

ATIVAÇÃO DOS RECEPTORES P2X3 E P2X2/3 AUMENTA A SUSCEPTIBILIDADE DO NEURÔNIO AFERENTE PRIMÁRIO À AÇÃO DA FORMALINA

Krimon, S.₁; Araldi, D.₁; Parada, C.A.₁, Oliveira-Fusaro, M.C.₂ 1 Laboratório de Dor e Inflamação, Departamento de Anatomia, Biologia Celular e Fisiologia e Biofísica, IB-UNICAMP. 2 Faculdade de Ciências Aplicadas, UNICAMP-Limeira.

Palavras-Chave: Nociceção, ATP, Formalina.

APOIO FINANCEIRO
FAPESP

INTRODUÇÃO

Foi demonstrado que o receptor P2X3 está envolvido na nociceção inflamatória induzida pela formalina na pata de ratos (McGaraughty S, Br J Pharmacol 146, 180, 2005). Recentemente demonstramos que durante a nociceção inflamatória induzida pela formalina, a ativação dos receptores TRPA-1 e a liberação de 5-HT dependem da liberação prévia de ATP e ativação dos receptores P2X3 e P2X2/3. Portanto, o objetivo inicial deste trabalho foi verificar se a ativação dos receptores P2X3 neuronais contribui para a nociceção inflamatória induzida pela formalina. Além disso, verificar se a ativação dos receptores P2X3 e P2X2/3 aumenta a susceptibilidade do neurônio aferente primário a ação da formalina nos receptores TRPA1 e da 5-HT endógena nos receptores 5-HT₃ e/ou 5-HT_{1A}.

MATERIAIS E MÉTODOS

PROCEDIMENTOS GERAIS

A análise comportamental foi realizada durante a fase clara (09 – 17h), em uma sala silenciosa com temperatura mantida a 23 ± 1°C (Rosland, 1991). Foram utilizados ratos Wistar machos pesando entre 150 e 250g, fornecidos pelo CEMIB. Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal – UNICAMP.

APLICAÇÃO DE DROGAS E ANÁLISE COMPORTAMENTAL

➤ **Agulha de 30 G conectada a seringa Hamilton de 50 µl**

➤ **Análise comportamental e quantificação de flinches**

➤ **Pré-tratamento intraganglionar com oligonucleotídeo antisense anti receptor P2X3**

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Teste Tukey foi aplicado para comparações múltiplas. O nível de significância foi ajustado em p<0,05. O programa PRISMA foi utilizado para realizar os cálculos estatísticos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Fig. 1. A ativação dos receptores P2X3 neuronais reduz a nociceção induzida pela formalina no tecido subcutâneo da pata de ratos

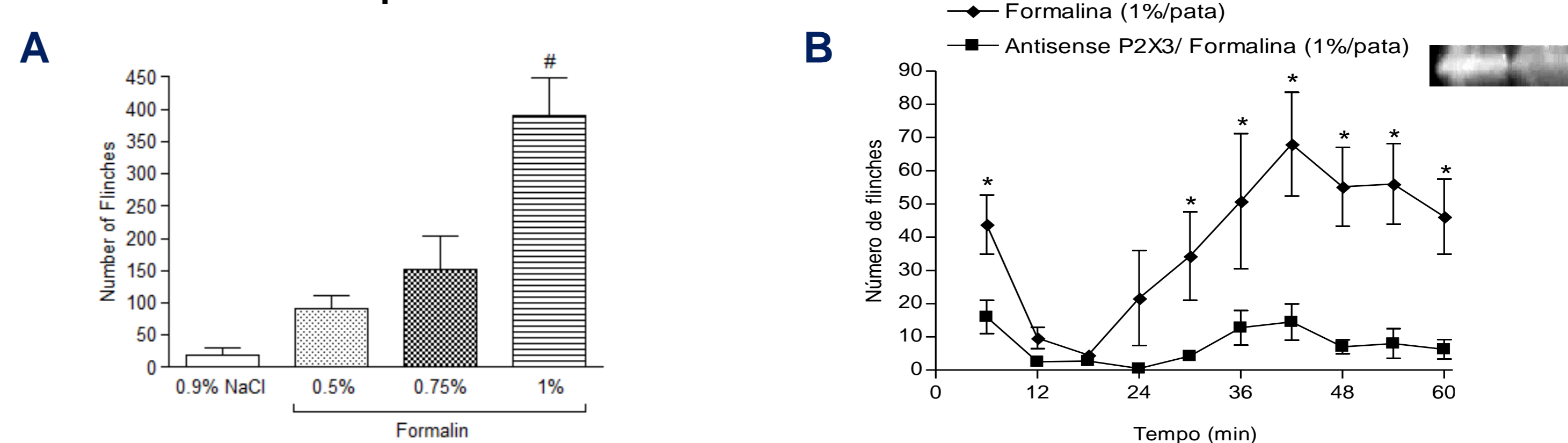


Fig.1. (A) A administração subcutânea de formalina (1%, mas não 0,5 ou 0,75%/pata) induziu respostas comportamentais nociceptivas significativamente maiores que as induzidas pela NaCl 0,9%, como indicado pelo símbolo “#” (p<0.05, teste Tukey). (B) O pré-tratamento com ODN antisense anti P2X3 (80µg/5µl, por 4 dias, i.gl.) reduziu significativamente (p<0.05) as respostas comportamentais nociceptivas induzidas pela administração de formalina (1%/pata) em ambas as fases de desenvolvimento, como indicado pelos símbolos “*” (p<0.05, Bonferroni test). Pré-tratamento com antisense reduziu a expressão dos receptores P2X3 no nervo safeno (western blot, 45kDA).

Fig. 2. A ativação dos receptores P2X3 e P2X2/3 aumenta a susceptibilidade do neurônio aferente primário a ação da formalina via ativação dos receptores TRPA-1, 5-HT₃ e 5-HT_{1A}

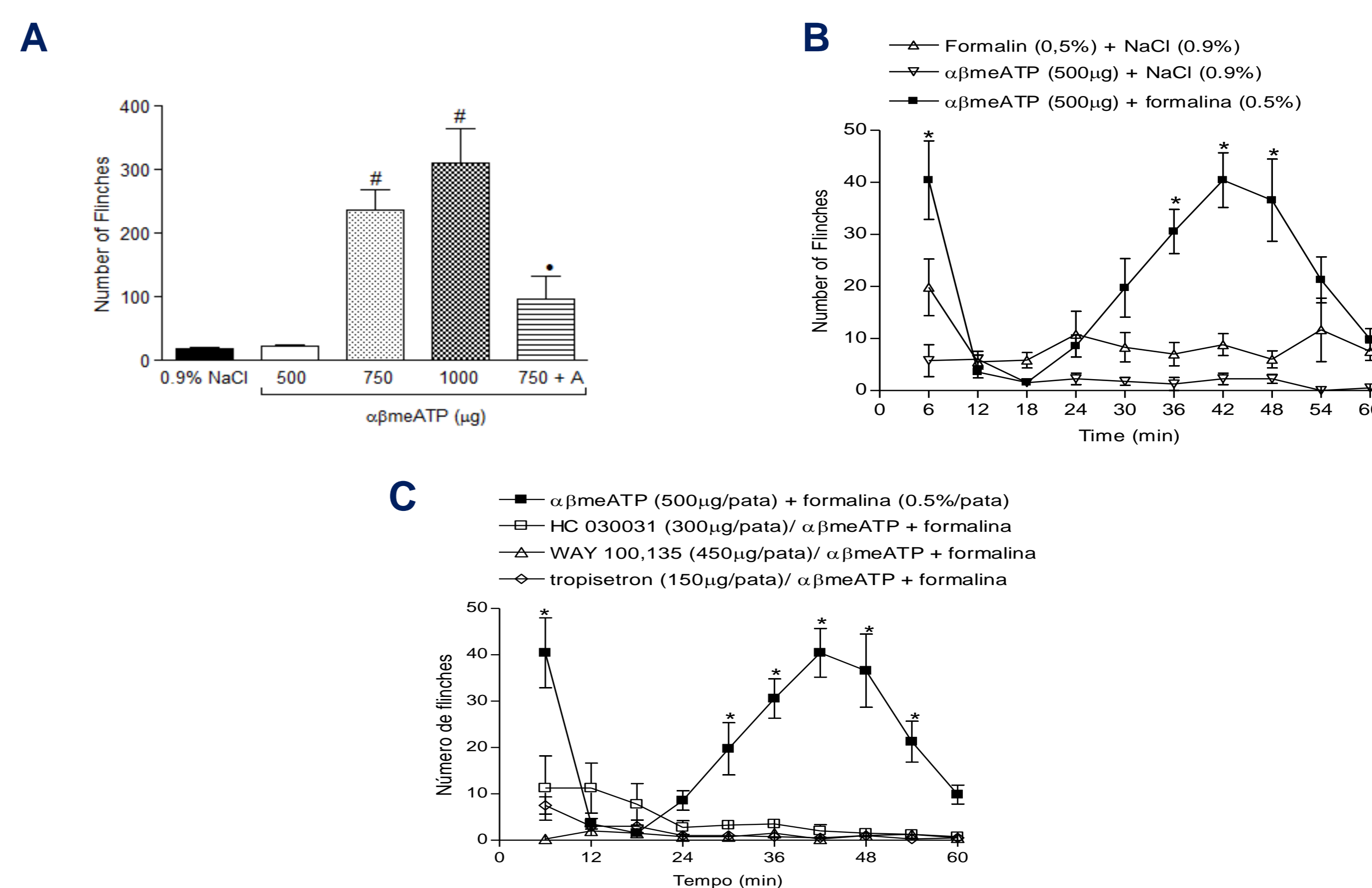


Fig.2. (A) A administração subcutânea do agonista não seletivo de receptor P2X3 αβmeATP (750 ou 1000, mas não 500µg/pata) induziram respostas comportamentais nociceptivas significativamente maiores que as induzidas pela NaCl 0,9%, como indicado pelo símbolo “#” (p<0.05, teste Tukey). A co-administração do antagonista seletivo de receptores P2X3 e P2X2/3 A-317491 [A] reduziu significativamente a nociceção induzida pelo αβmeATP (750 µg/pata), como indicado pelo símbolo “*”, p<0,05 teste T). (B) A co-administração das doses sublimiarias de formalina (0,5%/pata) e α,β-meATP (500µg/pata) induziu uma resposta comportamental nociceptiva significativamente maior que a induzida pelos outros tratamentos, como indicado pelo símbolo “***” (p<0,05, teste Bonferroni). (C) O pré-tratamento (5 min) com o antagonista seletivo de receptor de TRPA-1 HC 030031 (300µg/pata), de 5-HT₃ tropisetron (150µg/pata) ou de 5-HT_{1A} WAY 100,135 (450µg/pata) reduziu significativamente (p<0,05, teste Bonferroni) a resposta comportamental nociceptiva induzida pela co-administração das doses sublimiarias de formalina (0,5%/pata) e α,β-meATP (500µg/pata), como indicado pelos símbolos “***”.

CONCLUSÃO

Os resultados indicam que a ativação dos receptores P2X3 neuronais estão envolvidos na nociceção inflamatória induzida pela formalina no tecido subcutâneo da pata de ratos. Além disso, a ativação dos receptores P2X3 e P2X2/3 aumenta a susceptibilidade do neurônio aferente primário a ação da formalina nos receptores TRPA-1, 5-HT₃ e 5-HT_{1A}. Em suma, os resultados deste estudo evidenciam os receptores P2X3 como alvos interessantes para o controle das dores inflamatórias.