

Artigo de Revisão

Mecanismos Celulares e Moleculares da Dor Inflamatória. Modulação Periférica e Avanços Terapêuticos *

Wilson Andrade Carvalho¹, Lino Lemônica²

Carvalho WA, Lemônica L - Molecular and Cellular Mechanisms of Inflammatory Pain. Peripheral Modulation and Therapeutic Advances

KEY WORDS - PAIN: agut, inflammatory, modulation, mecanismos

O processo inflamatório ocorre como uma resposta do tecido à injúria celular e caracteriza-se por um fenômeno complexo, dinâmico e multimediado, podendo manifestar-se a partir de qualquer agente lesivo, como físico (queimadura, radiação, trauma), biológico (microorganismo, reações imunológicas) ou químico (substância caustica). Este processo envolve uma complexa cascata de eventos bioquímicos e celulares, que incluem extravasamento de fluidos, ativação enzimática, migração celular, liberação de mediadores, sensibilização e ativação de receptores, lise tecidual e de reparo^{1,2}.

Os macrófagos e os leucócitos polimorfonucleares recrutados pelos sítios de lesão celular, desempenham um papel fundamental no desenvolvimento do processo inflamatório mediante a liberação de fatores solúveis de regulação da fase aguda denominados de citocinas, destacando-se inicialmente a liberação de interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6) e fator α de necrose tumoral (TNF- α)³.

A migração dos leucócitos envolve um rígido mecanismo de regulação de adesão destas células ao endotélio e subsequente migração transendotelial. Esta interação adesiva com o endotélio constitui um processo dinâmico envolvendo a ativação tanto do endotélio quanto dos leucócitos, resultando na liberação de um grande número de moléculas de adesão, incluindo as selectinas e integrinas, fatores quimiotáticos conhecidos como quimiocinas, óxido nítrico e receptores de adesão. A interleucina-1 e o TNF- α são capazes de ativar as células endoteliais para produzirem selectinas iniciando o processo de adesão^{4,5}.

Além disso os macrófagos e neutrófilos, bem como as células teciduais lesadas, liberam uma variedade de substâncias oxidantes e enzimas criando um estresse oxidativo, no qual espécies reativas de oxigênio (ROS) e nitrogênio são produzidas em abundância, promovendo a indução de um grande número de fatores transcricionais, como NF-kB, dímero fosjun e AP-1, bem como perda dos estoques energéticos celulares, rompimento de mitocôndrias com liberação de enzimas líticas, peroxidação e

* Estudo realizado na Universidade Federal da Bahia (UFBA e na Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP

1. Professor Titular de Farmacologia da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC). Professor adjunto de Farmacologia e Toxicologia da Universidade Federal da Bahia e da Escola de Medicina e Saúde Pública (Salvador, BA), Médico Anestesiologista da Maternidade Clímério de Oliveira da UFBA e Doutorando do Curso de Pós-Graduação em Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP

2. Professor Assistente Doutor de Anestesiologia da Faculdade de Medicina da Universidade Estadual de São Paulo (UNESP), Botucatu, SP, Presidente da Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor

Apresentado em 28 de agosto de 1997

Aprovado para publicação em 3 de novembro de 1997

Correspondência para Dr. Wilson Andrade Carvalho
Av. Augusto Lopes Pontes, 641/301
Costa Azul
41750-170 Salvador, BA

© 1998, Sociedade Brasileira de Anestesiologia

destruição de membranas e dano em DNA. Estes fatores de transcrição estimulam produção de uma segunda onda de produtos gênicos que codificam enzimas com capacidade de eliminar radicais livres (catalase), com atividade de reparo tecidual (colagenase, estromelina), bem como a produção de citocinas, receptores de superfície celular, moléculas de adesão, fatores de crescimento e de outros mediadores inflamatórios^{6,7}.

Além da formação de ROS uma série de substâncias endógenas, também denominadas de mediadores, são produzidas no processo inflamatório pelos leucócitos e plaquetas circulantes, por células do endotélio vascular, por células imunes, incluindo os mastócitos, e por células do sistema nervoso periférico. Entre tais substâncias podemos incluir principalmente a bradicinina, serotonina, produtos da cascata do ácido araquidônico, adenosina, histamina, neuropeptídeos como a substância P e citocinas liberadas pelas células imunes, destacando-se como mais importantes a interleucina-1 β (IL-1 β), fator α de necrose tumoral (TNF- α) e fator de crescimento do nervo (NGF).

Os mediadores inflamatórios uma vez liberados promovem de forma sinérgica uma alteração no mecanismo de transdução periférica do estímulo nociceptivo aumentando a sensibilidade de transdução dos nociceptores de elevado limiar, com conseqüente redução no limiar de percepção do estímulo doloroso, exagerada resposta a estímulos nociceptivos supralimiais (hiperalgesia) e dor espontânea (alodínia)^{8,9}.

Além disso a estimulação dos nociceptores de aferentes primários, produz um reflexo axônico local, resultando na liberação de neuropeptídeos, particularmente, substância P (SP), neurocinina A (NKA) e do peptídeo geneticamente relacionado com a calcitonina (CGRP), contribuindo para uma maior estimulação do processo inflamatório e intensificação da hiperalgesia. A substância P liberada produz degranulação de mastócitos, vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular com ex-

travasamento de plasma, aumento da produção e liberação de enzimas lisossômicas, liberação de prostaglandinas e de interleucina-1 e interleucina-6. Pode ainda estimular a síntese de óxido nítrico (NO) pelo endotélio vascular, causando vasodilatação e extravasamento de mediadores inflamatórios para os tecidos e dessa forma estimulando e sensibilizando os nociceptores de terminais nervosos. A CGRP também produz extravasamento de plasma, vasodilatação e hiperalgesia¹⁰.

Apesar do grande número de analgésicos e antiinflamatórios disponíveis atualmente para uso clínico, ainda não dispomos do analgésico ideal, com maior especificidade, de menor toxicidade e com indicação para algumas modalidades de dor ainda de difícil terapêutica, notadamente as de origem neurogênicas. O desenvolvimento da biologia molecular tem contribuído para o grande progresso na descoberta das drogas analgésicas mais modernas. Este grande avanço da farmacologia tem sido possível graças aos recentes conhecimentos dos mecanismos moleculares da fisiopatologia da dor, com a identificação de importantes alvos envolvidos na transmissão nociceptiva, principalmente receptores, enzimas, sistemas de transporte, canais iônicos e da modulação da liberação de neuromediadores. Mais recentemente tem ocorrido substancial progresso no conhecimento dos eventos regulatórios ao nível da transcrição gênica, extremamente importantes na modulação da nocicepção, notadamente na dor crônica. É possível que os analgésicos do futuro possam ter alguma intervenção a este nível, no momento em que os mecanismos bioquímicos de controle da transcrição tornarem-se mais conhecidos. Tem sido também bastante desafiador para os pesquisadores o esclarecimento dos mecanismos de modulação, envolvendo as diversas interações entre os diferentes mediadores e como tais eventos influenciam na transcrição gênica. Certamente que o domínio desses conhecimentos poderá trazer importantes informações para o desenvolvimento dos analgésicos do futuro.

O objetivo desta revisão é o de apresentar os principais avanços ocorridos na terapêutica da dor inflamatória baseados notadamente nos atuais conhecimentos dos mecanismos fisiopatológicos e moleculares da dor inflamatória periférica.

MECANISMOS PERIFÉRICOS DA NOCICEPÇÃO E DA HIPERALGESIA E ESTRATÉGIAS ATUAIS PARA O TRATAMENTO DA DOR INFLAMATÓRIA

Embora os mecanismos moleculares da sensibilização central *wind up* tenham sido estabelecidos, os mecanismos de sensibilização periférica ainda não foram completamente elucidados. Entretanto, o conhecimento da biologia molecular dos receptores permitiu extraordinário progresso no entendimento do mecanismo de ação de diversos neurotransmissores e drogas envolvidas na modulação central e periférica da nocicepção. O mecanismo de transdução neuroquímica da dor envolve, geralmente, a interação dos mediadores inflamatórios com um canal iônico da membrana tipo voltagem-dependente (canais de sódio, potássio e cálcio), com canais iônicos operados por receptor (receptor NMDA, receptor colinérgico nicotínico), com receptores associados à tirosina cinase (NGF), ou ainda com receptores da membrana que usualmente encontram-se acoplados a proteínas regulatórias denominadas de proteínas G, como acontece com os receptores das prostaglandinas e bradicinina¹⁰⁻¹⁵.

Tais mecanismos de transdução nociceptiva geralmente envolvem a atuação dos mediadores inflamatórios em receptores específicos que se encontram acoplados a sistemas efetores, algumas vezes exigindo a intermediação de uma terceira proteína denominada de proteína G, que quando devidamente ativadas promovem a formação de segundo mensageiros, como o AMP cíclico (adenosina 3,5-monofosfato cíclico-AMPC) e GMP cíclico (guanosina

3,5-monofosfato cíclico - GMPc), responsáveis pela ativação de proteínas cinases intracelulares, ou de terceiro mensageiros, como o Ca^{++} , que vai interferir em outras proteínas celulares e na regulação de canais iônicos. Os principais sistemas efetores dos receptores dos mediadores inflamatórios são representados pela adenililciclase, guanililciclase, fosfolipase C (PLC), fosfolipase A₂ (PLA₂), tirosina cinase e canais iônicos. Os receptores das prostaglandinas, bradicinina, histamina, serotonina e adenosina (A₂) encontram-se acoplados à proteína G, porém a diferentes sistemas efetores. Por exemplo, os receptores das prostaglandinas e os receptores H₂ da histamina estão ligados à adenilciclase, enquanto o receptor H₁ da histamina e o receptor B₂ da bradicinina estão acoplados à fosfolipase C.

Os mediadores inflamatórios ao interagirem com tais receptores ativam os respectivos sistemas efetores promovendo a regulação funcional dos receptores, que incluem, a depender do estímulo, uma regulação crescente, ou uma regulação decrescente. O fenômeno de regulação crescente, ou de hiperalgisia, pode ser observado, por exemplo, por pequena proporção de nociceptores denominados *silenciosos* ou *latentes*, encontrados em fibras aferentes que inervam a pele e vísceras, que podem apresentar-se irresponsivos a estímulos de grande intensidade, mas quando influenciado por mediadores inflamatórios exibem atividade espontânea ou tornam-se sensibilizados e responsivos a estímulos sensoriais. Em outras situações, pode haver uma regulação crescente por determinados mediadores inflamatórios que quando liberados, como ocorre com o fator de crescimento do nervo (NGF) e citocinas, promovem a expressão de genes que codificam a síntese da proteína do receptor ou do canal iônico, desencadeando uma hiperalgisia ou uma resposta mais intensa do estímulo nociceptivo.

Diversos mediadores inflamatórios tem sido identificados como potencialmente hiperalgésicos, incluindo a interleucina-1 (IL-1), inter-

leucina-8 (IL-8), fator de crescimento do nervo (NGF), prostaglandinas, leucotrienos, bradiginina, serotonina, adenosina, histamina e substância P. Acredita-se que alguns destes mediadores possam agir diretamente no nociceptor promovendo uma redução no limiar de sensibilidade (prostaglandina, serotonina, adenosina e alguns metabólitos eicosanóides), enquanto outros agiriam produzindo indiretamente a hiperalgesia pela ação inicial em outros tipos de células, como por exemplo em neurônios pós-ganglionares do sistema nervoso autônomo simpático ou em neutrófilos e macrófagos promovendo a liberação de outros mediadores hiperalgésicos¹⁶.

Estudos mais recentes demonstram uma importante participação moduladora das fibras simpáticas na excitabilidade de fibras aferentes C e em determinadas modalidades de dor crônica, às vezes denominadas de síndromes dolorosas simpaticamente mantidas, como na distrofia simpático reflexa e causalgia. O simpático pode estar envolvido em uma variedade de situações algicas, como por exemplo no herpes zoster agudo, em traumas de tecidos, em neuropatias metabólicas (diabetes, etc) em lesão de nervos periféricos.

Tem sido constatado que o mecanismo neural da hiperalgesia promovida pela maioria dos mediadores, incluindo as citocinas (IL-1, IL-6 e TNF- α), prostaglandinas, catecolaminas, serotonina e bradiginina envolve a elevação nas concentrações de AMP cíclico e de Ca⁺⁺ no interior da célula neuronal, que atuam como segundo mensageiros^{3,10,16-18}.

Vale também ressaltar que as células possuem mecanismos eficientes para degradar o AMPc (fosfodiesterases), para tamponar e seqüestrar o Ca⁺⁺, assim como para inativar as enzimas reatoras e transportar proteínas que tenham sido ativadas. Assim, ocasionalmente pode também ocorrer uma regulação decrescente ou dessensibilização do receptor, seja pela internalização do receptor, pela liberação de segundo mensageiros inibitórios, através de modulação da transcrição gênica, ou ainda,

através de mecanismos de *feedback* (retroalimentação) de modulação dos sistemas efetores intracelulares e de liberação de mediadores inflamatórios^{13-15,19}.

Tem sido também constatado que os agentes que estimulam a formação de GMP cíclico produzem uma regulação decrescente dos nociceptores. Parece que a regulação funcional crescente ou decrescente depende do balanço entre as concentrações de AMPc/GMPc das vias nociceptivas¹⁹⁻²¹.

O conhecimento da fisiopatologia da dor, com a identificação precisa dos mediadores inflamatórios liberados e seus mecanismos moleculares de hiperalgesia, é de fundamental importância no desenvolvimento das drogas analgésicas modernas de maior seletividade e de menor toxicidade.

Um dos possíveis sítios de ação de drogas analgésicas no mecanismo fisiopatológico da dor inflamatória seria imediatamente após a instalação do processo inflamatório com a consequente migração de células e liberação dos primeiros mediadores inflamatórios representados pelas citocinas, prostaglandinas, cininas e neurocininas, responsáveis pela sensibilização dos nociceptores dos aferentes primários da dor (Figura 1). Nesta primeira etapa poderíamos atuar bloqueando inicialmente a formação de moléculas de adesão e de quimiocinas interferindo na migração transendotelial das células inflamatórias e consequentemente inibindo a cascata de formação dos mediadores no sítio inflamatório. Dois grupos de mediadores inflamatórios são igualmente importantes na transmissão nociceptiva: aqueles que promovem uma sensibilização dos nociceptores (hiperalgesia), e outro grupo que ativa os nociceptores sensibilizados. As citocinas e as prostaglandinas seriam os principais representantes do primeiro grupo e as cininas (bradiginina) do segundo. As drogas analgésicas com mecanismo de ação predominante sobre os mediadores inflamatórios estariam atuando em duas etapas fundamentais do ciclo destes neurotransmissores: inibindo a produção e/ou

liberação do mediador ou bloqueando os receptores ativados por eles. Em ambas as situações estariam prevenindo a hiperalgesia ou bloqueando a ativação do nociceptor previamente sensibilizado. Com esta finalidade tem sido investigados antagonistas das prostaglandinas, dos receptores B₂ da bradicinina, da interleucina-1 β e das neurocininas, incluindo a substância P (Figura 1)^{16,19,22-24}.

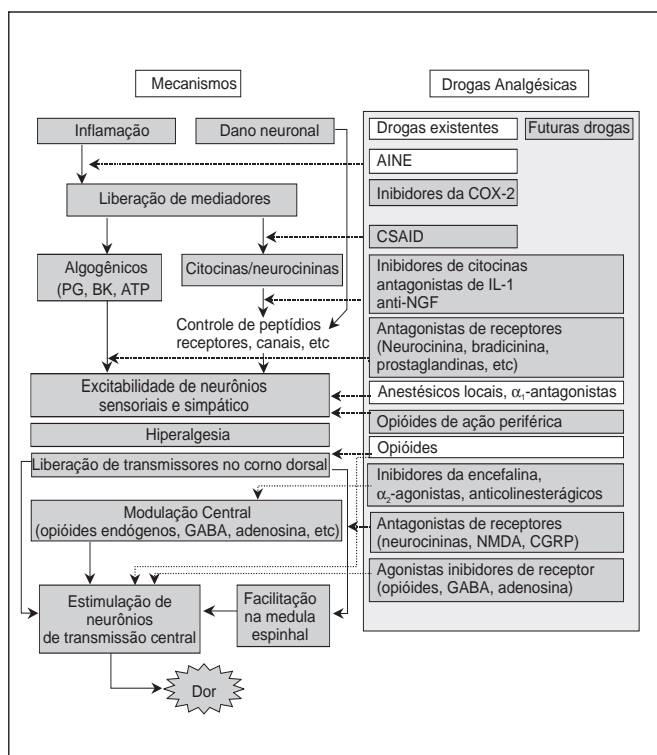


Fig 1 - Principais mecanismos de transmissão da dor e alvos possíveis de ação de drogas analgésicas de uso atual e com potencial de uso futuro. PG, Prostaglandinas; BK, Bradicinas; CSAID, drogas antiinflamatórias supressoras das citocinas; ATP, trifosfato de adenosina; IL-1, interleucina-1; COX-2, cicloxi-genase-2; NGF, fator de crescimento do nervo CGRP, peptídeo geneticamente relacionado com a calcitonina. (Adaptado de RANG & URBAN, 1995)

Uma outra possibilidade é o desenvolvimento de fármacos com ação inibitória sobre enzimas específicas envolvidas na síntese dos mediadores inflamatórios, como as fosfolipases, lipoxigenase, cicloxi-genase-2 (COX-2) e caliceinas¹⁶.

Finalmente, a produção de uma regulação decrescente através da inibição do

sistema efetor de formação do AMPc, ou da inibição da ativação das proteínas cinases intracelulares, ou ainda através da ativação do sistema arginina-óxido nítrico-GMPc, constituem importantes alvos de ação de drogas analgésicas e antiinflamatórias. Neste particular, as drogas opióides agonistas mu, conhecidas pelo mecanismo de ativação de uma proteína G inibitória (Gi), que causa uma redução na produção intracelular de AMPc, produzem ação antinociceptiva em tecidos inflamados e inibem a hiperalgesia periférica^{25,26}.

DROGAS QUE BLOQUEIAM A LIBERAÇÃO OU INIBEM A ATIVIDADE HIPERALGÉSICA DAS CITOCINAS

Diversos tipos de leucócitos e moléculas de adesão celular exercem papel fundamental no processo inflamatório. O recrutamento destas células fagocitárias para o sítio de injúria promove a liberação local de importantes substâncias proinflamatórias notadamente as citocinas, com propriedades tróficas, mitogênicas e quimiotáticas.

Destas citocinas as mais importantes são as interleucinas (IL-1, IL-2, IL-6 e IL-8) e o fator de necrose tumoral (TNF). A IL-1 e o TNF são liberados por células mononucleares macrófagos do processo inflamatório e produzem muitas das respostas proinflamatórias, incluindo indução de febre, mobilização e ativação de leucócitos polimorfonucleares, indução das enzimas cicloxi-genase e lipoxigenase, elevação na expressão de moléculas de adesão, ativação de linfócitos T e B e estimulação da produção de outras citocinas. A IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF- α , são capazes de induzir poderosa hiperalgesia. A hiperalgesia produzida é mediada indiretamente através de diversos mecanismos, incluindo liberação de prostaglandinas, elevação na expressão do NGF ou de receptores da bradicinina, ou ainda por afetar as fibras simpáticas.

A cascata das citocinas é iniciada quando um determinado estímulo, como por exemplo endotoxina de bactérias gram-negativas, induz a produção e secreção de citocinas *proximais* ou *precoces*, representadas pelo TNF- α e IL-1 β . Estas citocinas estimulam a produção de citocinas mais tardias ou *distais*, como a IL-6 e IL-8, que parece intensificar e perpetuar a resposta inflamatória. Os fatores de necrose tumoral (α e β) exercem um papel central na estimulação do processo inflamatório, iniciando a cascata de produção de outras citocinas e fatores da reação imune. Sua larga variedade de efeitos é atribuída a ubiquidade dos seus receptores, em sua habilidade de ativar múltiplas vias de transdução de sinal e de induzir ou suprimir uma série de genes, incluindo os relacionados com a produção de fatores de crescimento, de citocinas, de fatores de transcrição e de receptores e proteínas da fase aguda. A IL-6 é um mediador pleiotrópico cujas ações incluem modulação da função de linfócitos, ativação da coagulação e indução da síntese hepática de proteínas da fase aguda. A IL-6 pode regular a produção de TNF- α e IL-1 β , constituindo importante mecanismo na limitação da reação inflamatória. A IL-8 é um potente ativador e agente quimiotático para leucócitos polimorfonucleares e parece mediar a inflamação neutrofílica tecidual, notadamente em pulmão. Em determinados processos inflamatórios crônicos, como na artrite reumatóide, pode ser encontrada a presença de citocinas como a IL-1 e o TNF. Elevadas concentrações de citocinas específicas, incluindo TNF- α , IL- β , IL-6 e IL-8, são freqüentemente encontradas em pacientes com processo séptico, apresentando em geral estreita relação com a gravidade da sepse (Figura 2) ^{27,28}.

As citocinas não são estocadas em compartimentos intracelulares mas são rapidamente sintetizadas e liberadas em resposta ao estímulo inflamatório. Esta regulação ocorre predominantemente ao nível da transcrição gênica com expressão do ARN mensageiro (ARNm) da citocina. Proteínas específicas de regulação de

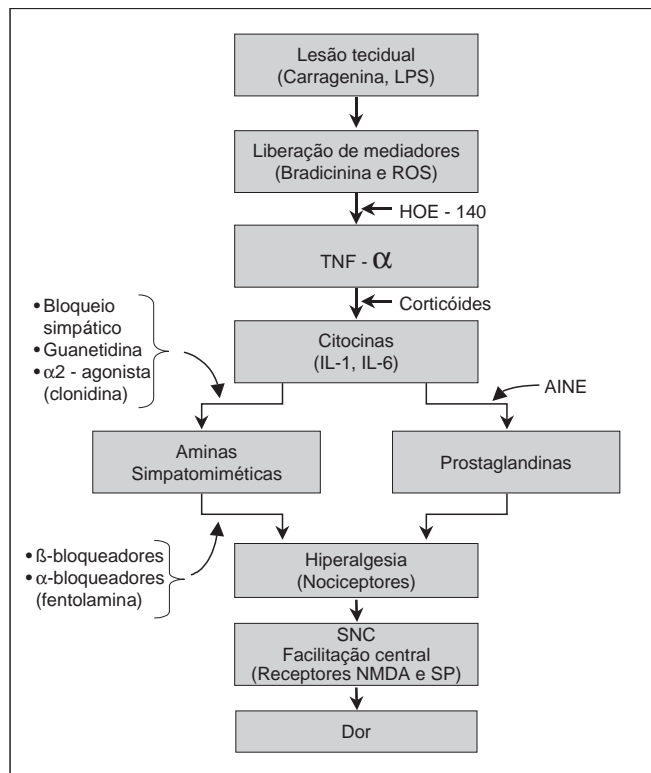


Fig 2 - Mecanismo bioquímico de transmissão da dor e cascata de formação das citocinas. LPS, lipopolissacarídeo; TNF- α , fator de necrose tumoral; IL, interleucina; AINE, analgésicos e anti-inflamatórios não esteróides ROS, espécies reativas de oxigênio; SP, substância P; SNC, Sistema Nervoso Central

transcrição (fatores de transcrição) regulam a transcrição do gene pela ligação à regiões regulatórias de genes da citocina, ativando ou inibindo a transcrição. Cada citocina possui uma variedade de domínios de ligação do fator de transcrição na região promotora de seu gene que interage de forma complexa para controlar a transcrição do gene da citocina. Os genes induzidos nas células imunes são classificados em imediatos, precoces e tardios, de acordo com o período transcorrido para sua ativação. A transcrição de genes imediatos não depende da síntese protéica, em oposição aos genes precoces e tardios que dependem da síntese protéica. Os genes c-fos, c-jun e c-myc dos linfócitos são incluídos na categoria dos genes imediatos. O fator de transcrição denominado de fator nuclear kB (NF-kB), parece exercer importante papel na regulação da cascata das citocinas. O NF-kB é

ativado em diferentes tipos de células por diversos estímulos, como endotoxinas, TNF- α , ROS e IL-1 β . A ativação do NF-kB é essencial para a transcrição de muitas citocinas e moléculas relacionadas, incluindo o TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-8^{27,29}.

O mecanismo de ação da IL-1 envolve a ativação da adenilato ciclase provocando elevação do monofosfato cíclico de adenosina (AMPC) celular, e a conseqüente ativação da proteína cinase A e fosforilação de proteínas intracelulares^{29,30}.

Os macrófagos também liberam o Fator de Crescimento do Nervo (NGF). O NGF constitui um membro de uma pequena família de proteínas secretórias, conhecidas como neurofinas. Os outros membros desta família são representados pelo Fator Neurotóxico Derivado do Cérebro (BDNF), neurofina 3 (NT-3) e neurofina 4/5 (NT-4/5)^{30,31}. As neurotrofinas, especialmente o NGF, são normalmente produzidas pelas fibras aferentes de tecidos periféricos e por células de suporte, incluindo fibroblastos, células de Schwann e queratinócitos. O NGF é essencial para a sobrevivência e desenvolvimento de neurônios sensoriais e pela manutenção de seu fenótipo, agindo através de um receptor tirosina cinase específico (trkA) na regulação de processos de transcrição de gene específico. Durante o processo inflamatório a produção de NGF é estimulada por outros mediadores inflamatórios como citocinas (IL- β e TNF- α). O NGF aumenta a síntese de diversos neuropeptídeos, incluindo neurocininas e CGRP *Calcitonin Gene-related Peptide* e regula diversas outras proteínas como o receptor da Capsaicina, canais de sódio da membrana e canais iônicos ativados por próton. O NGF tem sido também implicado como possível mediador da dor visceral persistente. O excesso de produção de NGF, como nos processos inflamatórios, pode produzir hiperalgesia envolvendo um ou mais dos seguintes mecanismos: (a) por sensibilização direta dos nociceptores; (b) por elevação dos níveis de substância P e CGRP, que por seu turno causam sensibilização central e

inflamação neurogênica; c) por efeitos locais, como na liberação de histamina dos mastócitos. O uso de anticorpos anti-NGF reduz a hiperalgesia e as alterações neuroquímicas induzidas pelo NGF e inflamação e tem sido usado com sucesso no tratamento da artrite^{6,32,33}.

Os compostos conhecidos como drogas antiinflamatórias supressoras de citocinas estão sendo desenvolvidas no momento e acredita-se que as drogas inibidoras da produção das citocinas possam ser eficazes como analgésicos no controle da dor aguda e crônica. Ferreira et al (1988)²² desenvolveram um tripeptídeo da IL-1 β capaz de antagonizar a hiperalgesia induzida pela carragenina. Lee et al (1993)²³ descreveram a ação de uma imidazolina bicíclica (SKF 86002) capaz de inibir a produção de interleucina induzida por lipopolissacarídeo (LPS), com atividade em modelos de dor aguda e crônica. Mais recentemente o alvo desta droga foi identificado e clonado como parte de uma proteína cinase.

Atribui-se a ação analgésica e antiinflamatória dos glicocorticóides à ação inibitória da atividade da fosfolipase A₂ (PLA₂), enzima responsável pela liberação de ácido araquidônico e conseqüentemente da ativação da produção de prostaglandinas, tromboxano e leucotrienos. Os esteróides antiinflamatórios inibem a PLA₂ indiretamente através da indução da liberação de uma proteína inibitória da PLA₂ identificada como lipocortina 1 (também conhecida como anexina 1). Um outro mecanismo de ação dos corticosteróides é através da ativação de receptores citoplasmáticos para glicocorticóides que regulam a transcrição de alguns genes de resposta primária, incluindo os que expressam uma ciclooxigenase induzível (COX-2) e o óxido nítrico sintetase. O complexo esteróide-receptor também é capaz de promover inibição da transcrição de um grande número de citocinas envolvidas na inflamação crônica, destacando-se principalmente a interleucina-1 (IL-1) e o fator α de necrose tumoral (TNF- α). Além disso, os corticosteróides podem ainda promover uma repressão da síntese dos receptores das citoci-

nas, como por exemplo dos receptores da IL-2. A ação inibitória da liberação de citocinas hiperalgésicas pelos macrófagos e outras células explica a eficácia dos corticosteróides no tratamento da distrofia simpático reflexa e na dor produzida pelo herpes zoster, seja pela administração local, oral ou peridural, indicada em cada situação clínica, com excelentes resultados na maioria dos casos^{18,34-36}.

Os recentes avanços alcançados no entendimento dos mecanismos moleculares da interação leucócito-endotélio durante a migração destas células no processo inflamatório, tem permitido o surgimento de estudos visando uma intervenção terapêutica a este nível. Com este propósito tem sido desenvolvidos anticorpos monoclonais com a função de bloquear moléculas de adesão e de drogas capazes de bloquear as ações das quimiocinas, com aplicações em diversas doenças inflamatórias, incluindo artrite reumatóide, asma brônquica, esclerose múltipla e em acidentes por animais peçonhentos. Tais estudos, entretanto, encontram-se em fase bastante incipiente e mais investigações ainda são necessárias⁴.

INIBIDORES DA SÍNTESE DE PROSTAGLANDINAS (INIBIDORES DA COX-2)

A cascata de metabolismo do ácido araquidônico que origina as prostaglandinas começa com a oxidação e ciclização do ácido graxo para formar o endoperóxido cíclico PGG₂ e PGH, precursores de importantes produtos metabólicos como a prostaciclina, tromboxano e prostaglandinas E (PGE₂) e F (PGF₂). Esta etapa inicial é catalisada pela prostaglandina endoperóxido sintetase, também denominada de cicloxigenase (Figura 3)³⁷⁻³⁹. As lipoxigenases formam hidroperóxidos instáveis que se transformam nos leucotrienos⁴⁰.

Mais recentemente constatou-se que existem duas formas distintas de cicloxi-

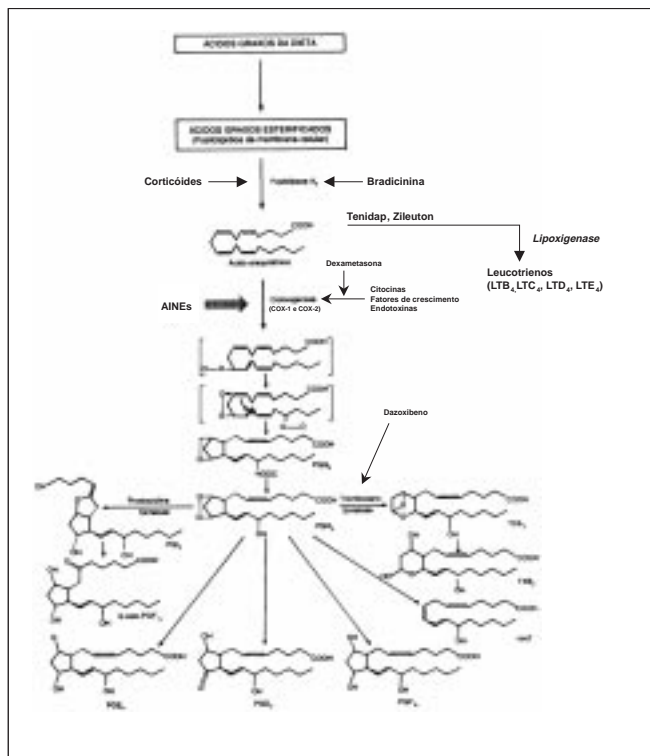


Fig 3 - Biossíntese das prostaglandinas pela via da cicloxigenase, formação dos endoperóxidos cíclicos (PGG₂ e PGH₂), das prostaglandinas (PG) E, D e F dos tromboxanos (Tx) e da prostaciclina (PGI₂). Observar a inibição pela aspirina ao nível da cicloxigenase

genases, isoenzimas ou isoformas, denominadas de cicloxigenase-1 (COX-1) e cicloxigenase-2 (COX-2). A COX-1 foi a primeira a ser caracterizada e é expressa constitutivamente, ou seja, está presente nas células em condições fisiológicas. A concentração destas enzimas nos tecidos permanece praticamente estável, porém pequena elevação de 2-4 vezes na expressão da enzima pode ocorrer em respostas a estimulação hormonal ou de fatores de crescimento. A produção da COX-1 encontra-se relacionada com ações fisiológicas nos vasos sanguíneos, estômago e rins. A COX-2 é induzida em células expostas a agentes proinflamatórios, incluindo citocinas, ésteres do forbol, fatores de crescimento e endotoxinas (Figura 4)^{36,41}.

Tem sido demonstrado que as prostaglandinas (PG) são produzidas em neurônios e vasos do SNC com importante participação em diversas funções centrais, incluindo o controle

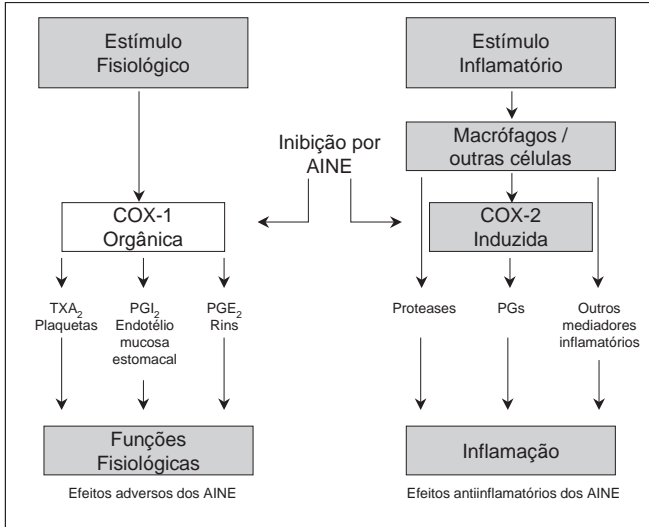


Fig 4 - Relação entre as vias de formação dos eicosanóides através da COX-1 e COX-2. Sob condições fisiológicas a ativação da COX-1, por exemplo em plaquetas, endotélio vascular, mucosa do estômago ou rins, resulta na liberação de tromboxano A₂ (TXA₂), prostaciclina (PGI₂) ou prostaglandina E (PGE₂). A liberação destes eicosanóides é seletivamente inibido por drogas como aspirina. O estímulo inflamatório libera citocinas, como por exemplo a interleucina-1 (IL-1), que induz a síntese de COX-2 em células como macrófagos, resultando na liberação de prostaglandinas (PGs). A liberação de PGs juntamente com proteases e outros mediadores inflamatórios (como por exemplo radicais livres de oxigênio), resulta em inflamação. A via da COX-2 pode ser interrompida em diversos níveis por antagonistas ou anticorpo para citocinas e mitógenos inibidores da indução de COX-2 (exemplo: glicocorticóides), ou inibidores seletivos de COX-2. (Mitchell et al., 1993; Vane & Botting, 1995).

do ciclo do sono e do despertar, da geração de febre e na transmissão da dor. As prostaglandinas e citocinas (interleucina-6) encontram-se também implicadas na fisiopatologia de algumas doenças degenerativas cerebrais como na esclerose múltipla, demência associada a AIDS e na doença de Alzheimer. Em virtude da ação inibitória sobre a COX-2 os AINE têm sido atualmente recomendados para o tratamento de algumas destas doenças, como na doença de Alzheimer. Sabe-se que lipopolissacarídeos (LPS) e citocinas podem promover a indução de COX-2 em várias regiões cerebrais e que a COX-1 é constitutivamente expressa em diversos neurônios⁴²⁻⁴⁴. Embora tenha sido aventada a existência de uma outra isoforma de cicloxi- genase em células cerebrais, a cicloxi- genase-3 (COX-3), com a finalidade de explicar o meca-

nismo de ação do paracetamol, ainda necessita- se de mais informações experimentais para me- lhor esclarecimento e confirmação, uma vez que as publicações mais recentes não tem eviden- ciado tal possibilidade⁴⁵.

As prostaglandinas apresentam impor- tantes ações farmacológicas no organismo ani- mal e no homem. Em diversos tecidos as prostaglandinas estimulam a síntese de adeno- sina-3',5'-monofosfato cíclico (AMP cíclico) pela ativação da adenilato ciclase. A PGI₂, PGE₂ e PGD₂ aumentam a concentração de AMP cíclico, enquanto TxA₂ reduz a atividade da adenilato-ciclase, reduzindo a formação de AMP cíclico³⁹.

No sangue, as PGE₁, PGD₂ e prostaci- clina (PGI₂) são inibidoras da agregação de plaquetas, ao passo que o tromboxano A₂ é um forte estimulador da agregação plaquetária. A PGE₂, a PGE₁ e a PGE₂ induzem a eritropoese por estimulação da eritropoetina pelo córtex re- nal⁴⁶.

As prostaglandinas e os leucotrienos quando liberados exercem também papel funda- mental na gênese dos sinais e sintomas do pro- cesso inflamatório. Em diferentes tipos de inflamação, alguns mediadores possuem ação mais proeminentes que outros. A seqüência de liberação do mediador pode também ser impor- tante. Por exemplo, no choque anafilático há uma explosiva e simultânea liberação de his- tamina, SRS-A, PGE₂, PGF_{2α}, e endoperóxidos. Estes mediadores, uma vez liberados, podem interferir em diversos mecanismos celulares, de- senvolvendo os sinais e sintomas da inflamação, como dor, hiperalgesia, destruição do tecido, eritema, edema e febre^{2,38,39,47,48}.

A sensibilização dos nociceptores, pre- sentes nos terminais de neurônios de aferentes primários e distribuídos nos tecidos periféricos e viscerais, por estímulos mecânicos, é reco- nhecida desde a descrição de Lewis, em 1931. A sensibilização por estimulação química tem sido descrita por diversos pesquisadores para a histamina, acetilcolina, bradicinina, serotonina (5-HT) e prostaglandinas.

Ferreira (1979)⁴⁸ constatou que a administração intradérmica de prostaglandinas em altas doses produzia dor. No entanto, a infusão subdérmica de baixas concentrações, semelhantes aos níveis encontrados em exsudatos inflamatórios, não desenvolvia dor, mas somente hiperalgesia, ou seja, havia uma redução do limiar da sensibilidade dolorosa. Observou ainda que infusões separadas de PGE₂, histamina, bradicinina, ou uma mistura de bradicinina e histamina, não provocavam dor. Entretanto, quando PGE₁ foi adicionada à bradicinina ou histamina, ou a uma mistura de ambas, uma forte dor era desenvolvida. Concluiu-se então que os mediadores inflamatórios, como bradicinina, tinham uma ação direta produtora de dor somente quando os nociceptores encontravam-se sensibilizados pelas prostaglandinas.

Moncada et al (1978)⁴⁹ e Ferreira & Vane (1979)⁴⁸, baseando-se em diversos resultados experimentais, demonstraram que a atividade analgésica dos antiinflamatórios não-esteroides (AINE) (Quadro I), notadamente da aspirina e indometacina, deve-se ao bloqueio da síntese de prostaglandinas por inibição da cicloxigenase e que não afetam a hiperalgesia ou a dor causada pela ação direta das prostaglandinas (Figura 3). A aspirina e os demais derivados dos AINE não inibem a lipoxigenase, e assim, não suprimem a formação dos leucotrienos. Acredita-se que os compostos com ação inibitória simultânea sobre a cicloxigenase e lipoxigenase tenham melhor atividade anti-inflamatória. Os resultados experimentais sugerem que os efeitos colaterais dos AINE parecem estar correlacionados com a capacidade dessas drogas de inibir a COX-1, enquanto os efeitos terapêuticos (analgésicos e antiinflamatórios) estariam relacionados com a inibição da COX-2. A inibição da atividade da COX-2 pode ser alcançada em diversos níveis da cascata de eventos que conduzem à indução da atividade da enzima. Uma vez sintetizada a COX-2, os inibidores seletivos da enzima poderiam inibir a produção de pro-inflamatórios,

Quadro I - Principais grupos de analgésicos e anti-inflamatórios não-esteróides (AINE)

- | | |
|--|--|
| 1. Derivados do ácido salicílico (salicilatos) | Salicilato de sódio, salicilato de fenila, salicilato de metila, ácido acetilsalicílico, salicilamida, diflunisal, flufenizal |
| 2. Derivados pirazolônicos | Aminopirina, antipirina, dipirona, fenilbutazona, apazona, oxifembutazona e sulfipirazona |
| 3. Derivados do para-aminofenol e anilina | Fenacetina e acetaminofeno (paracetamol) |
| 4. Derivados do ácido antranílico (fenamatos) | Ácido mefenâmico, ácido flufenâmico, ácido meclofenâmico, ácido tolfenâmico, ácido etofenâmico |
| 5. Derivados do ácido indolacético | Indometacina, sulindaco |
| 6. Derivados do ácido pirrolacético | Tolmetino, zomepiraco, cetoralaco, etodalaco |
| 7. Derivados do ácido fenilacético | Diclofenaco de sódio |
| 8. Derivados do ácido propiônico | Ibuprofeno, naproxeno, fenoprofeno, flubuprofeno, fembufeno, flurbiprofeno, indoprofeno, suprofeno, cetoprofeno, piroprofeno, oxaprozino, ácido tiaprofênico |
| 9. Derivados do oxicam | Piroxicam, tenoxicam, sudoxicam, isoxicam, meloxicam |
| 10. Derivados da sulfonanilida | Nimesulida |
| 11. Derivados alcanonas | Nabumetona, proquazona |
| 12. Derivados do ácido carbâmico | Flupirtina |
| 13. Inibidores da cicloxigenase e 5-lipoxigenase | Tenidap |
| 14. Inibidores seletivos da COX-2 | Meloxicam, SC 58125, L 47 5337, DMP-697, CGP 2828, NS 398, BF 389 |

(Carvalho, 1994)

como as prostaglandinas, sem afetar, por exemplo, a produção de prostaciclina pelo endotélio através da ativação da COX-1. A aspirina modifica covalentemente ambas as COX-1 e COX-2, resultando em uma inibição irreversível da atividade da cicloxigenase. A aspirina atua sobre a COX-1 produzindo acetilação da serina 530, impedindo conseqüentemente, a ligação do ácido araquidônico no sítio ativo da enzima e assim bloqueando a atividade enzimática na formação

Tabela I - Valores de IC₅₀ (µmol/litro) de AINE sobre a atividade de COX-1 e COX-2 em células intactas

AINE	COX-2	COX-1	COX-2/COX-1	
Ácido Tolfenâmico	0,0191 ± 0,00725	0,00115 ± 0,00267	16,7	(n=12)
BF 389	0,03 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,2	(n=12)
Flurbiprofeno	0,102 ± 0,041	0,082 ± 0,041	1,3	(n= 9)
Meloxicam	0,171 ± 0,142	0,214 ± 0,0855	0,8	(n=18)
Piroxicam	0,604 ± 0,242	0,00242 ± 0,000604	250	(n=12)
Diclofenaco	1,1 ± 0,472	1,57 ± 0,66	0,7	(n= 9)
Indometacina	1,68 ± 0,223	0,0297 ± 0,0028	60	(n=12)
Naproxeno	5,65 ± 9,57	9,56 ± 4,26	0,6	(n=12)
Caprofeno	10,9 ± 6,28	10,9 ± 1,5	1	(n=9)
Tolmetino	27,2 ± 4,75	0,156 ± 0,0117	175	(n=9)
Ibuprofeno	72,8 ± 25,9	4,85 ± 0,34	15	(n=9)
Sulindaco	112 ± 65,5	1,12 ± 0,787	100	(n=9)
Acetaminofeno	133 ± 79,5	17,9 ± 13,3	7,4	(n=9)
Aspirina	2 78± 55,6	1,67 ± 1,11	166	(n=12)
Salicilato de Sódio	725 ± 117	254 ± 81,4	2,8	(n=9)

IC₅₀ = Concentração inibitória 50%

Notar que quanto mais potente a droga menor é a IC₅₀ sobre a COX, assim o meloxicam e o BF 389 apresentam a menor relação COX-2/COX-1, isto é tem menor efeito sobre a COX-1 (VANE & BOTTING, 1995)

de prostaglandinas. Na estrutura da COX-2 a aspirina produz acetilação da serina na posição 516. O flurbiprofeno, interage através do seu grupo carboxila com a arginina, na posição 120 da estrutura da enzima, enquanto o ibuprofeno inibe seletivamente a COX-1 pela competição de substrato com o ácido araquidônico. Uma série de AINE tem sido testados quanto à capacidade relativa de inibição da COX-1 e COX-2 e a relação entre a atividade para ambas as enzimas tem sido também determinada (Tabela I). Compostos que apresentam elevada relação COX-2/COX-1, ou seja maior atividade sobre a COX-1, apresentam maior probabilidade de causar dano e sangramento na mucosa gástrica. O piroxicam é cerca de 250 vezes mais ativo contra COX-1 do que contra a COX-2, a aspirina cerca de 166 vezes e a indometacina cerca de 60, ao passo que a relação para o meloxicam é de apenas 0,8, demonstrando a menor toxicidade deste último composto^{31,36,50}.

Embora a aspirina não deva ser recomendada como droga de primeira escolha para o tratamento de processos inflamatórios

crônicos, como o reumatismo e artrite, devido a sua potente ação inibitória sobre a COX-1, constitui importante alternativa para o tratamento profilático de doenças de elevado risco tromboembólico, como no enfarto do miocárdio, beneficiando-se nestes casos, do mecanismo anti-COX-1 da droga nas plaquetas, prevenindo a agregação plaquetária. As plaquetas são especialmente susceptíveis à inativação irreversível da cicloxigenase mediada pela aspirina, devido à baixa atividade ou incapacidade para a biossíntese de proteínas e desta forma a inabilidade de regenerar a cicloxigenase. Significando que uma única dose de aspirina é capaz de inibir a cicloxigenase plaquetária durante toda a vida da plaqueta, que corresponde a um período de 8 a 11 dias. Uma dose diária de 40-60 mg de aspirina, administrada cronicamente, é suficiente para inibir esta produção no homem^{31,36,38-51}.

Como o ideal destas drogas é que apresentem uma boa atividade antiinflamatória com baixa incidência de efeitos ulcerogênicos sobre a mucosa gástrica, grande esforço tem sido

realizado pelas indústrias farmacêuticas no sentido de se conseguir a síntese de compostos cada vez mais seletivos sobre a atividade da COX-2.

As estruturas químicas de alguns desses compostos com maior seletividade sobre a COX-2 são apresentados na Figura 5. A maioria deles ainda encontra-se em fase de ensaios clínicos.

O meloxicam, um derivado oxicam, foi recentemente produzido e já se encontra disponível para uso clínico em alguns países, inclusive no Brasil, onde é comercializado com o nome de fantasia Movatec. Sua estrutura química é apresentada na Figura 5. As propriedades antiinflamatórias, analgésicas e antipiréticas do meloxicam tem sido amplamente estudadas em diversos modelos animais demonstrando uma maior seletividade sobre a COX-2 e comprovada ação antiinflamatória em doses que afeta muito pouco a síntese de prostaglandinas da mucosa gástrica e rins e com atividade farmacológica superior a muitos dos AINE disponíveis, incluindo o piroxicam, indometacina, diclofenaco e naproxeno^{31,36,52}. O perfil farmacocinético do meloxicam foi amplamente estudado no homem demonstrando uma biodisponibilidade oral superior a 89%, ligação a proteínas plasmáticas superior a 99% e uma meia-vida de eliminação ($t_{1/2}$) de aproximadamente 20 horas, o que possibilita uma aplicação diária em dose única⁵³.

O grupo Monsanto/Searle tem sintetizado inibidores 1000 vezes mais potentes contra a COX-2. Um dos seus protótipos, apresentado na Figura 5 é o SC58125, testado como antiinflamatório em diversos modelos de inflamação crônica, inclusive com o teste da carragenina induzindo edema em pata de rato. Sua seletividade foi testada contra COX-1 em plaquetas e COX-2 em fibroblastos estimulados por IL-1. A concentração inibitória (IC_{50}) encontrada para COX-2 foi de 0,07 μ M, o que representa uma seletividade de cerca de 1400 vezes maior para a COX-2. Foi demonstrado também que o SC58125 não inibe a síntese de PGE_2 no rim, estômago e não causa ulceração gástrica. Nas

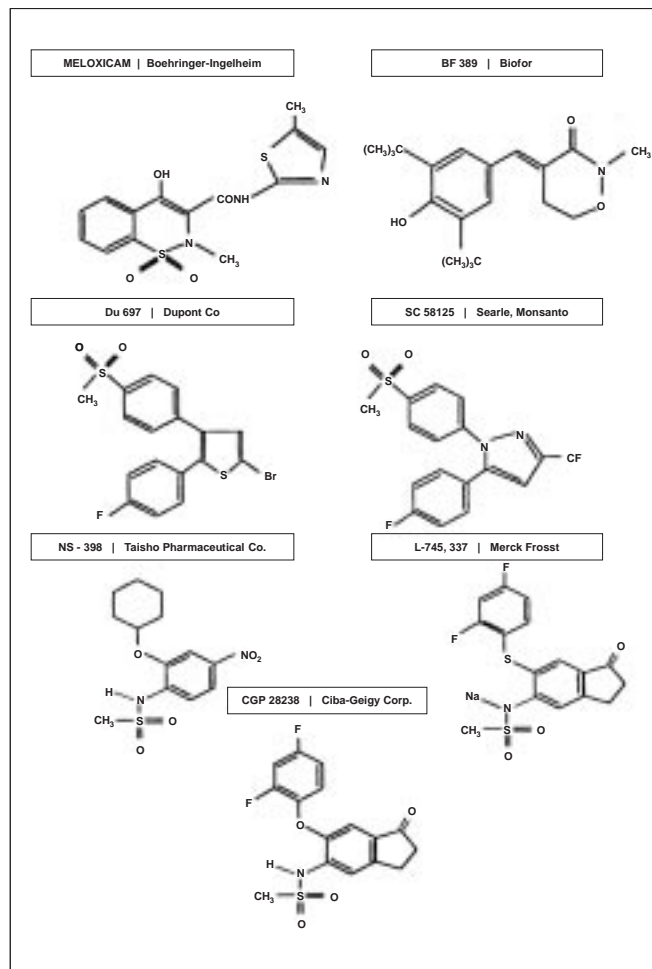


Fig 5 - Estrutura química de inibidores mais seletivos da COX-2

mesmas condições experimentais a aspirina causava uma incidência de 55% de úlcera gástrica e o fenoprofeno de 15% (Figura 5)^{36,54,55}.

A Merck-Frost publicou resultados obtidos com o composto L-745.337, o 6-[(2,4-difluorofenil)-tio]-5-metanosulfonamido-1-indanona, demonstrando que é cerca de 1000 vezes mais seletivo para a COX-2. O composto é capaz de reduzir edema de pata de rato induzido por carragenina e prevenir a resposta algésica e pirética em modelo experimental de ação pirogênica em ratos induzida por lipopolissacarídeos (LPS). Não foram encontrados efeitos gastrintestinais em doses que reduzem os níveis de PGE_2 no exsudato inflamatório de cavidade pleural (Figura 5)⁵⁶.

Em 1990 foram reportadas as ações do composto denominado DMP-697, como excelente antiinflamatório e desprovido de efeitos ulcerogênicos em mucosa gástrica e de alteração sobre o fluxo sanguíneo renal (Figura 5).

O composto CGP-2828, também conhecido como flosulide, análogo oxigenado do L-745.337, foi descrito como potente antiinflamatório. O flosulide é um inibidor seletivo da COX-2 com IC₅₀ de 15nM testado em células mesangiais estimuladas por IL-1. Concentração de cerca de 4000 vezes maior foi necessária para uma inibição de 50% da COX-1 em plaquetas humanas. O flosulide e o L-745.337 são equipotentes analgésicos (Figura 5)^{36,57}.

O laboratório *Taisho Pharmaceutical Company* sintetizou o composto NS-398 e demonstrou que este agente inibe a COX-2 de placenta de ovelhas com igual potência da indometacina, sem apresentar efeitos apreciáveis sobre a COX-1. Quando testado como antiinflamatório e analgésico em ratos o NS-398, aplicado por via oral na dose de 0,3-5 mg.kg⁻¹, demonstrou ações semelhantes a indometacina. Doses orais de até 1000 mg.kg⁻¹ não produziu lesões gástricas significativas (Figura 5).

O produto de síntese denominado BF-389 demonstrou também, em estudos experimentais em animais, potente ação inibitória sobre a síntese de prostaglandinas (COX-2), sem afetar a produção destes autacóides em mucosa gástrica e rins (Tabela I) (Figura 5)^{58,59}.

Espera-se que estas novas descobertas venham realmente representar um avanço no tratamento dos pacientes artríticos e de outros processos inflamatórios crônicos, havendo ainda a necessidade de ensaios mais controlados nos quais se evidencie a ação analgésica destes compostos. Embora, sejam apresentados com grande entusiasmo pelas indústrias farmacêuticas, os ensaios clínicos e o uso clínico de rotina é que poderão confirmar a superioridade e eficácia destes novos inibidores da COX-2.

INIBIDORES DA FORMAÇÃO DE LEUCOTRIENOS (INIBIDORES DA LIPOXIGENASE)

Inúmeras evidências experimentais sugerem que os leucotrienos e alguns dos seus metabólitos contribuem para a fisiopatologia da resposta inflamatória através de grande variedade de efeitos, incluindo principalmente a contratilidade de musculatura lisa (LTC₄, LTD₄, LTE₄); agregação, degranulação e quimiotaxia de neutrófilos (LTB₄); aumento na permeabilidade vascular (LTC₄, LTD₄, LTE₄); atividade sobre linfócitos e hiperalgesia (LTB₄)^{10,31}.

O mecanismo mediante o qual os leucotrienos produz hiperalgesia ainda não se encontra totalmente esclarecido, porém parece envolver a ativação da proteína cinase C, seja através da produção de diacilglicerol e fosfatos de inositol ou pela estimulação da síntese e liberação de eicosanóides¹⁰.

Diversas drogas tem sido recentemente desenvolvidas, seja como inibidores da 5-lipoxigenase, que resulta no bloqueio da formação dos leucotrienos, seja como antagonistas do receptor dos leucotrienos, resultando no bloqueio da função do receptor. Entre os inibidores da 5-lipoxigenase destacam-se principalmente a docebenona, piriipost, zileuton, ICI-D2318, MK-0591 e MK-886, utilizados notadamente para o tratamento da asma brônquica. Outros agentes podem produzir bloqueio tanto da cicloxigenase quanto da lipoxigenase, com grande possibilidade de serem utilizados como antiinflamatórios. O tenidap é um representante deste grupo, que também parece bloquear a formação de interleucina-1 (IL-1), com grande perspectivas de vir a ser usado como antiinflamatório, a depender dos resultados experimentais em curso^{31,60}. Os derivados obtidos por substituição de um grupo pirrolizínica no ácido acrílico representam uma outra classe de inibidores seletivos da cicloxigenase e 5-lipoxigenase atualmente em fase de estudos experimentais⁶¹.

BLOQUEADORES DOS RECEPTORES B₂ DA BRADICININA

A bradicinina (Bk) e a calidina representam as cininas produzidas a partir de precursores cininogênio de baixo peso molecular, seguido da ativação de caliceínas plasmáticas e teciduais, por diversos estímulos, que incluem principalmente trauma tecidual, inflamação, anóxia e baixo pH. No sangue a bradicinina é formada como parte da cascata da coagulação por um processo enzimático a partir do precursor cininogênio³⁸.

As cininas exercem grande número de efeitos pro-inflamatórios, incluindo a liberação de prostaglandinas, citocinas (interleucina-1 e TNF- α) e radicais livres de uma grande variedade de células. Também estimulam e sensibilizam os neurônios sensoriais e simpáticos pós-ganglionares influenciando no calibre dos vasos, degranula mastócitos liberando histamina e outros mediadores inflamatórios, são potentes agentes algogênicos e induzem dor pela estimulação direta dos nociceptores sensibilizados pelas prostaglandinas e citocinas. A hiperalgesia produzida pela bradicinina é mediada pelo TNF- α que estimula a liberação das citocinas IL-1 e IL-8 (Figura 2). A ativação de fibras sensoriais pela bradicinina causa também a liberação de neuropeptídeos como a substância P, neurocinina A e o peptídeo geneticamente relacionado com a calcitonina (CGRP). Estes peptídeos podem mediar grande número de efeitos pro-inflamatórios locais e contribuem para sensibilização do nociceptor e hiperalgesia (Figura 6)¹⁹.

Os efeitos das cininas são mediados através dos receptores B₁ e B₂. A bradicinina e a calidina são agonistas endógenos dos receptores B₁ e B₂. Os receptores B₁ produzem a manutenção da hiperalgesia e sua expressão é aumentada rapidamente durante os processos inflamatórios ou infecção. Os receptores B₂ estão presentes em neurônios sensoriais onde estão acoplados com uma proteína G que induz ativação de fosfolipase C e fosfolipase A₂. A

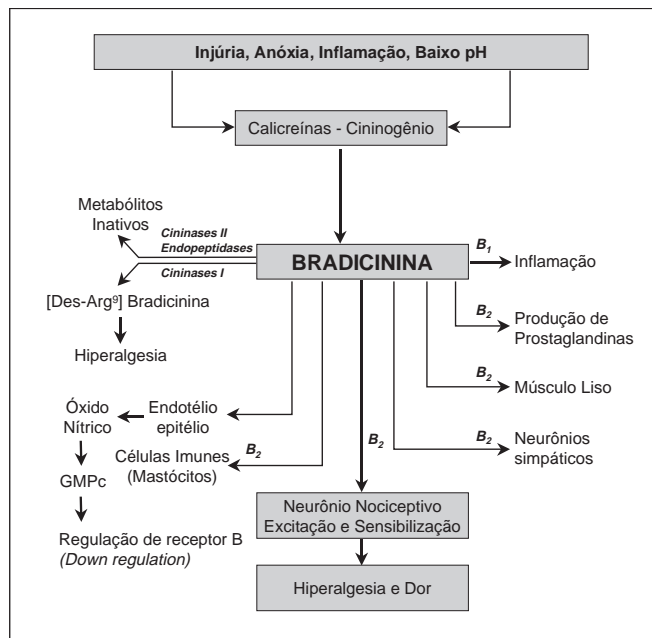


Fig 6 - Produção e ações farmacológicas da bradicinina. A bradicinina formada a partir do precursor cininogênio age em uma variedade de tecidos, principalmente através do receptor B₂, desencadeando uma série de ações farmacológica que incluem: ação quimiotática e de estimulação sobre macrófagos e neutrófilos; degranulação de mastócitos; estimulação de neurônios simpáticos, induzindo reflexos vasculares; estimulação da produção de prostaglandinas e produção de dor e hiperalgesia, resultante da estimulação e sensibilização de neurônios nociceptivos; produção de óxido nítrico e formação de GMP cíclico com down regulation dos receptores da bradicinina (Adaptado de Dray & Perkins, 1993, com permissão).

ativação da fosfolipase C forma dois segundo mensageiros, o 1,4,5-trifosfato de inositol (IP₃) e o diacilglicerol (DAG). O IP₃ estimula a liberação de cálcio dos estoques intracelulares, enquanto o DAG ativa a proteína cinase C (PKC) para fosforilar proteínas celulares, incluindo receptores de membrana e canais iônicos (Figura 7). A PKC tem grande importância na excitabilidade de fibras aferentes pela bradicinina que está associada com uma elevação da permeabilidade iônica da membrana, principalmente aos íons sódio. A estimulação de fosfolipase A₂ libera ácido araquidônico a partir de fosfolipase da membrana celular. A liberação do ácido araquidônico promove a formação de endoperoxídeos, prostaglandinas e leucotrienos, extremamente importantes na fisiopatologia do

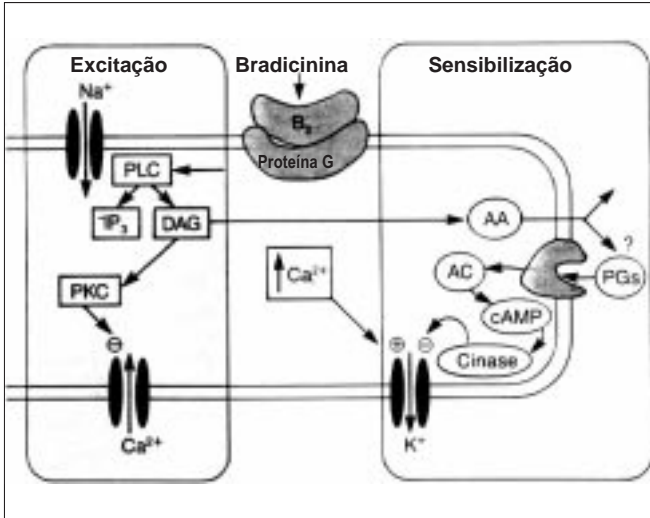


Fig 7 - Mecanismos de Ativação e Sensibilização dos Nociceptores pela Bradicinina (BK).

Mecanismos de ativação e sensibilização dos nociceptores pela bradicinina (BK). Os receptores B₂ estão acoplados a uma proteína G. A ativação do receptor produz uma despolarização principalmente pelo aumento na permeabilidade da membrana ao Na⁺.

Esta despolarização pode ativar o influxo de Ca⁺⁺ dependente de voltagem. A ativação do receptor B₂ pode também estimular a forfolipase C (PLC) gerando diacilglicerol (DAG) e 1,4,5-trifosfato de inositol (IP₃) de forfolipadas da membrana. O IP₃ pode estimular a elevação do Ca⁺⁺ intracelular, enquanto o DAG ativa a proteína cinase C (PKC) que regula canal iônico da membrana e consequentemente sua excitabilidade. Além disso a BK pode estimular a produção de ácido araquidônico (AA) e prostaglandinas (PG), resultando na ativação da adenilato ciclase (AC) e formação de AMP cíclico produtor de sensibilização (hiperalgesia).

(Adaptado de Dray & Perkins, 1993, com permissão).

processo inflamatório e da hiperalgesia^{6,38,51}. A maioria das ações da bradicinina, incluindo a ativação aguda de nociceptores e a produção de dor, são mediados através do receptor B₂ (Figura 6). A atividade da bradicinina depende de sua rápida degradação por enzimas proteolíticas e pela rápida dessensibilização (down regulation) dos receptores da Bk. A cinase dependente de GMP cíclico, que fosforila o receptor Bk, representa importante fator na dessensibilização. Neste caso, a dessensibilização da resposta do neurônio sensorial à bradicinina resulta da produção de óxido nítrico, que por sua vez, ativa a guanilato ciclase elevando os níveis celulares de GMPc. Além disso, a dessensibilização pode envolver glicoproteínas da membrana e *down regulation* de receptores seguida da agregação e internalização da proteína receptora¹⁹.

Em virtude das importantes funções da bradicinina na patogênese da dor inflamatória, tem sido recentemente desenvolvidos e testados os antagonistas do receptor B₂ da bradicinina, apresentando promissores resultados como agentes analgésicos e antiinflamatórios em modelos animais. Entre estes destacam-se principalmente o NPC16731, NPC567, HOE140, CPO127 e WIN64338. Antagonistas do receptor B₁ tem sido também desenvolvidos (Arg⁹[Leu⁸]BK) com atividade analgésica em hiperalgesia crônica^{19,30}.

BLOQUEADORES DOS RECEPTORES H₁ DA HISTAMINA

A histamina é um dos mediadores mais precocemente liberados durante o processo inflamatório. Encontra-se estocada principalmente nos mastócitos e basófilos e sua concentração é particularmente elevada nos tecidos ricos em mastócitos, como a pele, mucosa brônquica e mucosa intestinal. No processo inflamatório a histamina é liberada pela degranulação dos mastócitos promovida por diversos estímulos, incluindo a substância P, interleucina-1 (IL-1) e NGF. Além disso a ativação do sistema do complemento e de reações antígeno-anticorpo pelo processo inflamatório também promovem liberação de histamina. Uma vez liberada a histamina pode agir em receptores H₁ e H₂, produzindo vasodilatação em arteríolas, metarteríolas e vênulas e aumento da permeabilidade vascular, com consequente extravasamento de líquido e proteínas para os tecidos perivasculares e formação de edema, componentes essenciais na formação e cronificação do processo inflamatório. A administração intradérmica de histamina provoca uma resposta típica de uma reação inflamatória aguda, conhecida como *reação triplíce de Lewis* que consiste de (1) um eritema local em torno do ponto de aplicação, resultante da vasodilatação que surge dentro de poucos segundos; (2) de um

eritema secundário mais intenso em torno do anteriormente formado, que se instala mais lentamente, promovido pela estimulação de reflexos axônicos e vasodilatação indireta. e (3) edema, provocado pelo aumento da permeabilidade da vasculatura local. Alguns neurônios sensoriais expressam receptores H_1 e a ativação destes receptores aumenta a permeabilidade ao cálcio no gânglio trigeminal e em neurônios de gânglios da raiz dorsal e liberam taquicinas, prostaglandinas e CGRP¹⁰. Outras ações não relacionadas ao processo inflamatório incluem a contração de fibra lisa pela histamina, notadamente da musculatura lisa brônquica, prurido e produção de secreção ácida gástrica⁶.

Os antihistamínicos H_1 são antagonistas eficazes da ativação de uma classe especial de nociceptores associados ao prurido e os antagonistas dos receptores H_2 , através do bloqueio da produção ácida, eliminam a estimulação química dos nociceptores associados à dor desenvolvida na úlcera gástrica e na pirose^{18,21}.

Estudos realizados por Bevilacqua & Magni (1993)⁶² demonstraram que o nimesulide, um analgésico derivado da sulfonilida do grupo dos AINE, diminui a liberação de histamina dos mastócitos, inibe a produção do fator ativador de plaquetas (PAF) de basófilos humanos e inibe a liberação de substâncias oxidantes (ROS) dos neutrófilos. O PAF possui importante participação na gênese da inflamação e da asma. Suas principais ações farmacológicas incluem: vasodilatação; estimulação da agregação plaquetária; estimulação de polimorfo-nucleares a se agregarem, a liberar leucotrienos, enzimas lisosômicas e radicais superóxidos; fator quimiotático para eosinófilos, neutrófilos e monócitos; contrai a musculatura lisa intestinal, brônquica e uterina; é potente ulcerogênico e finalmente, diminui o fluxo sanguíneo renal, a taxa de filtração glomerular, o volume urinário e a excreção de sódio. O desenvolvimento de antagonistas do PAF encontra-se em estágio inicial e acredita-se que possa ter algum valor no controle dos processos inflamatórios e da asma.

BLOQUEADORES ADRENÉRGICOS

Após uma injúria da inervação periférica, de estimulação nervosa simpática ou da administração de noradrenalina pode ocorrer a excitação de fibras aferentes C via receptores α -adrenérgicos. Parece que os α -receptores estão implicados na hiperalgesia e que as aminas simpatomiméticas mediam alguns estados álgicos periféricos no homem.

A substância P media a despolarização lenta das células do gânglio simpático seguida da estimulação de fibras aferentes viscerais ocas. Tem sido também demonstrado que a noradrenalina, dopamina e 5-hidroxitriptamina produzem hiperalgesia durante o processo inflamatório através de regulação crescente de receptores alfa adrenérgicos. Alternativamente a noradrenalina pode agir em neurônios pós-ganglionares do simpático estimulando a liberação de prostaglandinas hiperalgésicas. Parece que a sensibilização de neurônios aferentes primários e a hiperalgesia mecânica induzidas pela bradicinina dependem também da produção de prostaglandinas pelos neurônios pós-ganglionares do simpático. A bradicinina ativa a fosfolipase A_2 para formar prostaglandina E_2 , enquanto a noradrenalina ativa a fosfolipase C para produzir a prostaglandina I_2 . Por outro lado, a bradicinina é ainda capaz de liberar noradrenalina dos terminais de neurônios simpáticos pós-ganglionares, ativando assim ambas as vias produtoras de hiperalgesia^{10,19}.

Algumas medidas terapêuticas utilizadas em terapia antálgica reforça a participação do sistema nervoso simpático na fisiopatologia da dor. Por exemplo, o bloqueio de um gânglio simpático pela aplicação de um anestésico local, ou através de simpatectomia, é efetivo devido a eliminação da eferência nociceptiva. A ativação de receptores α_2 adrenérgicos, localizados nos terminais simpáticos, bloqueia a liberação de noradrenalina. Assim, a aplicação tópica de clonidina, um agonista α_2 adrenérgico, ativa os receptores α_2 -adrenérgicos reduzindo a liberação de noradrenalina dos

terminais simpáticos. A aplicação transdérmica de clonidina tem sido empregada não somente para reduzir a hiperalgesia em pacientes com distrofia simpático reflexa, como também no alívio da dor da neuropatia diabética, embora outras indicações sejam atualmente mais amplamente difundidas para as drogas α_2 -adrenérgicas. A administração sistêmica de fentolamina, fenoxibenzamina e prazosin, antagonistas do receptor α_1 -adrenérgico, bloqueiam a ativação dos nociceptores e resultam em alívio da dor em pacientes com síndromes dolorosas mantidas pelo simpático. A depleção dos estoques neuronais periféricos de aminas simpatomiméticas pela guanetidina ou a ação do antagonista do receptor D_1 da dopamina (SCH 23390), reduz significativamente a hiperalgesia induzida pela carragenina. E ainda, a administração venosa regional (bloqueio de Bier) com guanetidina depleta os estoques de noradrenalina nos terminais simpáticos do sítio de injúria, promovendo importante analgesia na distrofia simpático reflexa^{9,10,16,18,25,63}.

MODULAÇÃO DA HIPERALGESIA PELO ÓXIDO NÍTRICO E DROGAS QUE PROMOVEM REGULAÇÃO DECRESCENTE DE RECEPTORES

Tem sido postulado que algumas drogas analgésicas podem promover uma regulação decrescente dos nociceptores através da estimulação da via da arginina-óxido nítrico-GMP cíclico²¹.

A síntese do óxido nítrico (NO) ocorre a partir do aminoácido L-arginina que sob a ação da óxido nítrico sintetase (NOS) transforma-se em NO e L-citrulina, via metabólica denominada de via L-arginina-óxido nítrico. O NO uma vez formado ativa a guanilato-ciclase promovendo a elevação dos níveis de GMP cíclico (GMPc) intracelular que atuará como segundo mensageiro desencadeando uma série de reações farmacológicas, inclusive a down regulation de nociceptores^{21,64}.

O NO exerce uma série de funções fisiológicas, inclusive no sistema nervoso periférico. Algumas evidências experimentais sugerem que o NO possui uma ação moduladora da nocicepção através da formação de GMPc. Estas evidências foram reforçadas mediante as observações de que as substâncias capazes de liberar NO, como o nitroprussiato de sódio e nitroglicerina, bloqueiam a hiperalgesia induzida pela carragenina e prostaglandinas e que a analgesia produzida por este grupo de substâncias pode ser bloqueada pelos antagonistas da NOS (L-NMMA e L-NIO), ou ainda mediante um inibidor da guanilato ciclase e é potencializada por antagonistas específicos da fosfodiesterase, enzima responsável pela metabolização do GMP cíclico²¹. Existe na literatura, entretanto, uma certa contradição em relação as ações do NO na nocicepção, uma vez que Moore et al (1991)⁶⁵ demonstraram que o L-NAME, um inibidor da óxido nítrico sintetase (NOS) possui atividade antinociceptiva. Ferreira (1993,1995)^{18,25} observou em experimentos em rato que o L-NAME, na presença de um processo inflamatório, atuaria localmente liberando NO, responsável pela antinocicepção. Foi ainda constatado por Ferreira (1995)¹⁸ que o efeito analgésico do L-NAME poderia ser bloqueado pelo L-NMMA, um inibidor da síntese de NO. Outras observações experimentais mais recentes indicam uma possível ação moduladora do NO na nocicepção.

Parece que o NO exerce atividade moduladora sobre a atividade da COX-2. A liberação de grande quantidade de NO pela NOS pode inibir a indução da COX-2 e suprimir a formação dos metabólitos da COX, contribuindo para uma redução da intensidade do processo de inflamação crônica e dor³⁶.

O NO também participa da dessensibilização do receptor da bradicinina, interrompendo dessa forma a atividade nociceptiva e hiperalgesica deste importante mediador inflamatório. O mecanismo de regulação decrescente ocorre através da estimulação da produção de NO pela bradicinina, que por sua vez promove a ativação

da guanilato ciclase elevando os níveis de GMP cíclico. O GMPc formado ativa a cinase dependente de GMP cíclico que fosforila o receptor da bradicinina resultando em uma regulação decrescente do receptor ¹⁹.

Foi recentemente demonstrado que os opióides agindo periféricamente, bem como a dipirona e o diclofenaco de sódio, promovem regulação decrescente de nociceptores através da estimulação da via do Óxido Nítrico/GMPc em neurônios sensoriais ^{20,21}. Foi constatada existência de receptores opióides em terminais periféricos de neurônios aferentes primários envolvidos na nocicepção. Estudos experimentais revelaram que os opióides podem interagir com tais receptores produzindo potente e prolongada analgesia, notadamente na presença de processo inflamatório local ^{25,26}. Tem sido estabelecido que os receptores opióides são sintetizados no corpo celular de neurônios sensoriais e a seguir são transportados em ambas as direções - central e periférica. Os receptores centrais tornam-se pré-sinápticos em terminais espinhais de fibras C e os receptores periféricos são ativados somente na presença de dano tecidual local. Stein et al (1991) ²⁶ constataram que a administração intraarticular de baixa dose de morfina, após artroscopia cirúrgica de joelho, produzia analgesia pós-operatória mais pronunciada do que a mesma dose aplicada por via venosa, sugerindo que a ação analgésica poderia ser mediada através de receptores opióides localizados na articulação.

Tem sido aventada a possibilidade de que alguns agentes possam produzir antinocicepção periférica mediante a liberação de encefalina endógena. A clonidina, além de seu efeito central, induz analgesia através da liberação periférica de substâncias tipo encefalina, mediada pelo receptor α_2 -adrenérgico. A glafenina e o composto denominado S14080, atualmente em fase de ensaio clínico, possuem mecanismo similar ao da clonidina. A ação farmacológica destes fármacos é bloqueada por antagonistas dos receptores opióides ²¹.

DROGAS QUE PROMOVEM MODULAÇÃO DE CANAIS IÔNICOS

Como ocorre em outras células excitáveis os neurônios sensoriais expressam uma diversidade de canais iônicos. Os canais iônicos encontrados na membrana celular são de dois tipos: os canais iônicos operados por receptores e os dependentes de voltagem (voltagem-dependentes). O canal iônico operado por receptores são complexos formados por um receptor e um canal iônico que constitui parte integrante da proteína com vários domínios transmembrana, incluindo os receptores colinérgicos nicotínicos, receptor gabaérgico, receptor NMDA (N-metil-D-aspartato), receptor da glicina, etc. Os canais iônicos voltagem sensíveis abrem ou fecham, dependendo da variação de voltagem do potencial da membrana e são representados pelos canais iônicos clássicos como os canais de sódio, potássio e cálcio. A sensibilidade desses portões à voltagem é devida à presença de regiões eletrocarregadas da proteína do canal ¹⁵.

Algumas drogas analgésicas causam uma regulação decrescente ou dessensibilização) destes receptores alterando a permeabilidade iônica da membrana neuronal, reduzindo conseqüentemente a excitabilidade pós-sináptica. Os anestésicos locais bloqueiam a condução do impulso na membrana dos aferentes da dor através do bloqueio dos canais de sódio voltagem-dependentes. A efetividade terapêutica de anticonvulsivantes (carbamazepina, fenitoina), anestésicos locais (lidocaína, tocainida) e antiarrítmicos (mexiletina), no tratamento de determinados tipos de dor, particularmente da dor neuropática e da neuralgia do trigêmio, se deve provavelmente, ao bloqueio dos canais de sódio ^{30,67}.

Os neurônios sensoriais nociceptivos sob condições normais expressam pelo menos dois tipos distintos de canais de sódio, um sensível a tetrodoxina que é rapidamente ativado e é encontrado em todos os neurônios sensoriais, e um outro resistente à tetrodoxina, lentamente

ativado e encontrado somente em pequena classe de células de pequeno diâmetro e de condução lenta, que incluem os nociceptores polimodais³⁰.

O canal de sódio é constituído por um complexo heterotrimérico de proteína glicosilada formado por três subunidades denominadas de α , β_1 e β_2 . A subunidade alfa é a mais extensa e contém quatro domínios transmembrana homólogos (I-IV). Cada domínio é formado por seis segmentos transmembrana (α -hélice) semelhantes (S_1 - S_6). O segmento S_4 corresponde ao sensor de voltagem do receptor. Acredita-se que o poro do canal seja formado pelos segmentos transmembrana S_5 e S_6 e pelos dois segmentos SS_1 e SS_2 de alça curta entre eles, que se organizam formando as paredes do poro ou canal no centro dos quatro domínios homólogos. Os anestésicos locais bloqueiam a condução do impulso nervoso através da ligação com três resíduos de aminoácidos (isoleucina, fenilalanina e tirosina) que formam o segmento S_6 no domínio IV da alfa hélice do receptor^{67,68}.

Mais recentemente foram realizados alguns estudos tentando elucidar o papel dos canais de potássio na modulação da dor. Acredita-se que a hiperpolarização de membrana provocada pela abertura dos canais de potássio, com conseqüente inibição da excitabilidade neuronal possa ter alguma importância na analgesia. Entre os diversos tipos de canais de potássio conhecidos os que tem despertado maior interesse no estudo da fisiopatologia da dor são principalmente os canais de potássio dependentes de cálcio (canais maxi-k) e o canal de potássio ATP-sensível. Do ponto de vista de hiperexcitabilidade neuronal, interessa principalmente, o canal de potássio cálcio-dependente (maxi-k), presente em elevada densidade em neurônios e células musculares lisas. A sensibilidade destes canais à voltagem e ao cálcio sugere que eles são ativados após o potencial de ação produzindo uma pós-polarização que limita a freqüência de disparo das células. Os ativadores destes canais representam uma possibilidade promissora como novas drogas anal-

gésicas. As dehidrosaponinas extraídas da *Desmodium adscendens* e as benzimidazonas substituídas (NS004 e NS1619) são potentes agentes que promovem a abertura dos canais maxi-k, porém são pouco seletivos e bloqueiam simultaneamente outros canais da membrana. O cromacalim, pinacidil e apricalim são compostos que ativam os canais de potássio ATP-sensíveis tipo I em vários tecidos e neurônios. Entretanto, não dispomos até o momento de estudos experimentais evidenciando a atividade analgésica destes agentes que causam abertura dos canais de potássio³⁰.

Os canais de cálcio também possuem destacada importância no mecanismo da analgesia. Os canais de cálcio voltagem dependente da membrana neuronal, tipo T, N e L, contribuem para a excitabilidade de neurônios sensoriais, sendo que os canais tipo N são particularmente importantes no controle da liberação de neuromediadores de terminais de neurônios sensoriais periféricos e centrais. Os canais N e L podem ser bloqueados por um grande número de drogas (dihidropiridinas) e neurotransmissores (opióides, GABA, neuropeptídeo Y) impedindo a sinalização nociceptiva na medula espinhal e modificando a excitabilidade em terminais de neurônios periféricos que indiretamente alteram os efeitos neurogênicos produzidos por neuropeptídeos sensoriais⁶.

A capsaicina exerce suas atividades analgésicas e antiinflamatórias pela dessensibilização de neurônios nociceptivos, com ações seletivas sobre os neurônios sensoriais primários A- δ e C. Tem sido empregada localmente no tratamento de diversas síndromes dolorosas, incluindo a neuralgia pós-herpética, neuropatia diabética, neuralgia do trigêmio, osteoartrite, artrite reumatóide, distrofia simpático reflexa, dor pós-mastectomia e na fibromialgia^{8,69,70}.

A capsaicina induz uma dessensibilização dos nociceptores neuronais por elevação inicial na permeabilidade ao cálcio. Parece que a elevação da concentração intracelular do cálcio promove a dessensibilização pela estimulação de uma enzima citossólica cálcio e

calmodolína-dependente (calcineurina). Inicialmente a capsaicina estimula a liberação de glutamato e neuropeptídios (neurocinina A, substância P e Peptídio Relacionado Geneticamente com a Calcitonina (GCRP) de neurônios periféricos e centrais, em consequência da elevação do influxo de cálcio na célula neuronal. Embora a capsaicina inicialmente estimule a liberação destes neuropeptídios (efeito algésico inicial), a aplicação repetida da droga promove, a longo prazo, um efeito inibitório que é o responsável pelas ações analgésicas e antiinflamatória. Após o tratamento crônico o estímulo nódico não mais libera o glutamato e neuropeptídios, apesar da presença de níveis normais destes neuropeptídios no terminal do neurônio. Este efeito inibitório da capsaicina tem sido atribuído à inibição dos canais de cálcio voltagem-dependentes, que são responsáveis pela liberação de neurotransmissores em terminais de neurônios periféricos e centrais. Mais recentemente foram desenvolvidos alguns análogos da capsaicina, destacando-se a capsazepina, olvanil, nuvanil e resiniferatoxina⁷⁰.

Carvalho WA, Lemônica L - Mecanismos Celulares e Moleculares da Dor Inflamatória. Modulação Periférica e Avanços Terapêuticos

UNITERMOS - DOR: aguda, inflamatória, mecanismos, modulação

REFERÊNCIAS

01. Becker EL - Chemotactic factors of inflammation. Trends Pharmacol Sci, 1983; 4(5):223-225.
02. Piper P - Leukotrienes. Trends Pharmacol Sci, 1983; 4 (2):75-77.
03. Akira S, Hirano T, Taga T et al - Biology of multifunctional cytokines: IL 6 and related molecules (IL-1 and TNF). FASEB J, 1990; 4: 2860-2867.
04. Adams DH, Nash GB - Disturbance of leucocyte circulation and adhesion to the endothelium as factors in circulatory pathology. Br J Anaesth, 1996; 77: 17-31.
05. Albelda SM, Buck CA - Integrins and other cell adhesion molecules. FASEB J, 1990;4:2868-2880.
06. Dray A - Inflammatory mediators of pain. Br J Anaesth, 1995; 75:125-131.
07. Coob JP, Hotchkiss RS, Karl IE et al - Mechanisms of cell injury and death. Br J Anaesth, 1996; 77: 3-10.
08. Bonica JJ, Yaksh T, Liebeskind JC et al - Biochemistry and modulation of nociception and pain. em: Bonica, JJ - The Management of Pain, 2nd Ed, vol 1, Malvern, Lea & Febiger, 1990; 95-121.
09. Meyer RA, Campbell FN, Raja SN - Peripheral neural mechanisms of nociception. em: Wall PD, Melzack R - Textbook of Pain, 3rd Ed, Edinburgh, Churchill Livingstone, 1994; 13-44.
10. Rang HP, Bevan S, Dray A - Nociceptive peripheral neurons: cellular properties, em: Wall PD, Melzack R Textbook of Pain, 3rd Ed, Edinburgh, Churchill Livingstone, 1994; 57-78.
11. Graziano MP, Gilman AG - Guanine nucleotide-binding regulatory protein: mediators of transmembrane signaling. Trends Pharmacol Sci, 1987;8: 478-481.
12. Linder ME, Gilman AG - G proteins. Scientific American, 1992; 36-43.
13. Alberts B, Bray D, Lewis J et al - Molecular Biology of the Cell, 2nd Ed, New York, Garland Publishing Inc, 1994.
14. Lordish H, Baltimore D, Berk A et al - Molecular Cell Biology, 3rd Ed, New York, Scientific American Books, 1995; 853-990.
15. Carvalho WA, Carvalho RDS, Medrado VC et al - Biologia Molecular dos Receptores Farmacológicos e Seus Sistemas Efetores de Interesse em Anestesiologia. Rev Bras Anestesiologia, 1997;47:2: 152-167.
16. Levine JD, Taiwo Y - Inflammatory Pain. In: Wall PD, Melzack R - Textbook of Pain, 3rd Ed, Edinburgh, Churchill Livingstone, 1994; 45-56.
17. Taiwo YO, Bjerknes L, Goetzl EJ et al - Mediation of primary afferent hyperalgesia by the cAMP second messenger system. Neuroscience, 1989;32: 577-580.
18. Ferreira SH - Hiperalgia inflamatória, óxido nítrico y control periférico del dolor. Revista Latino Americana de Dolor, 1995;1:2:6-17.
19. Dray A, Perkins M - Bradykinin and inflammatory pain. Trends Neurosci, 1993; 16: 99-104.
20. Ferreira SH, Duarte IDG, Lorenzetti BB - The molecular mechanism of action of morphine analgesia: stimulation of the cGMP system via nitric oxide release. Eur J Pharmacol, 1991;201:121-122.

21. Ferreira SH - The Role of Interleukins and Nitric Oxide in the Mediation of Inflammatory Pain and its Control by Peripheral Analgesics. *Drugs*, 1993; 46 (Suppl. 1):1-9
22. Ferreira SH, Lorenzetti BB, Bristow AF - Interleukin-1b as a potent hyperalgesic agent antagonized by a tripeptide analogue. *Nature*, 1988; 334: 698-700.
23. Lee JC, Badger AM, Griswold DE et al - Bicyclic imidazolines as a novel class of cytokine biosynthesis inhibitors. *Ann N Y Acad Sci*, 1993; 696:149-170.
24. Ganet C, Carrvette A, Fardin V - Pharmacological properties of a potent and selective non peptide substance P antagonist. *Proc Natl Acad. Sci*, 1991;88:10208-10212.
25. Stein C, Millan MJ, Shippenberg TS et al - Peripheral opioid receptors mediating antinociception in inflammation. Evidence for involvement of mu, delta and kappa receptors. *J Pharmacol Exp Ther*, 1989;248:1269-1275.
26. Stein C, Comisel K, Haimerl E et al - Analgesic effect of intraarticular Morphine after arthroscopic knee surgery. *N Engl J Med*, 1991;325:1123-1126.
27. Blackwell TS, Christman JW - Sepsis and cytokines: current status. *Br J Anaesth*, 1996;77:110-117.
28. Galley HF, Webster NR - The Immuno-inflammatory cascade. *Br J Anaesth*, 1996; 77: 11-16.
29. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS - *Imunologia Celular e Molecular*, Rio de Janeiro, Revinter, 1995; 239-258.
30. Rang HP, Urban L - New molecules in analgesia. *Br J Anaesth*, 1995; 75: 145-156.
31. Insel PA - Analgesic-Antipyretic and antiinflammatory agents and drugs employed in the treatment of gout, em: Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB et al - *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 9th Ed, New York, McGraw-Hill, 1996; 617-657.
32. Anand P - Nerve growth factor regulates nociception in human health and disease. *Br J Anaesth*, 1995; 75: 201-208.
33. McMahon JL, Dimitrieva N, Koltzenburg M - Visceral pain. *Br J Anaesth*, 1995; 75: 132- 144.
34. Barnes PJ, Adcock I - Anti-inflammatory actions of steroids: molecular mechanisms. *Trends Pharmacol Sci*, 1993; 14: 436-441.
35. Flower RJ, Rothwell NJ - Lipocortin-1: Cellular mechanisms and clinical relevance. *Trends Pharmacol Sci*, 1994; 15: 71-76
36. Vane JR, Botting RM - New insights into the mode of action of anti-inflammatory drugs. *Inflamm Res*, 1995; 1-10.
37. Samuelsson B, Granstrom E, Green K et al - Prostaglandins. *Ann Rev Biochem*, 1975; 44: 669-694.
38. Carvalho WA - Mecanismos de Ação das Drogas Anti-inflamatórias não-esteróides. I. Ações Farmacológicas das Prostaglandinas e Leucotrienos. *F Med*, 1990; 100: 37-44.
39. Carvalho WA - Analgésicos, Antipiréticos e Anti-inflamatórios, em: Silva P- *Farmacologia*, 4^a. Ed, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1994; 406-440.
40. Samuelsson B - The leukotrienes: a new group of biologically active compounds including SRS-A. *Trends Pharmacol Sci*, 1980; 1:9:227-230.
41. Meade EA, Smith WL, Dewitt DL - Differential inhibition of spinal nociceptive processing. *Pain*, 1993: 9-43.
42. Breder C, Saper CB - Expression of inducible cyclooxygenase mRNA in the mouse brain after systemic administration of bacterial lipopolysaccharide. *Brain Res*, 1996; 713:64-69.
43. Kaufmann WE, Worley PF, Pegg J et. al - COX-2, a synaptically induced enzyme, is expressed by excitatory neurons at postsynaptic sites in rat cerebral cortex. *Proc Natl Acad Sci*, 1996; 93:6:2317-2321.
44. Fiebich BL, Hüll M, Lieb K et al - Prostaglandin E2 induces interleukin-6 synthesis in human astrocytoma cells. *J Neurochem*, 1997; 68: 704-709.
45. Vane JR - *Neuronal Plasticity. Implications for Pain Therapy*. Foreward. *Drugs*, 1994; (Suppl.5): 1-47.
46. Fischer JW, Gross DM - Effects of prostaglandins on erythropoiesis, em: Silver M, Smith BJ, Kocsis JJ - *Prostaglandins in Haematology*, New York, Spectrum Publications Inc, 1977; 159-185.
47. Piper PJ, Vane JR - The release of prostaglandins from lung and other tissues. *Ann N Y Acad Sci*, 1971; 383-385.
48. Ferreira SH, Vane JR - Mode of action of antiinflammatory agents which are prostaglandin synthetase inhibitory. em: Vane JR, Ferreira SH - *Anti-inflammatory Drugs*, New York, Springer-Verlag, 1979; 348-398.
49. Moncada S, Ferreira SH, Vane JR - Pain and inflammatory mediators, em: Vane JR, Ferreira SH - *Hand Books of Experimental Inflammation*, New York, Springer-Verlag, 1978; 588-616.
50. Mitchell JA, Akarasereenont P, Thiemermann C et al - Selectivity of nonsteroid antiinflammatory drugs as inhibitors of constitutive and inducible cyclooxygenase. *Proc Natl Acad Sci*, 1993;90: 11693-11697.

51. Carvalho WA - Mecanismos de Ação de Drogas Antiinflamatórias não-esteróides. II. Ações Analgésicas, Antiinflamatórias e Antipiréticas. *F Med*, 1990; 100: 111-122.
52. Engelhart G, Homma D, Schlegel K et al - Antiinflammatory analgesic antipyretic and related properties of meloxicam, a new non-steroidal antiinflammatory agent with favourable gastrointestinal tolerance. *Inflamm Res*, 1995; 44 (10): 423-433.
53. Turck D, Bushc U, Heinzl G et al - Clinical pharmacokinetics of meloxicam. *Eur J Rheumatol Inflamm*, 1996; 15 (1): 23-30.
54. Masferrer JL, Zweifel BS, Manning PT et al - Selective inhibition of inducible cyclooxygenase-2 in vivo is antiinflammatory and nonulcerogenic. *Proc Natl Acad Sci*, 1994; 91: 3228-3232.
55. Needleman P - In search of a better NSAID. *Proceedings of the 9th International Conference on Prostaglandins and Related Compounds*, Florence, Italy, 1994; June 6-10.
56. Chan CC, Gondon R, Brideau C et al - In vivo pharmacology of L-745,377: a novel non-steroidal antiinflammatory agent (NSAID) with an ulcerogenic sparing effects in rat and monkey stomach. *Can J Physiol Pharmacol*, 1994; 72 (Suppl 1): 266.
57. Hirschelmann R, Hentschel M, Geissler J et al - CGP-28238 a new potent nonsteroidal antiinflammatory agent: its relation to arachidonic acid metabolism. *Agents Actions*, 1991; 32: 54-55.
58. Bendele AM, Benslay DN, Hom JT et al - Anti-inflammatory activity of BF389 a Di-t-butylphenol, in animal models of arthritis. *J Pharmacol Exp Ther*, 1992; 260: 300-305.
59. Wong S, Lee SJ, Frieson MR et al - Antiarthritic profile of BF-389 - a novel antiinflammatory agent with low ulcerogenic liability. *Agents Actions*, 1992; 37: 90-98.
60. Brooks PM - Tenidap - a new antiarthritic agent. *Agent Actions (Suppl)*, 1993; 44: 161-163.
61. Dannhardt G, Kefer W, Nowe U - Non-steroidal antiinflammatory agents. Part 19. E-2-pyrrolizin-5-yl acrylic acids as potent dual or selective inhibitors of bovine cyclooxygenase and 5-lipoxygenase. *Arch Pharm Weinheim*, 1995; 328: 681-686.
62. Bevilacqua M, Magni E - Recent contributions to knowledge of the mechanism of action of nimesulide. *Drugs*, 1993; 46 (Suppl 1): 40-47.
63. Buttermann AE, Maze M - Alpha-2 Adrenergic Agonists in Anesthesiology. *Semin Anesth*, 1996; 15: 27-40.
64. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA - Nitric Oxide: Physiology, Pathophysiology and Pharmacology. *Pharmacol Rev*, 1991; 43: 109-142.
65. Moore PK, Oluyomi AO, Babbedge RC et al - L-Ng-nitro-arginin methyl ester exhibits antinociceptive activity in the mouse. *Br J Pharmacol*, 1991, 102: 198-202.
66. Stein C - Peripheral and non-neuronal opioid effects. *Curr Opin Anaesth*, 1994, 7: 347-351.
67. Catterall W, Mackie K - Local Anesthetics. em: Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB et al - *Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics*, 9th Ed., New York, McGraw-Hill, 1996; 331-347.
68. Wann KT - Neural sodium and potassium channels: structure and function. *Br J Anaesth*, 1993; 71: 2-14.
69. Raj PP - Management of Pain Caused by Acute Herpes Zoster and Postherpetic Neuralgia. em: Raj, PP - *Current Review of Pain*, Philadelphia, Current Medicine, 1994; 209-223.
70. Winter J, Bevan S, Campbell EA - Capsaicin and pain mechanisms. *Br J Anaesth*, 1995; 75: 157-168.