



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

ITAIUÃ TEZOTO FERREIRA

**SENSIBILIDADE MECÂNICA APÓS APLICAÇÃO DE
CAPSAICINA TÓPICA NA REGIÃO TRIGEMINAL E ESPINAL**

PIRACICABA

2022

ITAIUÃ TEZOTO FERREIRA

**SENSIBILIDADE MECÂNICA APÓS APLICAÇÃO DE
CAPSAICINA TÓPICA NA REGIÃO TRIGEMINAL E ESPINAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Cirurgião Dentista.

Orientador: Prof. Dr. Yuri Martins Costa

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO APRESENTADO PELO ALUNO ITAIUÃ TEZOTO FERREIRA E ORIENTADO PELO PROF. DR. YURI MARTINS COSTA

PIRACICABA

2022

FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba
Marilene Girello - CRB 8/6159

F413s Ferreira, Tezoto Itaiuã, 1998-
Sensibilidade mecânica após aplicação de capsaicina tópica na região trigeminal e espinal / Itaiuã Tezoto Ferreira. – Piracicaba, SP : [s.n.], 2022.

Orientador: Yuri Martins Costa.
Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Capsaicina. 2. Sensibilização do sistema nervoso central. 3. Nervo trigêmeo. 4. Limiar da dor. I. Costa, Yuri Martins, 1987-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Informações adicionais, complementares

Palavras-chave em inglês:

Capsaicin
Central nervous system sensitization
Trigeminal nerve
Pain threshold

Titulação: Cirurgião-Dentista

Data de entrega do trabalho definitivo: 30-11-2022

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a toda minha família e amigos, em especial aos meus pais Sidinei Amorim Ferreira e Fabiana Tezoto Ferreira, que sempre lutaram para me proporcionar o melhor em minha vida, e me ensinaram o poder que o conhecimento tem.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Estadual de Campinas, na pessoa do magnífico reitor Antônio José de Almeida Meirelles. Obrigado UNICAMP por contribuir tanto por um mundo mais justo, com ensino de qualidade a todos.

Agradeço à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, na pessoa do senhor diretor Prof. Dr. Flávio Henrique Baggio Aguiar. Obrigado FOP por todas as experiências, oportunidades, aprendizados e histórias que levarei eternamente comigo.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Yuri Martins Costa e aluna de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, área de Fisiologia Oral, Isabela Coelho Novaes pelos seus conhecimentos a mim transmitidos, pelas oportunidades de aprendizado que me foram disponibilizadas, pela dedicação e paciência. Obrigado também por me iniciarem na pesquisa científica e me apresentarem uma visão tão incrível do que é a fisiologia.

Agradeço imensamente minha família, principalmente meus pais Sidinei Amorim Ferreira e Fabiana Tezoto Ferreira. Agradeço imensamente também aos meus amigos, em especial Vitor Paulo Bernardi, Pedro Pavan e aos meus amigos Pedro Carravero Godoi, Camila Campache Motta e Vitor Hugo Garcia, por serem meus companheiros e pelas inúmeras horas em nossas rodas no Jacaré.

Também gostaria de agradecer a minha companheira e namorada Bianca Camargo Domingues, minha “cherrie”, que me dá forças todos os dias com seu apoio incondicional, além de tornar os dias mais leves sempre com amor.

Agradeço com todo meu coração aos meus amigos de turma e de toda a faculdade que me acompanharam nesse processo de formação, em especial aos outros moradores da minha República 30 e da República Breja Eu, especialmente minhas amigas Débora Bittencourt e Renata Pais, que sempre estiveram comigo ao longo desses anos, me proporcionando momentos de risos e descontrações. Me sinto agraciado por compartilhar momentos com todos os citados neste agradecimento.

RESUMO

O sistema espinal e trigeminal mostram dissimilaridades anatômicas e fisiológicas que podem sugerir diferenças em mecanismos da dor. O objetivo desse estudo foi comparar as mudanças sensibilidade mecânica em uma área de hiperalgesia secundária induzida por capsaicina tópica entre um sítio espinal e um trigeminal. Para isso, foi realizado um ensaio clínico cruzado, com uma amostra de 40 indivíduos, em que 0,25 gramas de um creme de capsaicina à 1% foi aplicado em uma área de 2 cm² durante 45 min de forma randomizada no masseter e antebraço em 2 sessões. Além disso, uma sessão basal foi realizada para determinar a flutuação natural da sensibilidade somatossensorial, totalizando 3 sessões. A variável primária desse estudo foi o limiar de dor mecânica (MPT) avaliado dentro da área de hiperalgesia secundária induzida por capsaicina tópica. Um modelo de ANOVA foi aplicado a fim de avaliar possíveis diferenças entre os sítios, sexos e aplicação de capsaicina. O nível de significância considerado foi de 5% ($p=0,050$). Os resultados de MPT foram superiores em masseter em relação ao antebraço após a aplicação de capsaicina [$F_{1,38}=9,164$; $p=0,004$]. Essa diferença só foi observada em indivíduos do sexo masculino [$F_{1,38}=13,493$; $p=0,001$]. Não houve diferença nos valores do MPT para o antebraço [$F_{2,36}=1,090$; $p=0,366$]. Os achados desse estudo são sugestivos de que a sensibilização central pela capsaicina na região trigeminal aparenta ser menos potentes do que à região espinal.

Palavras-chave: Capsaicina. Sensibilização central. Nervo trigêmeo. Limiar de dor.

ABSTRACT

The spinal and trigeminal systems show anatomical and physiological differences that might suggest differences in pain mechanisms. The aim of this study was to compare the degree of secondary hyperalgesia induced by topical capsaicin between spinal and trigeminal innervation. A crossover clinical trial was carried out, with a sample of 40 individuals, in which 0.25 grams of a 1% capsaicin cream was applied in a 2 cm² area for 45 min randomly in the masseter and forearm in 2 sessions. In addition, a baseline session was performed to determine the natural fluctuation of somatosensory sensitivity, totaling 3 sessions. The primary variables in this study were mechanical pain thresholds within the area of secondary hyperalgesia induced by topical capsaicin. ANOVA models were computed to assess differences between sites, genders and during capsaicin application. The significance level considered was 5% ($p=0.050$). The MPT results were higher in the masseter regarding the forearm afterwards the application of capsaicin [$F(1, 38) = 9.164$; $p=0.004$]. This difference was only noticed between males [$F(1, 38) = 13.493$; $p=0.001$]. There wasn't any difference on the MPT values for the forearm [$F(2, 36) = 1.090$; $p=0.366$]. These findings suggest that the central sensitization induced by capsaicin in the trigeminal looks more intense than the spinal area.

Keywords: Capsaicin. Central sensitization. Trigeminal innervation. Pain threshold.

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 9 |
| 2 REVISÃO DA LITERATURA | 13 |
| 3 PROPOSIÇÃO | 19 |
| 4 MATERIAL E MÉTODOS | 20 |
| 4.1 Amostra e ética | 20 |
| 4.2 Variável de desfecho | 21 |
| 4.3 Desenho experimental | 21 |
| 4.4 Avaliação da área de hiperalgesia secundária | 22 |
| 4.5 Análise estatística | 22 |
| 5 RESULTADOS | 23 |
| 6 DISCUSSÃO | 27 |
| 7 CONCLUSÃO | 29 |
| REFERÊNCIAS | 30 |
| ANEXOS | 33 |
| Anexo 1 – Verificação de originalidade e prevenção de plágio | 33 |
| Anexo 2 – Comitê de Ética em Pesquisa | 34 |

1 INTRODUÇÃO

Desde os primórdios dos tempos, o ser humano tenta compreender e definir melhor o que realmente significa dor, o que se provou ser uma tarefa árdua. Definir algo particular e singular a cada indivíduo é um verdadeiro dilema. Ainda assim, esforços coletivos são necessários para se alcançar um consenso, pois definir dor é um passo necessário para o estudo científico desse fenômeno. Assim, a definição revisada e mais atual endossada pela Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP, na sigla original em inglês) conceitua dor como uma “Uma experiência sensitiva e emocional desagradável associada a uma lesão tecidual real ou potencial, ou descrita nos termos de tal lesão”. E dentro das inúmeras maneiras que a dor pode ser experimentada, podemos identificar fenômenos como a hiperalgesia, que é dor exagerada a um estímulo que normalmente provoca dor e alodinia que é a dor causada por um estímulo que normalmente não provocaria dor, como um toque leve. Tratando-se de hiperalgesia, ela se apresenta tanto como primária quanto secundária e, clinicamente falando, consiste na diminuição do limiar de dor e/ou na atenuação da responsividade a estímulos supralimiais, o que é um agente de caráter de proteção que ajuda na cicatrização (Dubner et al., 1983).

Para se aprofundar mais no entendimento do tema, existem modelos experimentais de dor que nos fornecem uma visão mais ampla sobre os mecanismos da nocicepção, inflamação e analgesia, como podemos ver no estudo de Lötsch et al. (2014). Em geral, esse tipo de recurso tenta reproduzir indícios clínicos da dor aguda ou crônica não tendo danos irreversíveis ao indivíduo (Enax-Krumova et al. (2017). Além disso, esses modelos possuem a qualidade de serem mais convencionados ao tipo e grau da lesão e pessoas estudadas, quando comparado a pesquisas conduzidas em pacientes. A maioria desses modelos induzem o ganho sensorial (como a hiperalgesia por estimulação elétrica), mas também a perda sensorial (como a pôr compressão nervosa). Os modelos experimentais de dor são um recurso muito importante para se avaliar a eficácia de fármacos, mas para isso devem ser previamente bem caracterizados e seus fins devem ser reproduzíveis, como foi proposto no estudo de Dirks et al. (2003).

A capsaicina (8-metil-N-vanilil-6-nonenamida), é um agente ativo presente na pimenta e tem sido empregada como modelo experimental graças a sua produção

de áreas sensoriais alteradas. Esta substância possui elementos de sensibilização periférica e central bem ajustados e tem um caráter essencial nas dores neuropáticas, como visto no estudo de Fein et al. (2011).

A capsaicina, como visto no estudo de Shabes et al. (2021), atua de maneira a estimular uma subpopulação de nociceptores os quais ativam o receptor vaniloide característico para a capsaicina, denominado de TRPV1. Quando esses são ativos, pode-se gerar uma sensação dolorosa no indivíduo, que é acompanhada de uma vasodilatação em decorrência a liberação de peptídeos vasoativos como a substância P e peptídeo associado ao gene calcitonina (CGRP, em sua sigla original da língua inglesa). Essas substâncias podem atuar diretamente e indiretamente nos nocipetores, culminando em mudanças funcionais nos neurônios. Esse fenômeno é comumente chamado de sensibilização periférica e é constatado pela área de hiperemia, eritema e hiperalgesia, aumentando a dor estimulada pelo calor e por estímulos mecânicos. Essa hiperalgesia quando ocorre no local de aplicação da capsaicina é conhecida como primária e se dá principalmente pela facilitação homossináptica, como podemos observar nos estudos de Baron et al. (2013) e Megerl et al. (1998). Ou seja, a sensibilização de neurônios de segunda ordem à entrada de fibras C pode ser elevada pela excitação contínua dessas mesmas fibras em uma reação a presença da capsaicina. Em decorrência a isso há uma liberação de neurotransmissores pelo primeiro neurônio, ativando assim receptores de neurônios de ampla faixa dinâmica que estão presentes no sistema nervoso central causando uma despolarização da membrana pós-sináptica. Essa mesma despolarização aumenta a frequência de potenciais de ação do neurônio secundário culminando em sensibilização.

A capsaicina também pode ser responsável por uma hiperalgesia secundária, quando a área dolorosa é distante a região de aplicação da substância. A capsaicina atua em sua maior parte em terminações nervosas de aferentes nociceptivos amielínicos, tais como fibras C polimodais as quais reagem aos estímulos de calor e mecânicos. Como existem no mínimo dois tipos de nociceptores cutâneos: os mecanossensíveis e mecanoinssensíveis, constatou-se que a capsaicina é capaz de sensibilizar os nociceptores mecanoinssensíveis de fibras C, fazendo com que estes sejam responsivos a estímulos mecânicos. Ao ocorrer a ativação desses aferentes primários a substância deflagra o potencial de ação, fazendo com que

percorra a fibra em toda sua extensão até chegar ao SNC, local em que será liberado neurotransmissores que culminam no aumento da estimulação e a resposta dos neurônios espinhais de segunda ordem, tanto aqueles nociceptivos específicos (NS) quanto os neurônios de ampla faixa dinâmica (WDR, na sigla original em inglês). As projeções de neurônios espinhais sensibilizados ao trato espinotalâmico geram uma alteração no processamento de mensagens nociceptivas pelos centros superiores. São os mediadores aferentes mielínicos A- δ não responsivos a capsaicina que são estimuladas pelas aferências de fibras C. Isso corrobora com a tese de que o papel dessas fibras mecanoinssensíveis na hiperalgesia secundária seria de causar ou promover a manutenção de uma facilitação central. Esse evento é denominado como facilitação heterossináptica. Ao mesmo tempo em que a facilitação das fibras A- δ são causadores da hiperalgesia mecânica, a facilitação das fibras A- β não nociceptivas culminam em alodinia, como podemos ver nos estudos de Magerl et al. (2001), Baron et al. (2017) e Treede et al. (2000).

Assim como o campo de estudos sobre a dor necessita de mais aprofundamento, a dor na região orofacial também demanda um grande empenho. Este cuidado com essa região se dá pois já se observou que nesta região há dores que não se observam em outras partes do corpo, ou que se manifestam de maneiras diferentes, como os casos de neuralgia do trigêmeo, migrânea e cefaleias trigêmeo-autônômicas. Enquanto em outras regiões do corpo existem amplos estudos sobre o emprego da capsaicina, os mesmos são escassos quando se tratando da região do nervo trigeminal. Mesmo os poucos estudos presentes, como o caso de Gazerani et al. (2006), constatam que a aplicação da capsaicina na região trigeminal induzem dor e queimação, hiperemia, aumento do fluxo sanguíneo e hiperalgesia secundária graças a indução de componentes periféricos.

Como as vias do sistema somatossensorial estão divididas entre via trigemino-talâmica e via espinotalâmica, nota-se diferenças anatômicas e, possivelmente, fisiológicas entre essas vias. Enquanto a via espinotalâmica obtém informações provenientes do corpo e repassa os sinais dos gânglios da raiz dorsal para o corno dorsal da medula espinhal, os quais são retransmitidos aos neurônios secundários e vai até o tálamo e córtex sensorial. As informações oriundas da face e cabeça são propagadas por meio da via trigemino-talâmica, onde esse sinal é conduzido pelos neurônios nociceptivos de primeira ordem, indo em direção ao

gânglio trigeminal, seguindo até o subnúcleo caudal que está no tronco cerebral. Assim é repassado aos neurônios nociceptivos que sobem em direção ao tálamo e córtex sensorial. Com isso o sistema trigeminal está anatomicamente situado mais perto do SNC, ao mesmo tempo que o caminho de outros axônios do sistema espinal é extenso.

Há também discrepâncias embrionárias entre esses dois sistemas de processamento de informação sensoria, como visto nos estudos moleculares de D'amico-Martel e Noden em 1983 e Lopes et al. (2017). Enquanto os neurônios do gânglio da raiz dorsal provêm da crista neural, os neurônios do gânglio trigeminal possuem uma origem dupla, tendo células provenientes tanto da crista neural craniana quanto do placódios ectodérmicos do trigêmeo. Ademais que a quantia entre fibras não mielinizadas é inferior em relação as mielinizadas no nervo do trigêmeo em relação aos nervos espinhais, como visto no estudo de Sesle et al. (2000). Com a existência dessas diferenças supracitadas, é possível supor que capsaicina expressa diferentes mecanismos e/ou interações neuronais.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Hiperalgesia e nociceptores

Dubner et al. (1983), sugere que uma lesão tecidual pode culminar na diminuição do limiar de dor na região lesada, o que se denomina hiperalgesia primária, a qual também é reconhecida pelo aumento de sensibilidade a estímulos (sejam eles térmicos ou mecânicos) e sensações de dor espontâneos. Circundando a lesão forma-se uma área de hiperalgesia secundária e uma região de vasodilatação, comumente denominada de “*flare*”.

Estudos recentes evidenciaram os diferentes papéis exercidos por nociceptores na hiperalgesia primária em situações de lesões teciduais. Meyer et al (1981), demonstraram que a hiperalgesia primária é mediada por nociceptores mecanorreceptores mielinizados sensibilizados e não por fibras C nociceptores polimodais (que respondem por a estímulos térmicos e mecânicos nocivos), assim pressupõe-se que parte dos mecanismos que desencadeiam essa hiperalgesia estejam relacionados a alterações centrais.

Treede et al., (1992), a hiperalgesia secundária, em contrapartida, é evidenciada pela resposta a estímulos mecânicos, mas não ao estímulo térmico (de calor). Com o objetivo de entender como a hiperalgesia se propaga ao tecido circundante (aquele que não foi lesado), foram empregados dois métodos, um com foco no sistema nervoso periférico (SNP) e outro no central (SNC). A princípio foi proposto que a estimulação de nociceptores resulta nos potenciais de ação se propagando no curso das fibras nervosas ramificadas, se espalhando até terminais nervosos periféricos situados próximos a região de lesão. Esse potencial de ação induz a liberação de substâncias de forma antidrômica em áreas próximas da área lesada, sensibilizando os nociceptores e desenvolvendo uma área de hiperalgesia secundária. Já o outro modelo sugere que a hiperalgesia secundária é dependente da sensibilização central, o que acaba em uma entrada nociceptiva facilitada.

Baron et al. (2013), em conjunto a alguns contribuintes publicaram um artigo sobre os recursos de sensibilização central (SC) e a entrada periférica. De acordo com os autores existe uma relação não linear entre a magnitude de um

estímulo nocivo e a compreensão da dor. A hiperalgesia primária é gerada por mediadores químicos que causam sensibilização das fibras nociceptivas periféricas. A partir dessa entrada de estímulos há um favorecimento de sensibilização central, manifestando assim uma área de hiperalgesia secundária. A ativação repetida de fibras C causando uma facilitação da entrada aferente da própria fibra C é chamada de facilitação homossináptica e explica a hiperalgesia primária. Quando a ativação repetida gera um aumento da entrada aferente de fibras A-delta e A-beta é chamada de facilitação heterossináptica e explicam mecanismos de hiperalgesia e alodinia, respectivamente.

2.2 Capsaicina e Sensibilização Central

Em 2006, McMahon e MK, sugeriram que a capsaicina é uma substância altamente empregada como modelo de sensibilização central. A molécula dessa substância atua sobre o canal TRPV1, localizado nos neurônios sensoriais primários peptidérgicos, e sua ativação pode contribuir para a indução de hiperalgesia e sensibilização central. Esse canal também é ativado pelo estímulo de calor e presença de ácido, por isso temos a sensação de dor em queimação. Graças a todas essas virtudes, convencionou-se o uso dessa substância para se mensurar e entender os padrões existentes na dor.

A sensibilização central, gerada pelo uso da capsaicina se dá pelo estímulo contínuo que esta gera, levando a uma ativação dos neurônios de ampla faixa dinâmica (WDR), localizados no SNC, sensibilizando-os, novamente visto em Baron et al. 2013. Essa sensibilização central gera um aumento da resposta a entradas nociceptivas graças há uma alteração no tamanho do campo receptivo dos neurônios. Além disso se manifesta cutâneamente como hiperalgesia mecânica e alodínia.

No ano de 1967, Jancsó e colaboradores, empregaram a capsaicina afim de avaliar os diferentes mecanismos de inflamação neurogênica e vasodilatação. Observou-se que ao estimular eletricamente os nervos safenos e trigêmeo de ratos culminou em respostas inflamatórias. Contudo, após a degeneração nervosa, a capsaicina e outras substâncias químicas não geraram resposta inflamatória. Com isso foi possível constatar que essas substâncias atuam nos nervos sensoriais, tendo

como principal achado que essa resposta é importante para gerar essa inflamação. Portanto, no momento em que essas fibras são ativadas pela capsaicina, o nervo libera em sua periferia substâncias que são responsáveis pela inflamação neurogênica.

O estudo de LaMotte et al. (1991), mimetizou uma lesão em tecido com a injeção de 10 uL de 100ug de capsaicina no antebraço de humanos. Os indivíduos experienciaram uma sensação de dor de queimação intensa acompanhada imediatamente pela formação de três regiões de hiperalgesia próximo a área da injeção. A região mais extensa foi a de hiperalgesia a picada (55 cm²), sendo sucedida pela área de alodinia (38 cm²) e hiperalgesia ao calor (2 cm²). Constatam que a região de hiperalgesia secundária era inerente a desempenho neural e independente da absorção da substância para locais afastados da lesão, visto que a capsaicina injetada em uma pequena área de pele anestesiada não gerou hiperalgesia na região não anestesiada envolvente. Outro aspecto notado foi que a estimulação térmica da pele gerou dor similar em duração e intensidade a criada pela capsaicina, culminando em áreas inferiores de hiperalgesia. Com isso, foi possível comprovar a existência de fibras nervosas aferentes quimiossensíveis, sendo essas mais eficientes em desenvolver hiperalgesia do que as fibras nociceptivas mecânicas e térmicas. Além disso, foi observado que ao se resfriar a região a área de alodinia reduz, enquanto ao aquecê-la essa área se reestabelece. Também foi possível demonstrar que, ao empregar anestésico tópico após a injeção da capsaicina, a hiperalgesia ao toque é reduzida ou até mesmo eliminada, ao passo de que sua eficácia em reduzir a área de hiperalgesia à picada é menor.

Com isso, La Motte et al. (1991), conseguiram demonstrar de maneira incisiva que a hiperalgesia mecânica não é intrínseca, mas somente em algumas partes ligado ao exercício neural periférica. E o bloqueio do nervo proximal (precedendo a injeção de capsaicina) impediu a geração de hiperalgesia, sendo assim, os neurônios sensibilizados pelas fibras nervosas as quais a capsaicina é responsável pela ativação não se trata de fibras periféricas, mas sim centrais, de acordo com LaMotte et al. (2001).

O estudo subsequente de Baumann et al. (1991), teve como intuito complementar a pesquisa realizada por LaMotte et al. (1991) e colaboradores, em

que a hiperalgesia secundária era resultado de uma sucessão de neurônios sensibilizando os demais. Portanto conduziram testes neurofisiológicos em macacos, onde o objetivo era registrar as respostas a uma injeção subcutânea de capsaicina. Nesse experimento a maior parte das fibras C e A mecanossensíveis apresentaram pouca resposta à substância para explicar a proporção da dor. Com isso, foi sugerido que aferentes quimionociceptivos teriam contribuição com esse resultado. A suposição de que a sensibilização das fibras periféricas explicava o acontecimento de hiperalgesia foi descartada, com a observação de que os nociceptores periféricos não foram sensibilizados após estímulos mecânicos e térmicos. Já a dessensibilização tanto de fibras mielinizadas quanto de não mielinizadas no lugar da injeção foi associada com a analgesia evidenciada na zona de administração em humanos.

Baumann et al. (1991), também colocaram em pauta que, a capsaicina aplicada de maneira tópica intensificou a resposta das fibras C e A- δ a estímulos térmicos e mecânicos, e reduziu o limiar de calor nas fibras C. Assim, foi sugerido que a sensibilização de fibras C ajudam na formação da área de hiperalgesia primária na pele. Embasado nos dados obtidos, foi estabelecida a hipótese de que a sensibilização dos neurônios que contribuem para hiperalgesia estão localizados no SNC.

Os mesmos autores propuseram um terceiro estudo em Simone et al. (1991), o qual almejava avaliar a influência do trato espinotalâmico associado a dor e a hiperalgesia gerada por injeção intradérmica de capsaicina, para isso respostas eletrofisiológicas de macacos foram observadas e colocados em comparação a medidas psicofísicas, empregando os mesmos estímulos empregados em humanos. Posteriormente a injeção de capsaicina, a dor a picada empregando um filamento von Frey de 225 mN elevou seis vezes em relação aos valores previamente obtidos.

Sucedendo a injeção os limiares de dor ao calor reduziram de 45° C para 34° C nos locais bem próximos ao local da injeção. Neurônios provenientes do trato espinotalâmico são categorizados como nociceptivos específicos ou WDR. Esse experimento evidenciou que a capsaicina consegue excitar mais da metade dos neurônios WDR do que NS, o que sugere uma predominância em termos de contribuição dos neurônios de ampla faixa dinâmica pela dor induzida pela capsaicina.

Conclui-se que a atividade do trato espinotalâmico contribui para dor e níveis de hiperalgesia resultantes da lesão cutânea e que as respostas desse são mediadas pelo aumento da sensibilização central. Esses resultados corroboram com a hipótese de que certos neurônios da medula espinhal são sensibilizados durante a hiperalgesia.

2.3 Capsaicina Tópica

No ano de 1985, Helme e McKernan, observaram o potencial da capsaicina, que ao ser aplicada na pele causa uma vasodilatação que estendem a área de aplicação. Essa resposta apenas acontece na presença de uma inervação sensorial intacta. Nesse estudo os colaboradores observaram a capacidade da substância em gerar dor e *flare* em sítios distintos do corpo em 220 participantes. Contudo esse estudo não abrangeu nenhum sítio da região trigeminal.

Hardin et al. (2001), almejou estabelecer um padrão tópico simplório de emprego de capsaicina, limitando a região de aplicação e induzindo uma dor limitada. O segundo foco foi de gerar uma área controlada de alodinia, para se sustentar ao longo todo o protocolo. Uma solução de capsaicina 10% foi acrescida à um composto a base de água, culminando em um creme de capsaicina a 1%. 50 ml da solução foi posta em um plástico transparente, com uma área total de 0,64cm² que foi colocada no antebraço de 13 pessoas sadias. A capsaicina foi trocada duas vezes, a cada 45 minutos totalizando 2:15 horas. A magnitude da dor foi mensurada a cada 10 minutos. Também foram observadas as áreas de *flare*, alodinia e hiperalgesia em cada um dos participantes a cada 45 minutos após a sua aplicação. A área de *flare* foi de 10,8 cm², ao passo de que a alodinia e hiperalgesia a picada foram constadas de 47,9 e 98,9 cm² respectivamente. Assim concluiu-se que a perpetuação da área de alodinia depende da entrada periférica contínua, dessa maneira sua exposição constante ou o emprego de uma capsaicina ligada a estimulação por calor é importante em sua avaliação.

Quesada et al. (2021), propôs inúmeros modelos de dor. Nesse houve a inclusão de vários artigos, os quais associavam a capsaicina à dor. Baseado nos autores a capsaicina tópica é um modelo seguro e fácil de se empregar. Dentre suas

qualidades estão seu fácil manuseio e de induzir uma dor branda em relação a capsaicina intradérmica. Apesar de suas dificuldades e limitações tais quais a duração de aplicação e de hiperalgesia, essas desavenças podem ser compensadas pela aplicação de calor concomitantemente para aumentar a estabilidade e o quanto se perpetua a hipersensibilidade. Também se evidenciou que a superfície de aplicação se correlacionou de maneira positiva com a área de hiperalgesia secundária.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo primário desse estudo foi comparar as mudanças de sensibilidade mecânica em uma área de hiperalgesia secundária gerada por capsaicina tópica de um sítio espinal (antebraço) e um trigeminal (masseter). Nossa hipótese foi que a capsaicina tópica alteraria a sensibilidade dolorosa mecânica e esses resultados iriam diferir entre a inervação espinal e trigeminal.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Amostra e Ética

Esse estudo foi conduzido a partir de testes em 40 indivíduos saudáveis, todos da região de Piracicaba – SP, os quais foram procurados na Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas – SP, Brasil. Os indivíduos selecionados foram captados a partir da divulgação do estudo no próprio campus. Ainda, a fim de obter uma amostra representativa da população e evitar quaisquer problemas, o número de participantes foi equivalente entre os sexos.

Os preceitos empregados foram: a) idade maior que 18 anos; b) boa condição de saúde geral, sem que o pretendente tenha nenhum relato de dor crônica, ou episódios de dor orofacial e cefaleia nos últimos 30 dias, ou mais do que 11 episódios nos últimos 12 meses. Com relação aos preceitos empregados para excluir os candidatos foram: a) portador de condições sistêmicas não controladas; b) existência de alterações congênitas ou de desenvolvimento, e.g, aplasia, hiperplasia, displasia ou neoplasias; c) portadores de disfunções neurológicas, renais, hepáticas, cardíacas, reumáticas ou psiquiátricos; d) gravidez ou lactação; e) utilização de medicamentos de ação central. A tomada da história médica e odontológica foi o mais importante para se obter informações para se determinar os critérios de não aptidão do candidato.

Esse projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa em Humanos da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (CEP-FOP), Universidade Estadual de Campinas (CAEE: 42779821.0.0000.5418). O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi obtido por meio da assinatura dos indivíduos após explicação detalhada da pesquisa e garantia de que o indivíduo concordou em participar do estudo. Os testes foram realizados no laboratório de Fisiologia do Departamento de Biociências da FOP/UNICAMP.

4.2 Variável de Desfecho

A variável primária desse estudo foi o limiar de dor mecânica (MPT) avaliado dentro da área de hiperalgesia secundária induzida por capsaicina tópica. O MPT foi realizado de acordo com as recomendações da Rede Germânica de Dor Neuropática, (Rolke et al., 2006). Foram usados um conjunto padronizado de filamentos de von Frey (Aesthesio, DanMic Global LLC. San Jose CA, USA) que exercem forças entre 0, 008 a 300g. No momento dos testes foi requisitado aos participantes que permanecessem com seus olhos cerrados. O MPT é feito alternando os filamentos de von Frey de maneira que a força seja ampliada gradativamente seguindo a ordem dos filamentos até que o participante alegue uma sensação de picada levemente dolorosa. O limiar final é a média geométrica de cinco séries de estímulos ascendentes e descendentes.

É importante ressaltar que os dados aqui apresentados são parciais e que o estudo principal contém uma maior quantidade de variáveis.

4.3 Desenho Experimental

Nesse ensaio clínico cruzado, a capsaicina tópica (1%) foi aplicada em áreas e sessões distintas. As administrações foram realizadas em 2 sessões sucessivas e separadas por um intervalo de 24 horas. Os locais de aplicação foram o terço distal da face volar do antebraço direito e região central do masseter direito. Nessas regiões, foram aplicados 0, 25 g do creme de capsaicina em uma área circular de 2cm² num período de 45 minutos. Antes da aplicação, a área foi higienizada com álcool 70 e um círculo de 2cm² foi marcado na pele com o uso de uma caneta, na sequência, a capsaicina foi administrada com ajuda de uma espátula descartável e um plástico foi posicionado sobre o creme para dificultar uma eventual evaporação da capsaicina. A sequência das áreas de aplicação entre as sessões foi aleatória para cada participante. Posteriormente o limiar de dor mecânico foi avaliado dentro da área de hiperalgesia secundária. Ademais, uma sessão basal foi conduzida para se avaliar a flutuação natural da sensibilidade. Nessa sessão, os sítios eram avaliados duas vezes após um intervalo de 20 minutos sem nenhum tipo de condicionamento da pele.

4.4 Avaliação da área de hiperalgesia secundária

O mapeamento da região de hiperalgesia à picada foi mensurada usando-se um filamento de von Frey de nylon de 180 g (Aesthesio, DanMic Global LLC. San Jose CA, USA). O teste iniciou em uma área relativamente longe a área de aplicação do creme e os estímulos foram aplicados de maneira dinâmica, i.e., os filamentos foram deslocados em direção à área de aplicação em intervalos de 1 cm. Foram delimitadas oito linhas radiais. Em cada raio, o ponto no qual os participantes comunicaram que o estímulo passou a ser evidentemente mais doloroso foi marcado com uma caneta. Esses pontos foram interligados resultando em um octógono que representou a área de hiperalgesia à picada, que é considerada uma manifestação da hiperalgesia secundária. O limite da zona de hiperalgesia secundária foi confirmado por uma reavaliação próximo da borda da zona de hiperalgesia secundária.

4.5 Análise estatística

Para o cálculo amostral foram ponderados os seguintes critérios: tamanho de efeito f de 0, 2 para as diferenças nos limiares elétricos entre a região trigeminal e espinhal em um modelo de análise de variância mista com dois fatores intrasujeitos, uma correlação entre as medidas repetidas de pelo menos 0, 65, um poder de 80%, um nível de significância de 5% e uma taxa de abandono prevista de cerca de 10%. Com isso, o cálculo do tamanho da amostra foi de pelo menos 40 participantes (20 participantes do sexo masculino e 20 do sexo feminino).

As variáveis principais desse estudo estão reportadas por meio da média e desvio padrão ou pela A distribuição normal foi avaliada com o ajuda do teste Kolmogorov-Smirnov e uma transformação logarítmica foi utilizada.

Modelo de ANOVA foi aplicado a fim de avaliar possíveis diferenças entre os sítios, sexos e aplicação de capsaicina. Foi aplicado ANOVA com dois fatores intrasujeitos, i.e., tempo (4 níveis - basal 1, basal 2, pré capsaicina e pós capsaicina) e sítio (2 níveis - masseter e antebraço) e o fator intrasujeito sexo (2 níveis - masculino e feminino). As análises de comparação múltipla foram realizadas utilizando o teste de Bonferroni. O nível de significância foi de 5% ($p < 0.050$).

5 RESULTADOS

Das 40 pessoas que foram submetidas aos testes desta pesquisa, todos concluíram os testes. A idade média dos participantes foi de 26 anos.

Os valores do MPT foram ligeiramente superiores após a capsaicina em relação a todos os outros tempos, demonstrando um hipoalgesia [F 2, 36 =10, 278; $p=0,000$]. Contudo, essa discrepância entre os tempos não foi constatada no antebraço [F 2, 36 =1, 090; $p=0,366$]. Também houve diferença nos resultados do MPT entre os locais apenas nos voluntários do sexo masculino [F 1, 38 =6, 750; $p=0,013$]. Os resultados de MPT foram superiores em masseter em relação ao antebraço após a administração de capsaicina [F 1, 38 =9, 164; $p=0,004$]. Essa diferença só foi observada em indivíduos do sexo masculino [F 1, 38 =13, 493; $p=0,001$]. As figuras 1-6 ilustram os valores do MPT antes e após a capsaicina nos sítios trigeminal e espinal para homens e mulheres.

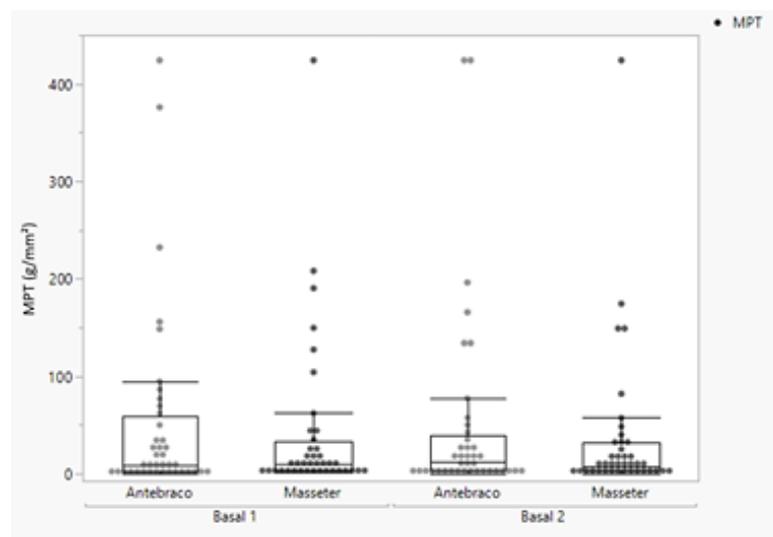


Figura 1 - Gráfico boxplot com os valores basais de MPT.

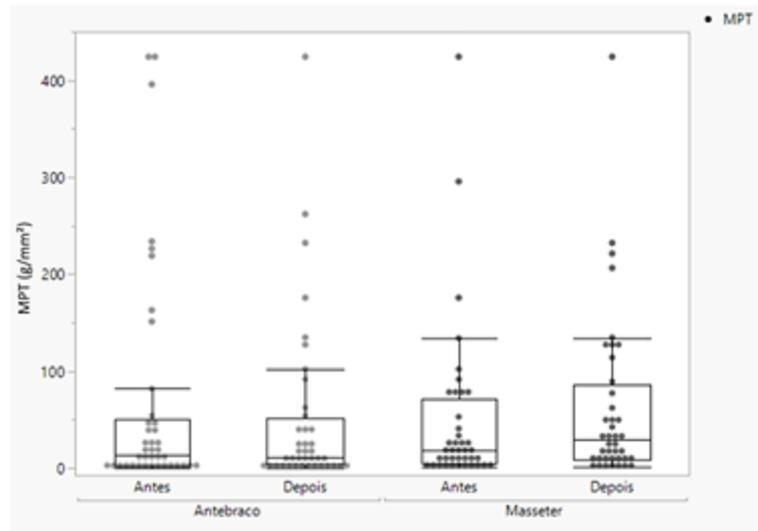


Figura 2 - Gráfico boxplot com os valores de MPT antes e depois da aplicação tópica de capsaicina.

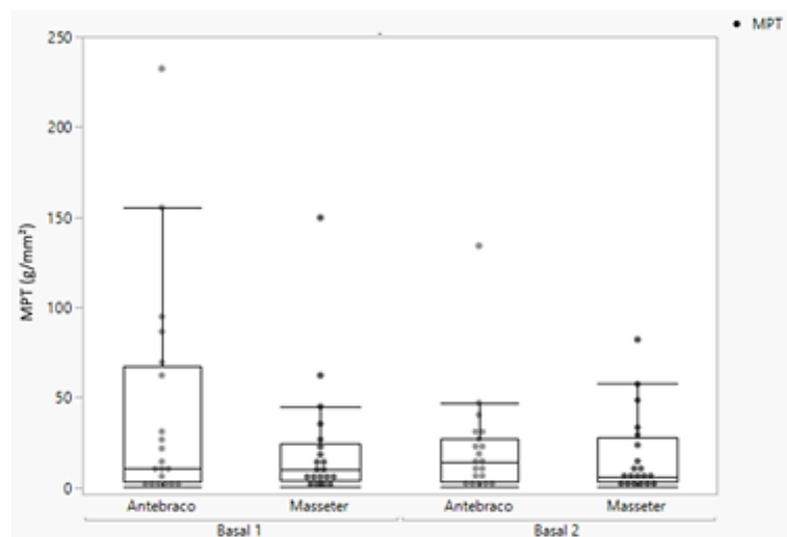


Figura 3 - Gráfico boxplot com os valores basais de MPT em mulheres.

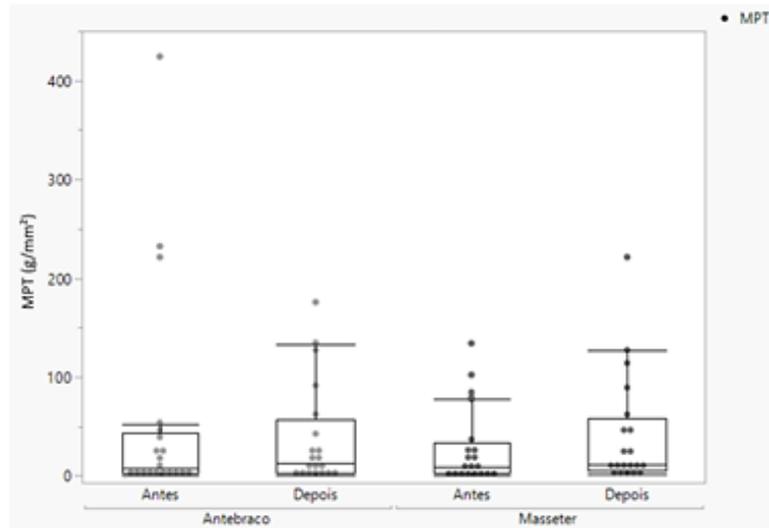


Figura 4 - Gráfico boxplot com os valores de MPT antes e depois da aplicação tópica de capsaicina em mulheres.

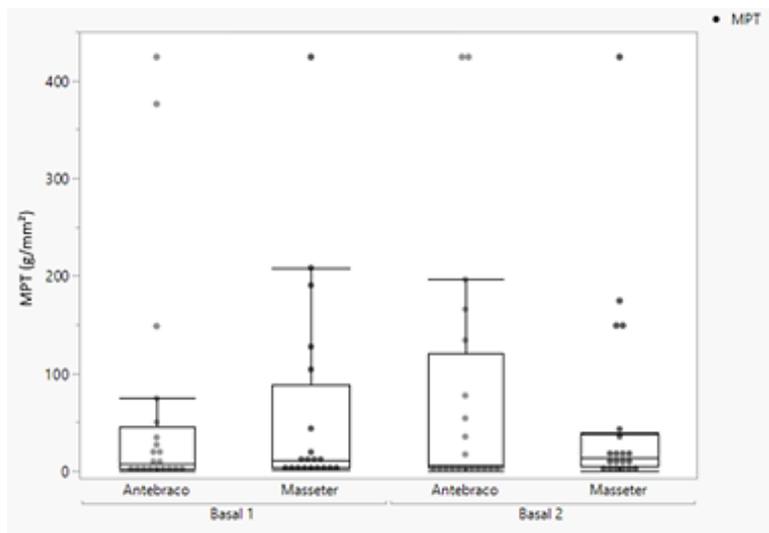


Figura 5 - Gráfico boxplot com os valores basais de MPT em homens.

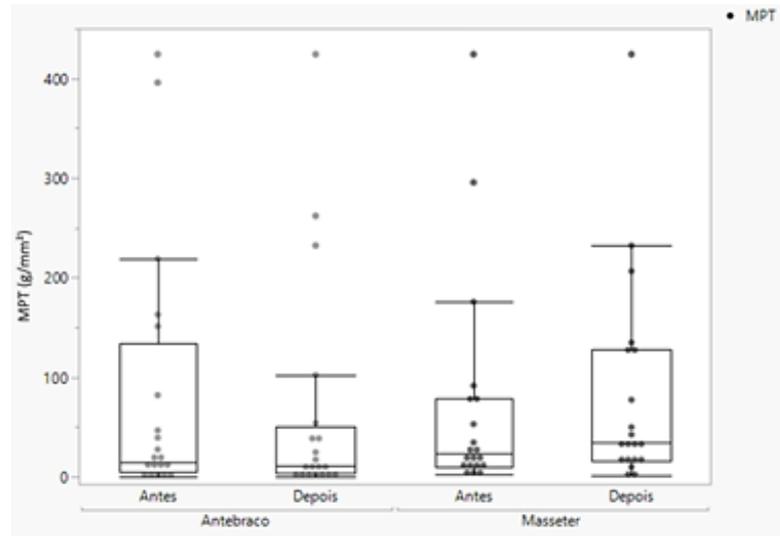


Figura 6 - Gráfico boxplot com os valores de MPT antes e depois da aplicação tópica de capsaicina em homens.

6 DISCUSSÃO

O intuito desse estudo foi avaliar as prováveis dissimilaridades entre os sistemas trigeminal e espinal ao uso da capsaicina tópica. Nesse sentido, ficou evidenciado importantes diferenças entre as regiões em resposta a capsaicina. Especificamente na região do trigêmeo, os efeitos da capsaicina foram imprevistos, considerando as evidências demonstradas dos efeitos somatossensoriais deste modelo de dor, (Quesada et al., 2021). Com isso, o principal fato encontrado foi que a sensibilização central devida à capsaicina tópica aparentemente é de menor intensidade na região trigeminal em relação à espinal.

As inúmeras evidências anteriores indicam que a capsaicina induz uma clara área de hiperalgia secundária, (Harding et al., 2001). E uma das principais manifestações dessa hiperalgia secundária é a redução no MPT, o que indica uma maior sensibilidade após a aplicação da capsaicina. Por exemplo, alguns estudos, como o realizado por Magerl, et al. (2001), indicam uma redução no MPT após injeção de capsaicina no antebraço. Ainda, é importante notar que esses efeitos de hiperalgia não são tão robustos quando da aplicação tópica. Isso explica, por exemplo, a ausência de uma redução significativa do MPT em nosso estudo após aplicação de capsaicina no antebraço. Entretanto, os efeitos da capsaicina na região trigeminal foram opostos ao que se esperar, i.e., o MPT aumentou após a capsaicina, o que sugere uma hipoalgia secundária e não uma hiperalgia.

Os resultados demonstraram uma redução nas modalidades somatossensorial avaliada na região do trigêmeo isso sugere a presença e a preeminência de mecanismos inibitórios que também são ativados em resposta ao estímulo nociceptivo da capsaicina empregada topicamente. Os resultados apresentados pelo MPT sustentam essa afirmação. Neste teste os valores foram maiores após a capsaicina apenas na região do masseter, o que sugere uma hipoalgia. O alto valor do MPT é indicativo de que o indivíduo, ao ser pressionado com o uso dos filamentos, tornou-se menos sensível a capsaicina tópica. Mais um dado curioso é de que, apesar de vários estudos relatarem que a face é mais sensível, regiões inervadas pelo trigêmeo demonstraram menor sensibilidade à dor em relação a outras regiões. Isso pode ter sido devido a uma provável diferença nos mecanismos centrais.

Os achados desse estudo são sugestivos de que a sensibilização central pela capsaicina na região trigeminal aparenta ser menos potente do que à região espinal. Assim, mostra-se necessário a condução de novos estudos afim de compreender melhor os mecanismos dessa diferença. Uma hipótese levantada é de que possam existir diferenças periféricas e/ou centrais que culminam em tais diferenças. Na região periférica, a espessura da pele e a densidade de receptores podem influenciar na resposta a capsaicina. Há estudos que apontam que a espessura da pele pode influenciar na resposta a capsaicina (Helme et al. 1985). Também se cogitou que o tempo de exposição da capsaicina possa ter influenciado nos resultados, visto que no estudo foi empregado a substância em seu modelo tópico, enquanto a mesma sendo injetável apresenta-se mais robusta. Outrossim, é importante destacar que as possíveis diferenças entre os sexos necessitam de maiores estudos para serem confirmadas ou avaliar se a ausência de diferença nas mulheres é fruto do tamanho da amostra. De qualquer maneira, esses resultados necessitam ser replicados para se confirmarem as hipóteses que aqui são confirmadas de maneira incipiente.

7 CONCLUSÃO

Os sistemas trigeminal e espinal demonstram discrepâncias na resposta à hiperalgesia secundária em resposta à capsaicina. Assim, o achado substancial dessa pesquisa foi que, a sensibilização central gerada após o uso do creme de capsaicina, aparenta ser menos preeminente na área trigeminal em do que à região espinais. Esses fatos podem orientar pesquisas a respeito dos diferentes mecanismos e as particularidades da dor orofacial, para que eventualmente, a abordagem das dores orofaciais seja mais específica.

REFERÊNCIAS^{1*}

Baron R, Hans G, Dickenson AH. Peripheral input and its importance for central sensitization. *Ann Neurol*. 2013;74(5):630–6.

Baron R, Hans G, Dickenson AH. Peripheral input and its importance for central sensitization. *Ann Neurol*. 2013;74(5):630–6.

Baron R, Maier C, Attal N, Binder A, Bouhassira Di, Cruccu G, et al. Peripheral neuropathic pain: A mechanism-related organizing principle based on sensory profiles. *Pain*. 2017;158(2):261–72

Baumann TK, Simone DA, Shain CN, LaMotte RH. Neurogenic hyperalgesia: The search for the primary cutaneous afferent fibers that contribute to capsaicin-induced pain and hyperalgesia. *J Neurophysiol*. 1991;66(1):212–27.

D'amico-Martel A, Noden DM. Contributions of placodal and neural crest cells to avian cranial peripheral ganglia. *Am J Anat*. 1983;166(4):445–68. 40. Sessle BJ. Acute and chronic craniofacial pain: brainstem mechanisms of nociceptive transmission and neuroplasticity, and their clinical correlates. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2000;11(1):57–91.

Dirks J, Petersen KL, Dahl JB. The heat/capsaicin sensitization model: A methodologic study. *J Pain*. 2003;4(3):122–8.

Dubner R, Bennett GJ. Spinal and trigeminal mechanisms of nociception. Vol. 6, *Ann. Rep. Neurosci*. 1983.

Enax-Krumova EK, Pohl S, Westermann A, Maier C. Ipsilateral and contralateral sensory changes in healthy subjects after experimentally induced.

Fein A. Cells That Sense Pain by [Internet]. 2011;106.

^{1*} De acordo com as normas da UNICAMP/FOP, baseadas na padronização do International Committee of Medical Journal Editors - Vancouver Group. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o PubMed.

Gazerani P, Staahl C, Drewes AM, Arendt-Nielsen L. The effects of Botulinum Toxin type A on capsaicin-evoked pain, flare, and secondary hyperalgesia in an experimental human model of trigeminal sensitization. *Pain*. 2006;122(3):315–25.

Harding LM, Murphy A, Kinnman E, Baranowski AP. Characterization of secondary hyperalgesia produced by topical capsaicin jelly - A new experimental tool for pain research. *Eur J Pain*. 2001;5(4):363–71.

Helme RD, McKernan S. Neurogenic flare responses following topical application of capsaicin in humans. *Ann Neurol*. 1985;18(4):505–9.

Jancso LN, Jancso-Gabor A, Szolcsanyi J. Direct evidence for neurogenic inflammation and its prevention by denervation and by pretreatment with capsaicin. Vol. 31, *Br. J. Pharmac. Chemother.* 1967.

LaMotte RH, Shain CN, Simone DA, Tsai EFP. Neurogenic hyperalgesia: Psychophysical studies of underlying mechanisms. *J Neurophysiol*. 1991;66(1):190–211.

Lopes DM, Denk F, McMahon SB. The Molecular Fingerprint of Dorsal Root and Trigeminal Ganglion Neurons. *Front Mol Neurosci*. 2017 Sep 26;10.

Lötsch J, Oertel BG, Utsch A. Human models of pain for the prediction of clinical analgesia. *Pain*. 2014;155(10):2014–21.

Magerl W, Treede RD. Secondary tactile hypoesthesia: a novel type of pain-induced somatosensory plasticity in human subjects. *Neurosci Lett*. 2004 May 6;361(1-3):136-9.

Magerl W, Wilk SH, Treede RD. Secondary hyperalgesia and perceptual wind-up following intradermal injection of capsaicin in humans. *Pain*. 1998;74(2–3):257–68.

McMahon and MK. Wall and Melzack's Textbook of Pain. Sixth Edit. Philadelphia: Elsevier/Churchill Livingstone. Elsevier Ltd; 2006. 94–110

Quesada C, Kostenko A, Ho I, Leone C, Nochi Z, Stouffs A, et al. Human surrogate models of central sensitization: A critical review and practical guide. *Eur J Pain* (United Kingdom). 2021;25(7):1389–428.

Rolke R, Baron R, Maier C, Tölle TR, Treede RD, Beyer A, et al. Quantitative sensory testing in the German Research Network on Neuropathic Pain (DFNS): Standardized protocol and reference values. *Pain*. 2006;123(3):231–43.

Shabes P, C Rosenberger D, Henrich F, Greffrath W, Treede RD, Baumgärtner U, et al. Modality-specific facilitation of noninjurious sharp mechanical pain by topical capsaicin. Vol. 162, *Pain*. 2021. 275–286 p.

Simone DA, Sorkin LS, Oh U, Chung JM, Owens C, LaMotte RH, et al. Neurogenic hyperalgesia: Central neural correlates in responses of spinothalamic tract neurons. *J Neurophysiol*. 1991;66(1):228–46.

Treede RD, Magerl W. Multiple mechanisms of secondary hyperalgesia. *Prog Brain Res*. 2000;129:331–41.

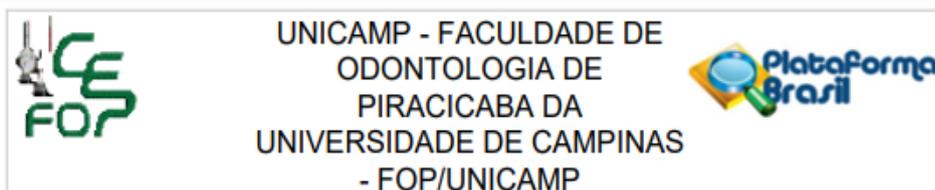
Treede RD, Meyer RA, Raja SN, Campbell JN. Peripheral and central mechanisms of cutaneous hyperalgesia. *Prog Neurobiol*. 1992;38(4):397–421.

ANEXOS

Anexo 1 – Verificação de originalidade e prevenção de plágio

| RELATÓRIO DE ORIGINALIDADE | | | |
|----------------------------|---|-------------|-----------------------|
| 18% | 18% | 13% | % |
| ÍNDICE DE SEMELHANÇA | FONTES DA INTERNET | PUBLICAÇÕES | DOCUMENTOS DOS ALUNOS |
| FONTES PRIMÁRIAS | | | |
| 1 | repositorio.unicamp.br Fonte da Internet | | 3% |
| 2 | dspace.plymouth.ac.uk Fonte da Internet | | 2% |
| 3 | www.tandfonline.com Fonte da Internet | | 1% |
| 4 | teses.usp.br Fonte da Internet | | 1% |
| 5 | link.springer.com Fonte da Internet | | 1% |
| 6 | www.fop.unicamp.br Fonte da Internet | | 1% |
| 7 | openscience.ub.uni-mainz.de Fonte da Internet | | 1% |
| 8 | www.teses.usp.br Fonte da Internet | | 1% |
| 9 | chdr.nl Fonte da Internet | | <1% |

Anexo 2 – Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Diferenças somatossensoriais entre o sistema espinhal e trigeminal em resposta à capsaicina tópica

Pesquisador: ISABELA COELHO NOVAES

Área Temática:

Versão: 6

CAAE: 42779821.0.0000.5418

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia de Piracicaba - Unicamp

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.752.308

Apresentação do Projeto:

O parecer inicial é elaborado com base na transcrição editada do conteúdo do registro do protocolo na Plataforma Brasil e dos arquivos anexados à Plataforma Brasil. Os pareceres de retorno, emendas e notificações são elaborados a partir dos dados e arquivos da última versão apresentada.

Trata-se de SOLICITAÇÃO DE EMENDA (E2) AO PROTOCOLO originalmente aprovado em 27/02/2021 e emendado em 15/09/2021 (E1) para alterações inclusão de novo pesquisador e extensão de cronograma. O parecer foi ajustado de acordo com a documentação apresentada. A solicitação está detalhadamente descrita ao final do parecer.

Pendência 1 (atendida em 25/02/21)- A EQUIPE DE PESQUISA citada na capa do projeto de pesquisa inclui ISABELA COELHO NOVAES, (Cirurgiã-Dentista, Mestranda no PPG em Odontologia, área de Fisiologia, da FOP-UNICAMP, Pesquisadora responsável, Orientanda), ITAIUÁ TEZOTO FERREIRA (Graduando no curso de Odontologia da FOP-UNICAMP, Incluído em E1) e YURI MARTINS COSTA (Cirurgião Dentista, Docente da FOP-UNICAMP, Orientador), o que é confirmado na declaração dos pesquisadores e na PB.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PIRACICABA, 10 de Novembro de 2022

Assinado por:
jacks jorge junior
(Coordenador(a))