



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



CURSO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Monografia de Final de Curso

2006

Aluna: Nádia Cristina Fávaro Moreira

Orientadora: Cláudia Herrera Tambeli

Unidade /Instituição: Dept. Ciências Fisiológicas - FOP/UNICAMP

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Cláudia", written over a horizontal line.

Cláudia Herrera Tambeli

Nádia Cristina Fávaro Moreira

**ESTUDO DO EFEITO PERIFÉRICO NÃO GENÔMICO DO
ESTRÓGENO NA NOCICEPÇÃO INDUZIDA POR FORMALINA NA
ATM DE RATOS**

Monografia apresentada ao curso de Odontologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, para obtenção do Diploma de Cirurgião-Dentista.

Orientadora: Cláudia Herrera Tambeli

**Piracicaba
-2006-**



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



À comissão,

Esta monografia foi desenvolvida a partir do projeto científico do qual participei durante minha graduação. Este projeto foi financiado, através de bolsa de auxílio à pesquisa, pela FAPESP, com o protocolo de número 05/60217-7. Foi apresentado em congressos e publicado nos anais dos mesmos, listados a seguir: SBPqO, Brazilian Oral Research – Volume 20 – Supplement – September 2006 (ISSN 1806 – 8324) , página 129 (lc079) ; XIV Congresso Interno de Iniciação Científica – UNICAMP (PIBIC) – Caderno de Resumos – página 70 (B0199) ; e IV Congresso Internacional de Odontologia e XIII Jornada Odontológica de Piracicaba - Brazilian Journal of Oral Sciences – July/September 2006 – Volume 5. Number 18 (ISSN 1677-3217) página 1142 (135), sendo neste último homenageado através de menção honrosa na categoria Fórum Científico. Dessa forma, diferente das monografias de revisão de literatura, esta apresentará um formato mais completo. Um artigo está sendo elaborado para posterior publicação.

Obrigada
Nádia Cristina Fávaro Moreira

TCC 303

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
BIBLIOTECA

Dedico este trabalho aos meus pais como um meio de retribuir o amor e a esperança que depositaram em mim.

Agradecimentos

Aos meus pais, Augusto e Cristina, e à minha irmã Paula devo todas as minhas conquistas pois sei o quanto lutaram, com muito amor e dedicação, para proporcionarem à mim as melhores oportunidades.

Ao meu namorado Guilherme e sua família pelo carinho, apoio e estímulo.

Aos meus amigos pelo apoio eterno e carinho: Letícia, Cesinha, Higa, Keila, Amanda, Fernando, Rodrigo, Gabriela, Ana Lúcia, Chris, Dona Teresinha, Taciana, Tatiana, Yoko e muitos outros não menos importantes para mim.

Às minhas amigas Luana, Karlita e Mariana por me ensinarem tão pacientemente, inspirarem e ajudarem com este trabalho.

Aos meus professores por edificarem, aos poucos, o que sou hoje, o que me permitiu chegar até aqui. Em especial à professora Cláudia H. Tambeli por sempre me orientar com muita sabedoria e paciência.

À Deus que colocou em meu caminho pessoas maravilhosas com as quais eu pude aprender muito.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

Lista de Gráficos	07
1. Resumo	08
2. Introdução	09
3. Desenvolvimento	11
3.1. Materiais e Métodos	11
3.1.1. Animais	11
3.1.2. Drogas	11
3.1.3. Administração de drogas na região da ATM	12
3.1.4. Teste comportamental	12
3.1.5. Confirmação do local da injeção	13
3.1.6. Ovariectomia	13
3.2. Delineamento experimental	14
3.3. Análise estatística	14
4. Resultados	15
5. Discussão	18
6. Conclusão	20
7. Anexos	21
7.1. Resumos	21
7.2. Certificados	22
8. Referências bibliográficas	25

LISTA

- Figura 1. (A e B) Efeito antinociceptivo periférico do estrógeno na ATM. 16
- Figura 2. Participação do GMPc no efeito antinociceptivo periférico induzido pelo estrógeno na ATM. 17

1. RESUMO

A maior prevalência e severidade das condições dolorosas da articulação temporomandibular (ATM) no sexo feminino sugere que os hormônios sexuais modulam a dor da ATM. Estudos recentes demonstram que o estrógeno tem efeito antinociceptivo mediado por um mecanismo não genômico no sistema nervoso periférico. Dados obtidos em nosso laboratório, também sugerem um papel antinociceptivo do estrógeno, uma vez que ratas com altos níveis sistêmicos de estrógeno exibem menor comportamento nociceptivo induzido pela injeção experimental de formalina na ATM. Adicionalmente, as fêmeas com altos níveis de estrógeno necessitam de uma maior dose local de inibidor da Guanilato ciclase (ODQ) para expressar um aumento nessa resposta nociceptiva. O objetivo desse estudo foi investigar os mecanismos envolvidos no efeito antinociceptivo do estrógeno na ATM de ratas. Para isso testou-se a hipótese de que o estrógeno reduz a dor na ATM através de um mecanismo não genômico no sistema nervoso periférico, envolvendo a liberação endógena do segundo mensageiro Guanosina Monofosfato cíclico (GMPc). Os resultados demonstraram que a co-administração de formalina (1,5%) e estrógeno sozinho ou conjugado com albumina plasmática na ATM de ratas ovariectomizadas (OVX) induziu uma resposta nociceptiva significativamente menor que aquela observada com a administração de formalina e propilenoglicol (veículo do estrógeno). O efeito antinociceptivo do estrógeno foi revertido pela administração do antagonista de receptores estrogênicos e do inibidor da guanilato ciclase. Esses dados sugerem que a ativação de receptores estrogênicos de membrana localizados na região da ATM reduz a dor da ATM através de um mecanismo mediado pela liberação endógena de GMPc.

2. INTRODUÇÃO

A maior prevalência e severidade das condições dolorosas da articulação temporomandibular (ATM) no sexo feminino (Riley e Gilbert 2001) sugere que os hormônios sexuais modulam a dor da ATM. O estrógeno, principal hormônio sexual feminino, tem um papel complexo envolvendo quase todas as estruturas do corpo (McEwen 2001). Suas ações incluem a modulação da expressão gênica (Amandusson et al. 1999; Holland et al. 1998; Priest et al. 1995), de sistemas de segundos mensageiros (Moss et al. 1997; Kelly et al. 1999) e da atividade de vias neurais (Mermelstein et al. 1996; Chaban et al. 2003) em áreas do sistema nervoso que reconhecidamente participam da transmissão e modulação da informação nociceptiva. Além de seus receptores nucleares clássicos, que regulam a expressão gênica (McEwen 2001), recentemente foi demonstrada a existência de receptores de estrógeno localizados na membrana plasmática, com farmacologia idêntica aos receptores nucleares (Razandi et al. 1999; Ma et al. 2005), porém responsáveis por efeitos rápidos, incompatíveis com uma resposta genômica (Simoncini and Genazzani 2003). A ativação desses receptores de membrana está associada a um efeito antinociceptivo mediado pela modulação direta da atividade da fibra nociceptiva aferente primária, através da inibição de canais de cálcio (Lee et al. 2002; Chaban et al. 2003; Ma et al. 2005). Dados obtidos em nosso laboratório reforçam a idéia de que o estrógeno desempenha um papel antinociceptivo, uma vez que os altos níveis fisiológicos desse hormônio, observados durante a fase proestro do ciclo estral (Clemente et al. 2004), ou a reposição exógena em ratas ovariectomizadas (OVX, dados não publicados) diminui a nocicepção induzida pela injeção experimental de formalina na ATM. Adicionalmente, dados obtidos recentemente em nosso laboratório demonstram que as fêmeas em proestro necessitam de uma maior dose local do inibidor da Guanilato ciclase, *1H-(1,2,4)-oxadiazolo (4,2-a)quinoxalin-1-one* (ODQ), para expressar um aumento nessa resposta nociceptiva, quando comparadas as fêmeas em diestro. Como o proestro e o diestro são as fases do ciclo estral com altos e baixos níveis de estrógeno respectivamente, esse dado sugere que o

mecanismo pelo qual os altos níveis de estrógeno presentes no proestro reduzem a dor da ATM poderia ser mediado pelo menos em parte, por uma aumento da produção de GMPc. No entanto, no caso do proestro o estrógeno poderia estar atuando tanto em mecanismos genômicos quanto não genômicos e em diferentes níveis do processamento da informação nociceptiva. Apesar de existirem receptores de estrógeno na ATM (Aufdemorte et al. 1986; Abubaker et al. 1993; Yamada et al. 2003) e na membrana de neurônios nociceptivos primários (Chaban and Micevych 2005), não se sabe se o efeito antinociceptivo induzido pelo estrógeno na ATM de ratas é mediado, por uma ação periférica, através de um mecanismo não genômico que leve ao aumento na produção de GMPc. Para avaliar essa possibilidade o estrógeno, conjugado ou não com albumina plasmática, foi co-administrado com formalina (1,5%) na ATM de ratas OVX. Na seqüência, estrógeno foi co-administrado com formalina e o antagonista de receptores estrogênicos ou o inibidor da guanilato ciclase na ATM de ratas OVX.

3. DESENVOLVIMENTO

3.1. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1.1. Animais

Para realização deste trabalho foram utilizados ratos e ratas Wistar pesando entre 150 a 250 g, provenientes do CEMIB e mantidos no Biotério da FOP - UNICAMP. Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas (5 por gaiola) contendo maravalha, em ambiente com controle de luminosidade (ciclos claro/escuro de 12h) com alimentação e água, ad libitum.

Os procedimentos experimentais foram submetidos ao Comitê de Ética de Experimentação Animal da Universidade Estadual de Campinas e estão de acordo com as diretrizes determinadas pelo Comitê de Ética da Associação Internacional para Estudo da Dor (IASP), em animais conscientes (Zimmermann 1983). Em particular, a duração dos experimentos foi a menor possível (45 minutos) e o número de animais usados foi mantido ao mínimo necessário (aproximadamente 6 por grupo).

3.1.2. Drogas

Formalina – 1,5%, solução de formaldeído a 37% diluída em NaCl 0,9%.

Estrógeno- 1,2 µg (Vandenput et al. 2002).

ICI 182-780- antagonista seletivo de receptores de estrógeno 6 µg (Vandenput et al. 2002).

Estrógeno conjugado á albumina (estrógeno BSA)- 1,2 µg de estrógeno mais BSA.

ODQ (1H-(1,2,4)-oxadiazolo (4,2-a)quinoxalin-1-one) 80µg, inibidor da guanilato ciclase (Cunha et al. 1999).

Todas as drogas foram adquiridas da Sigma–SP, Brasil, exceto ICI182-780 adquirido da TOCRIS. . Os estrógenos foram dissolvidos em propilenoglicol, o ICI182-780 e o ODQ foram dissolvidos em dimetil sulfóxido (DMSO).

3.1.3. Administração de drogas na região da ATM

Os animais foram brevemente anestesiados por inalação de Halotano. A seguir, uma agulha calibre 30, conectada a uma seringa de microlitro Hamilton, por um tubo de polietileno P50, foi inserida na porção inferior da borda pósteroinferior do arco zigomático, sendo avançada em direção anterior até contactar a região pósterolateral do côndilo (Roveroni et al. 2001). O volume de injeção foi de 15µl por droga.

3.1.4. Teste comportamental

As sessões de teste foram realizadas durante a fase clara entre 9h e 17h em sala silenciosa, com temperatura ambiente mantida a 25°C. Durante o teste os animais não tiveram acesso à água ou à comida. Para minimizar o estresse durante as sessões experimentais, os animais foram previamente manipulados pelo pesquisador por um período de 7 dias. Para a realização das análises comportamentais uma caixa de observação medindo 30x30x30 cm com base e 3 laterais espelhadas e frente de vidro foi utilizada. Cada animal foi inicialmente colocado e mantido na caixa por 10 minutos para habituar-se ao ambiente de experimentação e minimizar o estresse.

Imediatamente após a injeção periarticular o animal já consciente, foi recolocado na câmara de observação e as respostas comportamentais caracterizadas pelo ato de coçar a região injetada com a pata dianteira ou traseira e pelo ato de levantar reflexamente a cabeça foram quantificadas durante 45 minutos, divididos em 9 blocos de 5 minutos. O tempo em segundos que o animal permaneceu coçando a região orofacial foi quantificado através da utilização de

um cronômetro, e o número de vezes que o animal levantou reflexamente a cabeça foi quantificado por um contador de células (Roveroni *et al.*, 2001). Considerando que o ato de levantar reflexamente a cabeça segue um padrão uniforme de 1 s de duração, a intensidade da resposta nociceptiva foi quantificada somando-se esse comportamento ao ato de coçar a região injetada, como previamente padronizado (Roveroni *et al.* 2001).

3.1.5. Confirmação do local da injeção

Após o término de cada análise comportamental foi feita a confirmação visual do local da administração da formalina (*pos-mortem*). Para isso, após indução anestésica através da administração intraperitoneal de uma mistura de uretano e α -cloralose (100mg/kg e 50mg/kg, respectivamente), o corante azul de Evans (1%; 5mg/Kg) foi injetado, intracardiacamente. Após dez minutos, o animal foi submetido à perfusão cardíaca com soro fisiológico. Como o corante Azul de Evans se liga às proteínas plasmáticas, o local da injeção foi identificado visualmente, de acordo com a aparência do corante extravasado (Haas *et al.* 1992).

3.1.6. Ovariectomia

Foi realizada aos 21 dias de idade, previamente à puberdade (Green *et al.* 1999). Para isso, os animais foram anestesiados através da administração intraperitoneal de pentobarbital (50 mg/Kg). A região correspondente ao ovário a ser removido foi depilada com auxílio de um depilador elétrico. Com o animal posicionado lateralmente, os ovários se localizam a 1cm de distância da coluna vertebral e a 1cm abaixo da última costela. Uma incisão de 1cm foi realizada, paralelamente ao longo eixo do animal, seguindo-se de uma divulsão dos tecidos adjacentes até exposição do ovário, para permitir a ligadura logo abaixo do mesmo, com fio de sutura. O ovário então foi excisionado, os tecidos

reposicionados e suturados em planos. Procedimento similar foi realizado no lado oposto, na mesma sessão cirúrgica.

3.2. Delineamento experimental

Os experimentos foram realizados em ratas ovariectomizadas porque o déficit de estrógeno sistêmico possivelmente contribui para a aferição do efeito puramente periférico.

Com o objetivo de determinar o efeito periférico do estrógeno na nocicepção induzida pela administração de formalina na ATM, o estrógeno ou seu veículo (propilenoglicol) foi co-administrado com formalina 1,5% na ATM. Com o objetivo de confirmar a especificidade da resposta do estrógeno sobre os receptores estrogênicos o antagonista seletivo de receptores de estrógeno ICI 182-780 foi co-administrado com formalina e estrógeno ou seu veículo (propilenoglicol) na ATM. Com o objetivo de determinar se o efeito periférico do estrógeno é mediado por receptores de membrana, o estrógeno conjugado com albumina, uma proteína plasmática impermeável através da membrana celular, foi co-administrado com formalina na ATM. Com o objetivo de determinar os possíveis mecanismos envolvidos no efeito periférico do estrógeno, foi testada a hipótese de que o estrógeno reduz a dor na ATM através da ativação da via de sinalização celular dependente de GMPc (guanosina monofosfato cíclico), para isso o inibidor da guanilato ciclase (ODQ) foi co-administrado com formalina e estrógeno ou seu veículo (propilenoglicol) na ATM.

3.3. Análise Estatística

Os comportamentos nociceptivos registrados durante os 45 minutos de observação foram somados e utilizados em todas as análises estatísticas. Dados com homogeneidade de variância foram analisados por ANOVA e as comparações múltiplas foram realizadas pelo teste de Tukey. Os resultados estão apresentados pela média \pm epm e o nível de significância de $p < 0.05$ será utilizado.

4. RESULTADOS

A administração de estrógeno na ATM reduziu significativamente a nocicepção induzida pela administração de formalina (Fig. 1 A). O efeito do estrógeno foi totalmente revertido pela co-administração do antagonista de receptores estrogênicos (Fig. 1 A), o que demonstra a especificidade do efeito sobre receptores estrogênicos.

A administração de estrógeno conjugado com albumina (E-BSA) reduziu significativamente a nocicepção induzida pela formalina na ATM (Fig. 1 B). Como a albumina é uma proteína plasmática impermeável através da membrana celular, esse resultado indica que a antinocicepção induzida pelo estrógeno na ATM é mediada pela ativação de receptores estrogênicos localizados na membrana plasmática de células da região da ATM.

O efeito do estrógeno foi totalmente revertido pela co-administração do inibidor da guanilato ciclase ODQ (Fig. 2), o que demonstra que a antinocicepção induzida pelo estrógeno na ATM de ratas é mediada pelo aumento na produção de GMPc.

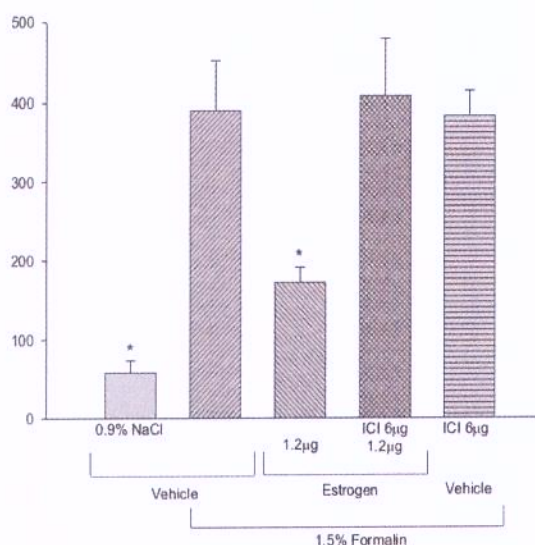
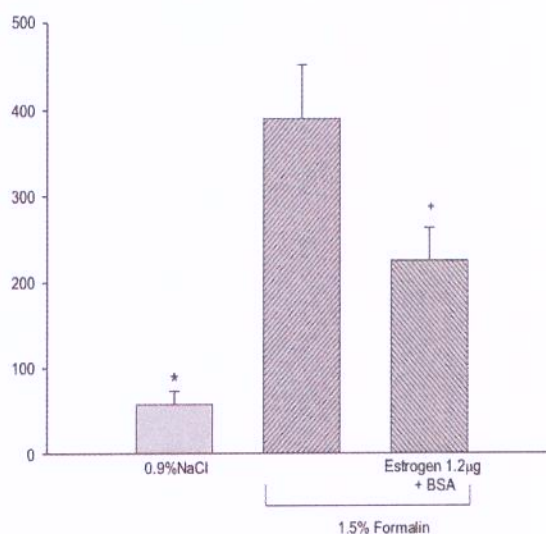
A.**B.**

Figura 1 - Efeito antinociceptivo periférico do estrógeno na ATM.

A - A administração de estrógeno na ATM de ratas OVX reduziu significativamente a nocicepção induzida pela administração de formalina. Esse efeito foi revertido pelo antagonista de receptores estrogênicos (ICI 182-780). O símbolo * indica que a resposta induzida pela administração de salina (0.9% NaCl) e estrógeno (1,2 µg) com formalina na ATM é significativamente menor que a observada nos demais grupos ($p < 0,05$, teste de Tukey).

B - A administração de estrógeno conjugado com albumina na ATM de ratas OVX reduziu significativamente a nocicepção induzida pela administração de formalina. O símbolo * indica que a resposta induzida pela administração de salina (0.9% NaCl) é significativamente menor que a observada após administração de formalina. O símbolo + indica que a resposta induzida pela administração de estrógeno conjugado com albumina (E-BSA) mais formalina na ATM é significativamente menor que a observada após administração de formalina ($p < 0,05$, teste de Tukey).

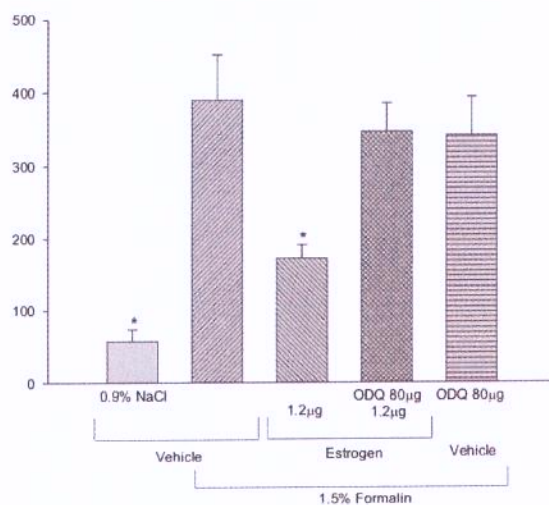


Figura 2 - Participação do GMPc no efeito antinociceptivo periférico induzido pelo estrógeno na ATM.

2-O efeito antinociceptivo do estrógeno na ATM foi revertido pelo inibidor da guanilato ciclase ODQ. Esses dados sugerem que o GMPc participa do efeito antinociceptivo periférico induzido pelo estrógeno na ATM. O símbolo * indica que a resposta induzida pela administração de salina (0.9% NaCl) e estrógeno (1,2 g) com formalina na ATM é significativamente menor que a observada nos demais grupos ($p < 0,05$, teste de Tukey).

5. DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo demonstram que a ativação de receptores de estrógeno localizados na região da ATM reduz a dor experimental induzida pela injeção de formalina na ATM de ratas OVX (Fig 1 A). O fato do antagonista ICI 182-780 não atravessar a barreira hematoencefálica (Clark et al. 2003), confirma o efeito periférico do estrógeno. O efeito antinociceptivo do estrógeno sobre a dor da ATM já havia sido demonstrado em estudos animais (Clemente et al. 2004), que estão de acordo com dados clínicos demonstrando que a dor por DTM em mulheres é maior durante a fase de baixo nível de estrógeno do ciclo menstrual (LeResche et al. 2003). No entanto, como nesses casos o efeito antinociceptivo é induzido por altos níveis fisiológicos e sistêmicos de estrógeno, esse hormônio poderia estar exercendo seu efeito através da ativação de diferentes mecanismos em diferentes níveis da transmissão e processamento da informação nociceptiva. Nosso resultado demonstrando que a administração de estrógeno na ATM reduz o comportamento nociceptivo induzido pela injeção de formalina na ATM de ratas sugere que pelo menos parte do efeito antinociceptivo induzido pelos altos níveis fisiológicos de estrógeno em mulheres e animais pode ser consequência de um mecanismo periférico. De fato, a expressão de receptores de estrógeno já foi demonstrada na ATM de humanos (Aufdemorte et al. 1986) e animais (Abubaker et al. 1993; Yamada et al. 2003), e é maior em indivíduos com sinais de DTM do que em indivíduos controles (Aufdemorte et al. 1986).

Os mecanismos de ação clássicos do estrógeno envolvem a regulação da transcrição gênica, através da ativação de receptores localizados no núcleo da célula (McEwen 2001). No entanto, o efeito antinociceptivo é observado neste estudo poucos minutos após a injeção de estrógeno, o que é incompatível com uma ação genômica, que necessitaria de vários minutos a horas para a sua evidenciação (Orimo et al. 1993). O caráter não-genômico do efeito antinociceptivo do estrógeno foi comprovado, pela administração de estrógeno conjugado com albumina plasmática (Fig. 1 B). Como a albumina é uma proteína impermeável através da membrana celular, a ação do conjugado estrógeno-

albumina é restrita a receptores localizados na membrana celular. Esse resultado está de acordo com estudos eletrofisiológicos que sugerem um papel antinociceptivo periférico não genômico do estrógeno através da modulação direta da atividade da fibra nociceptiva aferente primária pela inibição de canais de cálcio (Lee et al. 2002; Chaban et al. 2003; Ma et al. 2005).

A administração na ATM do inibidor da guanilato ciclase, enzima responsável pela produção de GMPc, bloqueou totalmente o efeito antinociceptivo induzido pelo estrógeno (Fig. 2). Esse resultado sugere que o efeito antinociceptivo periférico não genômico demonstrado é mediado, pelo menos em parte, pelo aumento na produção de GMPc na região da ATM. Esse resultado é suportado por evidências que demonstram o estrógeno conjugado à albumina pode estimular a formação de GMPc em células endoteliais (Russell et al. 2000) e pancreáticas (Roper et al. 1999) e que a produção desse segundo mensageiro está relacionada ao efeito analgésico de vários fármacos (Ventura-Martinez et al. 2004; Deciga-Campos and Lopez-Munoz 2004) .

6. CONCLUSÃO

Esse estudo contribui de forma significativa para o adequado entendimento dos mecanismos através dos quais o estrógeno reduz a dor da ATM e poderá ser útil para o estabelecimento de futuros tratamentos que alcancem um maior índice de sucesso, permitindo manejar a poderosa influência que o status hormonal exerce sobre a sintomatologia dolorosa do paciente.

7. ANEXOS

7.1. RESUMOS

IC079 Estudo do efeito periférico do estrógeno na nociceção induzida por formalina na articulação temporomandibular de ratos

Moreira NCF*, Fischer L, Torres-Chavez KE, Tambeli CH
Ciências Fisiológicas - UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS.
E-mail: nadiavavaro@gmail.com

Evidências sugerem que o estrógeno reduz a atividade da fibra nociceptiva primária através do controle de canais iônicos. O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito periférico do estrógeno na nociceção da articulação temporomandibular (ATM) de ratos. Para isso foram utilizados ratos e ratas wistar. As fêmeas foram ovariectomizadas (OVX) ou submetidas a estrogações vaginais para identificação da fase diestro do ciclo estral. Salina ou Formalina (1,5%) co-administrada com estrógeno (1,2 µg) ou seu veículo (propiltioglicol) foi injetada na ATM de machos e fêmeas em diestro e OVX. Formalina (1,5%) foi co-administrada com estrógeno ou seu veículo e com o antagonista de receptores estrógenicos (ICI 182-780, 1 e 6 µg) na ATM de fêmeas em diestro e OVX. As respostas comportamentais nociceptivas foram quantificadas por 45 min e utilizadas como medida quantitativa de dor (Pain, 94,185, 2001). Os dados foram analisados por ANOVA e teste de Tukey ($p < 0,05$). A administração de estrógeno reduziu significativamente a nociceção induzida por formalina na ATM de fêmeas em diestro (143 ± 24 , $n = 8$) em relação ao seu veículo (390 ± 53 , $n = 7$), mas não afetou a nociceção nos machos (189 ± 45 , $n = 5$ e 188 ± 25 , $n = 5$). O efeito do estrógeno foi revertido pela administração do antagonista de receptores estrógenicos em fêmeas em diestro (347 ± 31 , $n = 6$) e OVX (408 ± 71 , $n = 7$). Esses dados sugerem que a ativação de receptores estrógenicos localizados na região da ATM reduz a nociceção da ATM em fêmeas.

IC 079

XIV Congresso Interno de Iniciação Científica - UNICAMP - 27/09 a 28/09 de 2006

B0199 EFEITO ANTINOCICEPTIVO PERIFÉRICO DO ESTRÓGENO NA ATM DE RATAS É MEDIADO PELA LIBERAÇÃO ENDÓGENA DE GMPC

Nádia Cristina Fávoro Moreira (Bolsista FAPESP), Luana Fischer, Karla Elena Torres-Chávez e Prof. Dra. Claudia Herrera Tambeli (Orientadora), Faculdade de Odontologia de Piracicaba - FOP, UNICAMP

A administração local de estrógeno reduz a nociceção induzida por formalina na ATM de ratas ovariectomizadas (OVX). O objetivo desse estudo foi verificar se o efeito antinociceptivo periférico do estrógeno na nociceção da ATM é mediado pela liberação endógena de GMPC. Foram utilizadas ratas Wistar ovariectomizadas. Salina ou Formalina (1,5%) foi co-administrada com estrógeno ou seu veículo e com o antagonista de receptores estrógenicos (ICI 182-780, 6µg) ou com o inibidor da guanilato ciclase (ODQ, 80µg) na ATM. As respostas comportamentais nociceptivas foram quantificadas por 45 min e utilizadas como medida quantitativa de dor (Pain, 94,185, 2001). Os dados foram analisados por ANOVA e teste de Tukey ($p < 0,05$). A administração de estrógeno reduziu significativamente a nociceção induzida por formalina na ATM de fêmeas OVX (200 ± 32 , $n = 8$) em relação ao seu veículo (390 ± 53 , $n = 7$). O efeito antinociceptivo do estrógeno foi revertido pela administração do antagonista de receptores estrógenicos (408 ± 71 , $n = 7$) e do inibidor da guanilato ciclase ($366,8 \pm 38,5$). Esses dados sugerem que a ativação de receptores estrógenicos localizados na região da ATM reduz a nociceção da ATM através de um mecanismo mediado pela liberação endógena de GMPC.

Estrógeno - Antinociceção - ATM

B 0199
(Pag. 70)

135. PERIPHERAL MECHANISMS INVOLVED IN ESTROGEN-MEDIATED ANALGESIA IN THE RAT TMJ

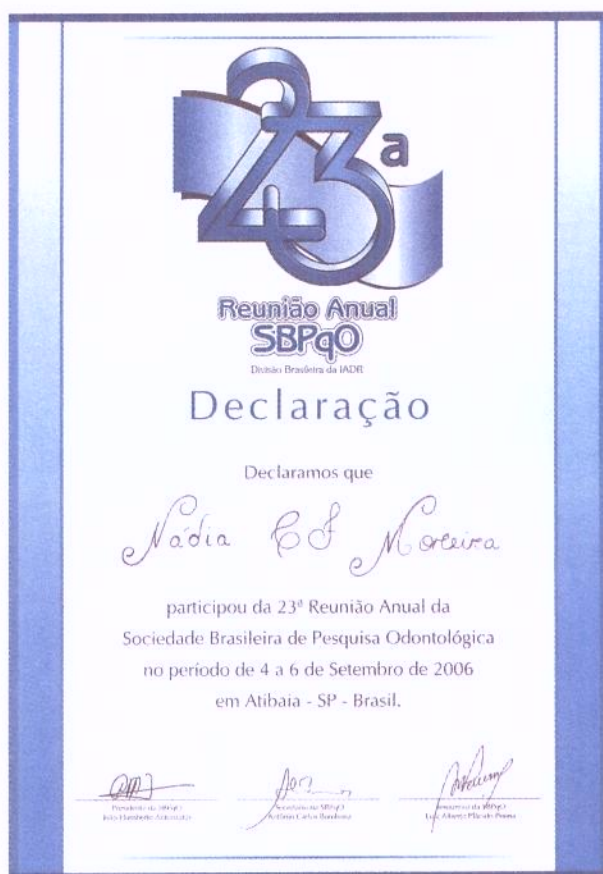
MOREIRA, NCF; FISCHER, L; TORRES-CHÁVEZ, KE; TAMBELI, CH
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA - FOP,
UNICAMP.

We have previously demonstrated that estrogen decreases formalin-induced temporomandibular joint (TMJ) pain in female rats. The aim of this study was to evaluate if this effect is mediated by a membrane-associated estrogen receptor and endogenous GMPC. Ovariectomized (OVX) Wistar rats were used. Saline or Formalin (1.5%) was co-administered in the TMJ with estrogen, estrogen coupled to serum albumin (E-BSA) or its vehicle and with the estrogenic receptor antagonist ICI 182-780 (6µg) or the guanilato cyclase inhibitor (ODQ, 80µg). The formalin-induced nociceptive behavior was quantified for 45 min and used as a quantitative nociceptive behavior measure (Pain, 94, 185, 2001). Data were analyzed by ANOVA and Tukey tests ($p < 0,05$). Administration of estrogen ($200,5 \pm 32,0$, $n = 8$) or E-BSA ($205,3 \pm 22,81$, $n = 6$) administration into the TMJ significantly reduced formalin-induced TMJ nociception compared with its vehicle ($390,2 \pm 53,1$, $n = 7$). Since albumin does not diffuse through the plasma membrane, the conjugate estrogen-albumin has a restrict action in membrane-associated estrogen receptors. The antinociceptive effect of estrogen was completely blocked by ICI 182-780 ($408,6 \pm 71,2$, $n = 7$) and by ODQ ($366,8 \pm 38,5$, $n = 6$). These findings suggest that activation of membrane-associated estrogen receptors into the TMJ region decreases TMJ pain through a GMPC mediated mechanism.

135

7.2. CERTIFICADOS

CERTIFICADOS SBPqO



CERTIFICADO PIBIC



CERTIFICADOS JOP

**IV CONGRESSO INTERNACIONAL DE ODONTOLOGIA
XIII JORNADA ODONTOLÓGICA DE PIRACICABA**
02 a 06 de Outubro de 2006



Certificado

Certificamos que **NADIA CRISTINA FAVARO MOREIRA** apresentou o trabalho intitulado "**MECANISMOS PERIFÉRICOS ENVOLVIDOS NA ANALGESIA MEDIADA PELO ESTRÓGENO NA ATM DE RATAS.**", MOREIRA, NCF; FISCHER, L; TORRES-CHÁVEZ, KE; TAMBELI, CH., no **FÓRUM CIENTÍFICO** do IV Congresso Internacional de Odontologia da UNICAMP e XIII Jornada Odontológica de Piracicaba, na Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, no dia **05/10/2006**.


Prof. Dr. Mário Alexandre Coelho Sinhoreti
Presidente do Congresso


Samantha Cristine S. X. B. Cavalcanti
Vice-presidente do Congresso

**IV CONGRESSO INTERNACIONAL DE ODONTOLOGIA
XIII JORNADA ODONTOLÓGICA DE PIRACICABA**
02 a 06 de Outubro de 2006



Certificado

MENÇÃO HONROSA

Certificamos que **NADIA CRISTINA FAVARO MOREIRA**, autora do trabalho intitulado "**MECANISMOS PERIFÉRICOS ENVOLVIDOS NA ANALGESIA MEDIADA PELO ESTRÓGENO NA ATM DE RATAS.**", MOREIRA, NCF; FISCHER, L; TORRES-CHÁVEZ, KE; TAMBELI, CH., foi vencedora na categoria **FÓRUM CIENTÍFICO**, apresentado no dia **05/10/2006**, no **SALA EXTRA**, durante o IV Congresso Internacional de Odontologia da UNICAMP e XIII Jornada Odontológica de Piracicaba.


Prof. Dr. Mário Alexandre Coelho Sinhoreti
Presidente do Congresso


Samantha Cristine S. X. B. Cavalcanti
Vice-presidente do Congresso

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abubaker AO, Raslan WF, Sotereanos GC. Estrogen and progesterone receptors in temporomandibular joint discs of symptomatic and asymptomatic persons: a preliminary study. *J Oral Maxillofac Surg* 1993;51(10):1096-1100.
- Amandusson A, Hallbeck M, Hallbeck AL, Hermanson O, Blomqvist A. Estrogen-induced alterations of spinal cord enkephalin gene expression. *Pain* 1999;83(2):243-248.
- Aufdemorte TB, Van Sickels JE, Dolwick MF, Sheridan PJ, Holt GR, Aragon SB, Gates GA. Estrogen receptors in the temporomandibular joint of the baboon (*Papio cynocephalus*): an autoradiographic study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1986;61(4):307-314.
- Chaban VV, Mayer EA, Ennes HS, Micevych PE. Estradiol inhibits atp-induced intracellular calcium concentration increase in dorsal root ganglia neurons. *Neuroscience* 2003;118(4):941-948.
- Chaban VV, Micevych PE. Estrogen receptor-alpha mediates estradiol attenuation of ATP-induced Ca²⁺ signaling in mouse dorsal root ganglion neurons. *J Neurosci Res* 2005;81(1):31-37.
- Clark AS, Guarraci FA, Megroz AB, Porter DM, Henderson LP. The display of sexual behaviors by female rats administered ICI 182,780. *Horm Behav* 2003;43(4):454-464.
- Clemente JT, Parada CA, Veiga MC, Gear RW, Tambeli CH. Sexual dimorphism in the antinociception mediated by kappa opioid receptors in the rat temporomandibular joint. *Neurosci Lett* 2004;372(3):250-255.
- Cunha FQ, Teixeira MM, Ferreira SH. Pharmacological modulation of secondary mediator systems--cyclic AMP and cyclic GMP--on inflammatory hyperalgesia. *Br J Pharmacol* 1999;127(3):671-678.
- Deciga-Campos M, Lopez-Munoz FJ. Participation of the L-arginine-nitric oxide-cyclic GMP-ATP-sensitive K⁺ channel cascade in the antinociceptive effect of rofecoxib. *Eur J Pharmacol* 2004;484(2-3):193-199.

- Green PG, Dahlqvist SR, Isenberg WM, Strausbaugh HJ, Miao FJ, Levine JD. Sex steroid regulation of the inflammatory response: sympathoadrenal dependence in the female rat. *J Neurosci* 1999;19(10):4082-4089.
- Haas DA, Nakanishi O, MacMillan RE, Jordan RC, Hu JW. Development of an orofacial model of acute inflammation in the rat. *Arch Oral Biol* 1992;37(5):417-422.
- Holland KL, Norby LA, Micevych PE. Peripubertal ontogeny and estrogen stimulation of cholecystinin and preproenkephalin mRNA in the rat hypothalamus and limbic system. *J Comp Neurol* 1998;392(1):48-57.
- Kelly MJ, Lagrange AH, Wagner EJ, Ronnekleiv OK. Rapid effects of estrogen to modulate G protein-coupled receptors via activation of protein kinase A and protein kinase C pathways. *Steroids* 1999;64(1-2):64-75.
- Lee DY, Chai YG, Lee EB, Kim KW, Nah SY, Oh TH, Rhim H. 17Beta-estradiol inhibits high-voltage-activated calcium channel currents in rat sensory neurons via a non-genomic mechanism. *Life Sci* 2002;70(17):2047-2059.
- LeResche L, Mancl L, Sherman JJ, Gandara B, Dworkin SF. Changes in temporomandibular pain and other symptoms across the menstrual cycle. *Pain* 2003;106(3):253-261.
- Ma B, Rong W, Dunn PM, Burnstock G. 17beta-estradiol attenuates alpha, beta-meATP-induced currents in rat dorsal root ganglion neurons. *Life Sci* 2005;76(22):2547-2558.
- McEwen BS. Invited review: Estrogens effects on the brain: multiple sites and molecular mechanisms. *J Appl Physiol* 2001;91(6):2785-2801.
- Mermelstein PG, Becker JB, Surmeier DJ. Estradiol reduces calcium currents in rat neostriatal neurons via a membrane receptor. *J Neurosci* 1996;16(2):595-604.
- Moss RL, Gu Q, Wong M. Estrogen: nontranscriptional signaling pathway. *Recent Prog Horm Res* 1997;52:33-68; discussion 68-39.
- Orimo A, Inoue S, Ikegami A, Hosoi T, Akishita M, Ouchi Y, Muramatsu M, Orimo H. Vascular smooth muscle cells as target for estrogen. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;195(2):730-736.

- Priest CA, Eckersell CB, Micevych PE. Estrogen regulates preproenkephalin-A mRNA levels in the rat ventromedial nucleus: temporal and cellular aspects. *Brain Res Mol Brain Res* 1995;28(2):251-262.
- Razandi M, Pedram A, Greene GL, Levin ER. Cell membrane and nuclear estrogen receptors (ERs) originate from a single transcript: studies of ERalpha and ERbeta expressed in Chinese hamster ovary cells. *Mol Endocrinol* 1999;13(2):307-319.
- Ropero AB, Fuentes E, Rovira JM, Ripoll C, Soria B, Nadal A. Non-genomic actions of 17beta-oestradiol in mouse pancreatic beta-cells are mediated by a cGMP-dependent protein kinase. *J Physiol* 1999;521 Pt 2:397-407.
- Roveroni RC, Parada CA, Cecilia M, Veiga FA, Tambeli CH. Development of a behavioral model of TMJ pain in rats: the TMJ formalin test. *Pain* 2001;94(2):185-191.
- Russell KS, Haynes MP, Sinha D, Clerisme E, Bender JR. Human vascular endothelial cells contain membrane binding sites for estradiol, which mediate rapid intracellular signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97(11):5930-5935.
- Simoncini T, Genazzani AR. Non-genomic actions of sex steroid hormones. *Eur J Endocrinol* 2003;148(3):281-292.
- Vandenput L, Swinnen JV, Van Herck E, Verstuyf A, Boonen S, Bouillon R, Vanderschueren D. The estrogen receptor ligand ICI 182,780 does not impair the bone-sparing effects of testosterone in the young orchidectomized rat model. *Calcif Tissue Int* 2002;70(3):170-175.
- Ventura-Martinez R, Deciga-Campos M, Diaz-Reval MI, Gonzalez-Trujano ME, Lopez-Munoz FJ. Peripheral involvement of the nitric oxide-cGMP pathway in the indomethacin-induced antinociception in rat. *Eur J Pharmacol* 2004;503(1-3):43-48.
- Yamada K, Nozawa-Inoue K, Kawano Y, Kohno S, Amizuka N, Iwanaga T, Maeda T. Expression of estrogen receptor alpha (ER alpha) in the rat temporomandibular joint. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 2003;274(2):934-941.

Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. Pain 1983;16(2):109-110.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
BIBLIOTECA