicas que se deseja estimular ou inibir. Esta técnica recebeu o nome de fotobiomodulação transcraniana e vem sendo utilizada para o tratamento da ansiedade, depressão, reabilitação cognitiva, dor, entre outras (ASKALSKY; IOSIFESCU, 2019; HOLMES *et al.*, 2019; CARNEIRO *et al.*, 2019; CASSANO *et al.*, 2019; KERPPERS *et al.*, 2020).

Os pesquisadores De Sousa *et al.* (2016) foram pioneiros na pesquisa sobre o efeito da FBM transcraniana sobre a nocicepção de camundongos. Foi observado que a FBM transcraniana (810 nm, 300 mW/cm², 7,2 e 36 J/cm²) promoveu aumento do limiar nociceptivo avaliado pelos testes de *von Frey*, formalina, placa quente e movimento da cauda, provavelmente mediado pela redução da ativação dos receptores de glutamato, aumento da fosfatase ácida prostática (um analgésico endógeno) e ATP. O aumento do limiar nociceptivo foi mais pronunciado 2 horas após a aplicação da FBM transcraniana permanecendo até a sexta hora e desaparecendo após 24 horas. No presente estudo, o efeito antinociceptivo avaliado pelos testes de *von Frey* e placa quente teve início 5' e 30', respectivamente, após a aplicação da FBM periférica e perdurou até 180'.

Em uma revisão sistemática sobre os mecanismos de ação da eletroacupuntura na dor crônica foi encontrado que a técnica é capaz de modular a dor por meio de mecanismos periféricos, espinhais e supraespinhais, dentre eles a ativação dos receptores 5-HT_{1A} da medula espinhal, em modelos animais de dor neuropática e inflamatória (ZHANG *et al.*, 2014). Estes dados vão ao encontro dos resultados do presente estudo, demonstrando que recursos eletrotermofototerapêuticos aplicados periféricamente são capazes de ativar estruturas supraespinhais e medulares, reduzindo a dor.

Novos estudos são necessários para maior elucidação da participação da 5-HT e seus diferentes tipos de receptores na modulação da dor neuropática e suas comorbidades, como ansiedade e depressão, após aplicação de FBM de forma periférica.

7 CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo demonstram que a aplicação da FBM periféricamente com comprimento de onda 808nm, potência de 100 mW e dose de 50J/cm² possui efeito antinociceptivo em camundongos com DN. Os receptores 5-HT1A localizados no SNC estão envolvidos neste efeito antinociceptivo promovido pela FBM.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, T. F.; ROIZENBLATT, S.; TUFIK, S. Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. **Brain Research**, v. 1000, p. 40-56, 2004.
- ALVES, A. C. A. *et al.* Effect of low-level laser therapy on the expression of inflammatory mediators and on neutrophils and macrophages in acute joint inflammation. **Arthritis Research & Therapy**, v. 15, n. 5, p. R116, 2013.
- ANDERS, J. J. *et al.* Light-emitting diode therapy and low-level light therapy are photobiomodulation therapy. **Photobiomodulation, Photomedicine, and Laser Surgery**, v. 37, n. 2, p. 63-65, 2019.
- ANDERS, J. J.; LANZAFAME, R. J.; ARANY, P. R. Low-level light/laser therapy versus photobiomodulation therapy. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 33, n. 4, p. 183-184, 2015.
- ANJU, M.; MAIYA, A. G.; HANDE, M. Low level laser therapy for the patients with painful diabetic peripheral neuropathy-A systematic review. **Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews**, v. 13, n. 4, p. 2667-2670, 2019.
- ARAUJO, L. C. D.; ROMERO, B. Dor: avaliação do 5º sinal vital. Uma reflexão teórica. **Revista Dor**, v. 16, n. 4, p. 291-296, 2015.
- ARDID, D. *et al.* Potentiation of the antinociceptive effect of clomipramine by a 5-HT_{1A} antagonist in neuropathic pain in rats. **British Journal of Pharmacology**, v. 132, n. 5, p. 1118-1126, 2001.
- ASKALSKY, P.; IOSIFESCU, D. V. Transcranial photobiomodulation for the management of depression: current perspectives. **Neuropsychiatric Disease and Treatment**, v. 15, p. 3255-3272, 2019.
- ATTAL, N. *et al.* Repetitive transcranial magnetic stimulation and transcranial direct-current stimulation in neuropathic pain due to radiculopathy: a randomized sham-controlled comparative study. **Pain**, v. 157, n. 6, p. 1224-1231, 2016.
- AUSTIN, P. J.; WU, A.; MOALEM-TAYLOR, G. Chronic constriction of the sciatic nerve and pain hypersensitivity testing in rats. **JoVE (Journal of Visualized Experiments)**, n. 61, p. e3393, 2012.
- AZMITIA, E. C. *et al.* Cellular localization of the 5-HT_{1A} receptor in primate brain neurons and glial cells. **Neuropsychopharmacology**, v. 14, n. 1, p. 35-46, 1996.
- BANNISTER, K.; DICKENSON, A. H. What do monoamines do in pain modulation? **Current Opinion in Supportive and Palliative Care**, v. 10, n. 2, p. 143-148, 2016.

- BASSON, A. *et al.* The effectiveness of neural mobilization for neuromusculoskeletal conditions: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Orthopaedic & Sports Physical Therapy**, v. 47, n. 9, p. 593-615, 2017.
- BENBOUZID, M. *et al.* Sciatic nerve cuffing in mice: a model of sustained neuropathic pain. **European Journal of Pain**, v. 12, n. 5, p. 591-599, 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, n. 1, p. 87-107, 1988.
- BENNETT, M. I. *et al.* Can pain can be more or less neuropathic? Comparison of symptom assessment tools with ratings of certainty by clinicians. **Pain**, v. 122, n. 3, p. 289-294, 2006.
- BERGER, M. *et al.* The expanded biology of serotonin. **Annual Review of Medicine**, v. 60, p. 355-366, 2009.
- BESSON, J. M. The neurobiology of pain. **The Lancet**, v. 353, n. 9164, p. 1610-1615, 1999.
- BINGEL, U.; SCHOELL, E.; BÜCHEL, C. Imaging pain modulation in health and disease. **Current Opinion in Neurology**, v. 20, n. 4, p. 424-431, 2007.
- BONICA, J. J. **Management of pain**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1990. cap. 3, p. 18-27.
- BUHLER, A. V.; PROUDFIT, H. K.; GEBHART, G. F. Separate populations of neurons in the rostral ventromedial medulla project to the spinal cord and to the dorsolateral pons in the rat. **Brain Research**, v. 1016, n. 1, p. 12-19, 2004.
- CANTO-DE-SOUZA, A.; NUNES-DE-SOUZA, R. L.; RODGERS, R. J. Anxiolytic-like effect of WAY-100635 microinfusions into the median (but not dorsal) raphe nucleus in mice exposed to the plus-maze: influence of prior test experience. **Brain Research**, v. 928, n. 1-2, p. 50-59, 2002.
- CARNEIRO, A. M. C. *et al.* Transcranial photobiomodulation therapy in the cognitive rehabilitation of patients with cranioencephalic trauma. **Photobiomodulation, Photomedicine and Laser Surgery**, v. 37, n. 10, p. 657-666, 2019.
- CASSANO, P. *et al.* Effects of transcranial photobiomodulation with near-infrared light on sexual dysfunction. **Lasers in surgery and medicine**, v. 51, n. 2, p. 127-135, 2019.
- CHALLA, S. R. Surgical animal models of neuropathic pain: Pros and Cons. **International Journal of Neuroscience**, v. 125, n. 3, p. 170-174, 2015.
- CHAPLAN, S. R. *et al.* Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 53, n. 1, p. 55-63, 1994.

- CHOI, I-S.; CHO, J-H.; JANG, I-S. 5-Hydroxytryptamine 1A receptors inhibit glutamate release in rat medullary dorsal horn neurons. **Neuroreport**, v. 24, n. 8, p. 399-403, 2013.
- CHOW, R.; DAVID, M.; ARMATI, P. 830 nm laser irradiation induces varicosity formation, reduces mitochondrial membrane potential and blocks fast axonal flow in small and medium diameter rat dorsal root ganglion neurons: implications for the analgesic effects of 830 nm laser. **Journal of the Peripheral Nervous System**, v. 12, n. 1, p. 28-39, 2007.
- CHUNG, H. *et al.* The nuts and bolts of low-level laser (light) therapy. **Annals of Biomedical Engineering**, v. 40, n. 2, p. 516-533, 2012.
- CLINE, M. A.; OCHOA, J.; TOREBJORK, H. E. Chronic hyperalgesia and skin warming caused by sensitized C nociceptors. **Brain**, v. 112, n. 3, p. 621-647, 1989.
- COFFEEN, U. *et al.* Dopamine receptors in the anterior insular cortex modulate long-term nociception in the rat. **European Journal of Pain**, v. 12, n. 5, p. 535-543, 2008.
- COHEN, S. P.; MAO, J. Neuropathic pain: mechanisms and their clinical implications. **British Medical Journal**, v. 348, p. f7656, 2014.
- COLLEONI, M.; SACERDOTE, P. Murine models of human neuropathic pain. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, v. 1802, n. 10, p. 924-933, 2010.
- COLLOCA, L. *et al.* Neuropathic pain. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, n. 1, p. 1-19, 2017.
- CORTES-ALTAMIRANO, J. L. *et al.* 5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃ and 5-HT₇ receptors and their Role in the Modulation of Pain Response in the Central Nervous System. **Current Neuropharmacology**, v. 16, n. 2, p. 210-221, 2018.
- COSTA, B. *et al.* The endogenous fatty acid amide, palmitoylethanolamide, has anti-allodynic and anti-hyperalgesic effects in a murine model of neuropathic pain: involvement of CB₁, TRPV1 and PPAR γ receptors and neurotrophic factors. **Pain**, v. 139, n. 3, p. 541-550, 2008.
- CRUCCU, G. *et al.* EFNS guidelines on neuropathic pain assessment: revised 2009. **European Journal of Neurology**, v. 17, n. 8, p. 1010-1018, 2010.
- DE ANDRADE, A. L. M.; BOSSINI, P. S.; PARIZOTTO, N. A. Use of low level laser therapy to control neuropathic pain: a systematic review. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 164, p. 36-42, 2016.
- DE ANDRADE, A. L. M. *et al.* Effect of photobiomodulation therapy (808 nm) in the control of neuropathic pain in mice. **Lasers in Medical Science**, v. 32, n. 4, p. 865-872, 2017.

DE FREITAS, L. F.; HAMBLIN, M. R. Proposed mechanisms of photobiomodulation or low-level light therapy. **IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics**, v. 22, n. 3, p. 348-364, 2016.

DE PEDRO, M. *et al.* Efficacy of low-level laser therapy for the Therapeutic Management of Neuropathic Orofacial Pain: A Systematic Review. **Journal of Oral & Facial Pain & Headache**, v. 34, n. 1, p. 13-30, 2020.

DE SOUSA, M. V. P. *et al.* Transcranial low-level laser therapy (810 nm) temporarily inhibits peripheral nociception: photoneuromodulation of glutamate receptors, prostatic acid phosphatase, and adenosine triphosphate. **Neurophotonics**, v. 3, n. 1, p. 015003, 2016.

DIMITROVA, A.; MURCHISON, C.; OKEN, B. Acupuncture for the treatment of peripheral neuropathy: a systematic review and meta-analysis. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 23, n. 3, p. 164-179, 2017.

DINAKAR, P.; STILLMAN, A. M. Pathogenesis of pain. **Seminars in Pediatric Neurology**, v. 23, n. 3, p. 201-208, 2016.

DOS SANTOS, R. S. *et al.* Involvement of spinal cannabinoid cb2 receptors in exercise-induced antinociception. **Neuroscience**, v. 418, p. 177-188, 2019.

DOUGHERTY, P. M.; WILLIS, W. D. Enhanced responses of spinothalamic tract neurons to excitatory amino acids accompany capsaicin-induced sensitization in the monkey. **Journal of Neuroscience**, v. 12, n. 3, p. 883-894, 1992.

DUBIN, A. E.; PATAPOUTIAN, A. Nociceptors: the sensors of the pain pathway. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 120, n. 11, p. 3760-3772, 2010.

DWORKIN, R. H. *et al.* Advances in neuropathic pain: diagnosis, mechanisms, and treatment recommendations. **Archives of Neurology**, v. 60, n. 11, p. 1524-1534, 2003.

ELISEI, L. M. S. **Investigação do efeito de nanocápsulas de Polyε-caprolactona contendo artemisinina e da participação do receptor Toll like 4 e de células da glia espinais em um modelo de dor crônica pós-operatória em camundongos.** 2019. 81f. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2013.

ELLISON, D. L. Physiology of pain. **Critical Care Nursing Clinics**, v. 29, n. 4, p. 397-406, 2017.

ERTHAL, V. *et al.* ST36 laser acupuncture reduces pain-related behavior in rats: involvement of the opioidergic and serotonergic systems. **Lasers in Medical Science**, v. 28, n. 5, p. 1345-1351, 2013.

FINNERUP, N. B. *et al.* Pharmacotherapy for neuropathic pain in adults: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet Neurology**, v. 14, n. 2, p. 162-173, 2015.

FORNARI, R. V. *et al.* Rodent stereotaxic surgery and animal welfare outcome improvements for behavioral neuroscience. **JoVE (Journal of Visualized Experiments)**, n. 59, p. e3528, 2012.

FRANKLIN, K. B.; PAXINOS, G. **The mouse brain in stereotaxic coordinates**. Califórnia: Academic Press, 1997.

GOLD, M. S.; GEBHART, G. F. Nociceptor sensitization in pain pathogenesis. **Nature Medicine**, v. 16, n. 11, p. 1248-1257, 2010.

GUO, W. *et al.* Tyrosine phosphorylation of the NR2B subunit of the NMDA receptor in the spinal cord during the development and maintenance of inflammatory hyperalgesia. **Journal of Neuroscience**, v. 22, n. 14, p. 6208-6217, 2002.

HALEEM, D. J. Serotonin-1A receptor dependent modulation of pain and reward for improving therapy of chronic pain. **Pharmacological Research**, v. 134, p. 212-219, 2018.

HALEEM, D. J. Targeting serotonin1a receptors for treating chronic pain and depression. **Current Neuropharmacology**, v. 17, n. 12, p. 1098-1108, 2019.

HATCH, M. N. *et al.* Neuropathic pain and SCI: Identification and treatment strategies in the 21st century. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 384, p. 75-83, 2018.

HEINRICHER, M. M. *et al.* Descending control of nociception: specificity, recruitment and plasticity. **Brain Research Reviews**, v. 60, n. 1, p. 214-225, 2009.

HOLMES, E. *et al.* Cognitive enhancement by transcranial photobiomodulation augments cerebrovascular oxygenation of the prefrontal cortex. **Frontiers in Neuroscience**, v. 13, p. 1129, 2019.

HOSHINO, H.; OBATA, H.; SAITO, S. Antihyperalgesic effect of duloxetine and amitriptyline in rats after peripheral nerve injury: Influence of descending noradrenergic plasticity. **Neuroscience Letters**, v. 602, p. 62-67, 2015.

HSIEH, Y. L. *et al.* Low-level laser therapy alleviates neuropathic pain and promotes function recovery in rats with chronic constriction injury: Possible involvements in hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α). **Journal of Comparative Neurology**, v. 520, n. 13, p. 2903-2916, 2012.

HUANG, Y. Y. *et al.* Biphasic dose response in low level light therapy. **Dose-Response**, v. 7, n. 4, p. 9-27, 2009.

HU, B. *et al.* Duloxetine and 8-OH-DPAT, but not fluoxetine, reduce depression-like behaviour in an animal model of chronic neuropathic pain. **Neuroscience Letters**, v. 619, p. 162-167, 2016.

HUGHES, S. W. *et al.* Endogenous analgesic action of the pontospinal noradrenergic system spatially restricts and temporally delays the progression of neuropathic pain following tibial nerve injury. **PAIN**[®], v. 154, n. 9, p. 1680-1690, 2013

HUNT, S. P.; BESTER, H. The ascending pain pathways. *In*: KOLTZENBURG, M.; HUNT, S. P. **THE NEUROBIOLOGY of pain**. Oxford: Oxford University Press, 2005. p. 165-184.

INOUE, S. *et al.* The prevalence and impact of chronic neuropathic pain on daily and social life: a nationwide study in a Japanese population. **European Journal of Pain**, v. 21, n. 4, p. 727-737, 2017.

JANZADEH, A. *et al.* Photobiomodulation therapy reduces apoptotic factors and increases glutathione levels in a neuropathic pain model. **Lasers in Medical Science**, v. 31, n. 9, p. 1863-1869, 2016.

JASMIN, L.; GRANATO, A.; OHARA, P. T. Rostral agranular insular cortex and pain areas of the central nervous system: A tract-tracing study in the rat. **Journal of Comparative Neurology**, v. 468, n. 3, p. 425-440, 2004.

JENSEN, T. S. *et al.* A new definition of neuropathic pain. **Pain**, v. 152, n. 10, p. 2204-2205, 2011.

JONES, S. L.; GEBHART, G. F. Characterization of coeruleospinal inhibition of the nociceptive tail-flick reflex in the rat: mediation by spinal α 2-adrenoceptors. **Brain Research**, v. 364, n. 2, p. 315-330, 1986.

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

KATO, G. *et al.* Direct GABAergic and glycinergic inhibition of the substantia gelatinosa from the rostral ventromedial medulla revealed by in vivo patch-clamp analysis in rats. **Journal of Neuroscience**, v. 26, n. 6, p. 1787-1794, 2006.

KAZANTZIS, N. P. *et al.* Opioid and cannabinoid synergy in a mouse neuropathic pain model. **British Journal of Pharmacology**, v. 173, n. 16, p. 2521-2531, 2016.

KAYSER, V. *et al.* Mechanical, thermal and formalin-induced nociception is differentially altered in 5-HT1A^{-/-}, 5-HT1B^{-/-}, 5-HT2A^{-/-}, 5-HT3A^{-/-} and 5-HTT^{-/-} knock-out male mice. **Pain**, v. 130, n. 3, p. 235-248, 2007.

KERPPERS, F. K. *et al.* Study of transcranial photobiomodulation at 945-nm wavelength: anxiety and depression. **Lasers in Medical Science**, p. 1-10, 2020.

KIM, S. H.; CHUNG, J. M. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. **Pain**, v. 50, n. 3, p. 355-363, 1992.

KITCHEN, S. S.; PARTRIDGE C. J. A review of low level laser therapy: Part I: background, physiological effects and hazards. **Physiotherapy**, v. 77, n. 3, p. 161-168, 1991.

KONTINEN, V. K.; DICKENSON, A. H. Effects of midazolam in the spinal nerve ligation model of neuropathic pain in rats. **Journal of the Peripheral Nervous System**, v. 5, n. 4, p. 246-246, 2000.

KOSEK, E. *et al.* Do we need a third mechanistic descriptor for chronic pain states? **Pain**, v. 157, n. 7, p. 1382-1386, 2016.

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

KWON, M. *et al.* The role of descending inhibitory pathways on chronic pain modulation and clinical implications. **Pain Practice**, v. 14, n. 7, p. 656-667, 2014.

LEE, B. H. *et al.* Antiallodynic effects produced by stimulation of the periaqueductal gray matter in a rat model of neuropathic pain. **Neuroscience Letters**, v. 291, n. 1, p. 29-32, 2000.

LIU, Z. Y. *et al.* Involvement of 5-hydroxytryptamine_{1A} receptors in the descending anti-nociceptive pathway from periaqueductal gray to the spinal dorsal horn in intact rats, rats with nerve injury and rats with inflammation. **Neuroscience**, v. 112, n. 2, p. 399-407, 2002.

LOVAGLIO, A. C. *et al.* Treatment of neuropathic pain after peripheral nerve and brachial plexus traumatic injury. **Neurology India**, v. 67, n. 7, p. 32-37, 2019.

MARCHAND, S. The physiology of pain mechanisms: from the periphery to the brain. **Rheumatic Disease Clinics of North America**, v. 34, n. 2, p. 285-309, 2008.

MARTIKAINEN, I. K. *et al.* Correlation of human cold pressor pain responses with 5-HT_{1A} receptor binding in the brain. **Brain Research**, v. 1172, p. 21-31, 2007.

MASOUMIPOOR, M. *et al.* Effects of 660-and 980-nm low-level laser therapy on neuropathic pain relief following chronic constriction injury in rat sciatic nerve. **Lasers in Medical Science**, v. 29, n. 5, p. 1593-1598, 2014.

MCCLESKEY, E. W.; GOLD, M. S. Ion channels of nociception. **Annual Review of Physiology**, v. 61, n. 1, p. 835-856, 1999.

MELZACK, R.; WALL, P. D. Pain mechanisms: a new theory. **Science**, v. 150, n. 3699, p. 971-979, 1965.

MICHELI, L. *et al.* Photobiomodulation therapy by NIR laser in persistent pain: an analytical study in the rat. **Lasers in Medical Science**, v. 32, n. 8, p. 1835-1846, 2017.

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

NAKAJIMA, K. *et al.* An increase in spinal cord noradrenaline is a major contributor to the antihyperalgesic effect of antidepressants after peripheral nerve injury in the rat. **PAIN**[®], v. 153, n. 5, p. 990-997, 2012.

NARITA, M. *et al.* Change in the expression of c-fos in the rat brain following sciatic nerve ligation. **Neuroscience Letters**, v. 352, n. 3, p. 231-233, 2003.

NIEDERBERGER, E.; KÜHLEIN, H.; GEISLINGER, G. Update on the pathobiology of neuropathic pain. **Expert Review of Proteomics**, v. 5, n. 6, p. 799-818, 2008.

NIJS, J. *et al.* Explaining pain following cancer: A practical guide for clinicians. **Brazilian Journal of Physical Therapy**, v. 23, n. 5, p. 367-377, 2019.

NUNES-DE-SOUZA, R. L. *et al.* Anxiety-induced antinociception in mice: effects of systemic and intraamygdala administration of 8-OH-DPAT and midazolam. **Psychopharmacology**, v. 150, p. 300-310, 2000.

NUNES-DE-SOUZA, V. *et al.* Blockade of 5-HT₂ receptors in the periaqueductal grey matter (PAG) abolishes the anxiolytic-like effect of 5-HT_{1A} receptor antagonism in the median raphe nucleus in mice. **Behavioural Brain Research**, v. 225, n. 2, p. 547-553, 2011.

O'CONNOR, A. B.; DWORKIN, R. H. Treatment of neuropathic pain: an overview of recent guidelines. **The American Journal of Medicine**, v. 122, n. 10, p. S22-S32, 2009.

OKAMOTO, K. *et al.* A. Pro- and anti-inflammatory cytokine gene expression in rat sciatic nerve chronic constriction injury model of neuropathic pain. **Experimental Neurology**, v. 169, n. 2, p. 386-391, 2001.

OLIVEIRA, M. E. *et al.* Low level laser therapy alters satellite glial cell expression and reverses nociceptive behavior in rats with neuropathic pain. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 16, n. 4, p. 547-554, 2017.

OLIVEIRA, R. M. *et al.* Comparative analysis of functional capacity among women with fibromyalgia and low back pain. **Revista Dor**, v. 14, n. 1, p. 39-43, 2013.

ORTIZ, M. C. S. *et al.* Laser de baixa intensidade: princípios e generalidades-Parte 1. **Fisioterapia Brasil**, v. 2, n. 4, p. 221-240, 2001.

OSSIPOV, M. H.; MORIMURA, K.; PORRECA, F. Descending pain modulation and chronification of pain. **Current Opinion in Supportive and Palliative Care**, v. 8, n. 2, p. 143-151, 2014.

PAOLILLO, F. R. *et al.* Effects of infrared radiation and exercise on bone mass: implications for the prevention and management of osteoporosis. **Research on Biomedical Engineering**, v. 36, p. 49-57, 2020.

- PAULUS, W.; TRENKWALDER, C. Less is more: pathophysiology of dopaminergic-therapy-related augmentation in restless legs syndrome. **The Lancet Neurology**, v. 5, n. 10, p. 878-886, 2006.
- PERRIN, F. E. *et al.* Anatomical study of serotonergic innervation and 5-HT 1A receptor in the human spinal cord. **Cell Death & Disease**, v. 2, n. 10, p. e218-e218, 2011.
- PERTOVAARA, A. Noradrenergic pain modulation. **Progress in Neurobiology**, v. 80, n. 2, p. 53-83, 2006.
- PIGATTO, G. R. *et al.* Estudo da emissão de luz por diodo infravermelho na dor neuropática em ratos. **Fisioterapia Brasil**, v. 14, n. 4, p. 274-282, 2016.
- PODOLAN, M. *et al.* A single injection of imipramine affected proliferation in the hippocampus of adult Swiss mice depending on the route of administration, doses, survival time and lodging conditions. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v. 100, p. 101-655, 2019.
- PORRECA, F.; OSSIPOV, M. H.; GEBHART, G. F. Chronic pain and medullary descending facilitation. **Trends in Neurosciences**, v. 25, n. 6, p. 319-325, 2002.
- PURVES, D. *et al.* **Neurociências**. 4. ed. São Paulo: Artmed, 2010.
- QASEEM, A. *et al.* Noninvasive treatments for acute, subacute, and chronic low back pain: a clinical practice guideline from the American College of Physicians. **Annals of Internal Medicine**, v. 166, n. 7, p. 514-530, 2017.
- QUAGLIA, W. *et al.* 4WD to travel Inside the 5-HT_{1A} Receptor World. *In*: KANEEZ, F. S. **Serotonin-A Chemical Messenger Between All Types of Living Cells**. London: IntechOpen, 2017.
- RAJA, S. N. *et al.* The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. **Pain**, v. 161, n. 9, p. 1976-1982, 2020.
- RASHID, M. H.; UEDA, H. Pre-injury administration of morphine prevents development of neuropathic hyperalgesia through activation of descending monoaminergic mechanisms in the spinal cord in mice. **Molecular Pain**, v. 1, n. 19, p. 1-11, 2005.
- REYNOLDS, D. V. Surgery in the rat during electrical analgesia induced by focal brain stimulation. **Science**, v. 164, n. 3878, p. 444-445, 1969.
- RODRIGUES FILHO R. *et al.* Avulsion injury of the rat brachial plexus triggers hyperalgesia and allodynia in the hindpaws: a new model for the study of neuropathic pain. **Brain Research**, v. 982, n. 2, p. 186-194, 2003.

- SAGALAJEV, B. *et al.* Descending antinociception induced by secondary somatosensory cortex stimulation in experimental neuropathy: role of the medullospinal serotonergic pathway. **Journal of Neurophysiology**, v. 117, n. 3, p. 1200-1214, 2017.
- SANTOS, G. X. *et al.* Influência do receptor canabinóide CB1 na substância cinzenta periaquedutal em camundongos tratados por fotobiomodulação após constrição crônica do nervo ciático: ensaio controlado por placebo. **Brazilian Journal of Pain**, v. 3, n. 1, p. 2-7, 2020.
- SCHOLZ, J. *et al.* The IASP classification of chronic pain for ICD-11: chronic neuropathic pain. **Pain**, v. 160, n. 1, p. 53-59, 2019.
- SELTZER, Z.; DUBNER, R.; SHIR, Y. A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. **Pain**, v. 43, n. 2, p. 205-218, 1990.
- SERRA, A. P.; ASHMAWI, H. Influence of naloxone and methysergide on the analgesic effects of low-level laser in an experimental pain model. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 60, n. 3, p. 302-310, 2010.
- SINGH, H. *et al.* Alternative treatment strategies for neuropathic pain: Role of Indian medicinal plants and compounds of plant origin-A review. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 92, p. 634-650, 2017.
- SOLEIMANI, M. *et al.* Analgesic effect of α -terpineol on neuropathic pain induced by chronic constriction injury in rat sciatic nerve: Involvement of spinal microglial cells and inflammatory cytokines. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 22, n. 12, p. 1445-1451, 2019.
- SOMMER, C.; SCHÄFERS, M. Painful mononeuropathy in C57BL/Wld mice with delayed wallerian degeneration: differential effects of cytokine production and nerve regeneration on thermal and mechanical hypersensitivity. **Brain Research**, v. 784, n. 1-2, p. 154-162, 1998.
- SOUSA, A. M. *et al.* Modelos experimentais para o estudo da dor neuropática. **Revista Dor**, v. 17, p. 27-30, 2016.
- SOUZA, G. V. *et al.* Antinociceptive activity of the ethanolic extract, fractions, and aggregatin D isolated from *Sinningia aggregata* tubers. **PLoS One**, v. 10, n. 2, p. e0117501, 2015.
- STEEDS, C. E. The anatomy and physiology of pain. **Surgery (Oxford)**, v. 27, n. 12, p. 507-511, 2009.
- TABOR, A. *et al.* Perceptual inference in chronic pain: an investigation into the economy of action hypothesis. **The Clinical Journal of Pain**, v. 32, n. 7, p. 588-593, 2016.

TAO, Z. Y. *et al.* The role of descending pain modulation in chronic primary pain: potential application of drugs targeting serotonergic system. **Neural Plasticity**, v. 2019, n. 4, p. 1-16, 2019.

TAVARES, D. E. *et al.* Localization of α 2A-and α 2B-adrenergic receptor subtypes in brain. **Hypertension**, v. 27, n. 3, p. 449-455, 1996.

TESFAYE, S.; BOULTON, A. J.; DICKENSON, A. H. Mechanisms and management of diabetic painful distal symmetrical polyneuropathy. **Diabetes Care**, v. 36, n. 9, p. 2456-2465, 2013.

TOMAZ DE MAGALHÃES, M. *et al.* Light therapy modulates serotonin levels and blood flow in women with headache. A preliminary study. **Experimental Biology and Medicine**, v. 241, n. 1, p. 40-45, 2016.

TREEDE, R. D. *et al.* A classification of chronic pain for ICD-11. **Pain**, v. 156, n. 6, p. 1003-1007, 2015.

TRUINI, A.; CRUCCU, G. Pathophysiological mechanisms of neuropathic pain. **Neurological Sciences**, v. 27, n. 2, p. s179-s182, 2006.

UEDA, H. Molecular mechanisms of neuropathic pain—phenotypic switch and initiation mechanisms. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 109, n. 1-2, p. 57-77, 2006.

VANEGAS, H.; SCHAIBLE, H-G. Descending control of persistent pain: inhibitory or facilitatory? **Brain Research Reviews**, v. 46, n. 3, p. 295-309, 2004.

VAN HECKE, O. *et al.* Neuropathic pain in the general population: a systematic review of epidemiological studies. **PAIN[®]**, v. 155, n. 4, p. 654-662, 2014.

VAN HECKE, O.; TORRANCE, N.; SMITH, B. H. Chronic pain epidemiology and its clinical relevance. **British Journal of Anaesthesia**, v. 111, n. 1, p. 13-18, 2013.

VAZQUEZ, E. *et al.* Antinociception induced by intravenous dipyrone (metamizol) upon dorsal horn neurons: involvement of endogenous opioids at the periaqueductal gray matter, the nucleus raphe magnus, and the spinal cord in rats. **Brain Research**, v. 1048, n. 1-2, p. 211-217, 2005.

VIISANEN, H.; PERTOVAARA, A. Roles of the rostroventromedial medulla and the spinal 5-HT1A receptor in descending antinociception induced by motor cortex stimulation in the neuropathic rat. **Neuroscience Letters**, v. 476, n. 3, p. 133-137, 2010.

VINCENZETTI, S. *et al.* Biomarkers mapping of neuropathic pain in a nerve chronic constriction injury mice model. **Biochimie**, v. 158, p. 172-179, 2019.

VON HEHN, C. A.; BARON, R.; WOOLF, C. J. Deconstructing the neuropathic pain phenotype to reveal neural mechanisms. **Neuron**, v. 73, n. 4, p. 638-652, 2012.

- WALCZAK, J. S.; BEAULIEU, P. Comparison of three models of neuropathic pain in mice using a new method to assess cold allodynia: the double plate technique. **Neuroscience Letters**, v. 399, n. 3, p. 240-244, 2006.
- WALKER, J. Relief from chronic pain by low power laser irradiation. **Neuroscience Letters**, v. 43, n. 2-3, p. 339-344, 1983.
- WANG, C. Z. *et al.* Low-level laser irradiation improves functional recovery and nerve regeneration in sciatic nerve crush rat injury model. **PloS one**, v. 9, n. 8, p. e103348, 2014.
- WILLIS, J. R.; WILLIAM D. Role of neurotransmitters in sensitization of pain responses. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 933, n. 1, p. 142-156, 2001.
- WILSON, S. G.; MOGIL, J. S. Measuring pain in the (knockout) mouse: big challenges in a small mammal. **Behavioural Brain Research**, v. 125, n. 1-2, p. 65-73, 2001.
- WINKLER, C. W. *et al.* Kappa opioid receptor (KOR) and GAD67 immunoreactivity are found in OFF and NEUTRAL cells in the rostral ventromedial medulla. **Journal of Neurophysiology**, v. 96, n. 6, p. 3465-3473, 2006.
- WOOLF, C. J.; MA, Q. Nociceptors--noxious stimulus detectors. **Neuron**, v. 55, n. 3, p. 353-364, 2007.
- XU, F. *et al.* Microglial polarization dynamics in dorsal spinal cord in the early stages following chronic sciatic nerve damage. **Neuroscience Letters**, v. 617, p. 6-13, 2016.
- XU, L.; ZHANG, Y.; HUANG, Y. Advances in the treatment of neuropathic pain. *In*: MA, C.; HUANG, Y. **Translational Research in Pain and Itch**. Dordrecht: Springer, 2016. p. 117-129.
- ZHANG, H. *et al.* Morphological and physiological plasticity of spinal lamina II GABA neurons is induced by sciatic nerve chronic constriction injury in mice. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 12, p. 1-8, 2018.
- ZHANG, R. *et al.* Mechanisms of acupuncture–electroacupuncture on persistent pain. **Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists**, v. 120, n. 2, p. 482-503, 2014.
- ZHANG, T. T. *et al.* Evaluation of the analgesic effects of amroxetine, a novel potent serotonin and norepinephrine reuptake inhibitor. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 37, n. 9, p. 1154-1165, 2016.
- ZHAO, X. *et al.* Curcumin exerts antinociceptive effects in a mouse model of neuropathic pain: descending monoamine system and opioid receptors are differentially involved. **Neuropharmacology**, v. 62, n. 2, p. 843-854, 2012.

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

ZIMMERMANN, M. Pathobiology of neuropathic pain. **European Journal of Pharmacology**, v. 429, n. 1-3, p. 23-37, 2001.

ANEXO A – Aprovação do projeto de pesquisa pela comissão de ética no uso de animais



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Alfenas. Unifal-MG
 Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700. Alfenas/MG. CEP 37130-000
 Fone: (35) 3299-1000. Fax: (35) 3299-1063

Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UNIFAL



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Envolvimento do sistema monoaminérgico supra-espinhal após aplicação da fotobiomodulação em camundongos submetidos à constrição crônica do nervo ciático", registrada com o nº 20/2019, sob a responsabilidade de Luciana Maria dos Reis, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA-UNIFAL) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa científica
Vigência da autorização	De 05/07/2019 a 15/12/2020
Espécie/linhagem/raça	Camundongo Swiss / heterogênico
Nº de animais	224
Sexo	Machos
Origem	Biotério Central da UNIFAL

Alfenas, 05 de Julho de 2019.

Leonardo Augusto de Almeida

Prof. Dr. Leonardo Augusto de Almeida
 Coordenador do CEUA/UNIFAL-MG