



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

ISABELA COELHO NOVAES

**Diferenças somatossensoriais entre o sistema
espinal e trigeminal em resposta à capsaicina tópica**

Piracicaba

2023

ISABELA COELHO NOVAES

**Diferenças somatossensoriais entre o sistema
espinal e trigeminal em resposta à capsaicina tópica**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestra em Odontologia, na Área de Fisiologia Oral.

Orientador: Prof. Dr. Yuri Martins Costa

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO
FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA
ALUNA ISABELA COELHO NOVAES E
ORIENTADA PELO PROF. DR. YURI MARTINS
COSTA.

Piracicaba

2023

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

N856d Novaes, Isabela Coelho, 1996-
Diferenças somatossensoriais entre o sistema espinal e trigeminal em
resposta à capsaicina tópica / Isabela Coelho Novaes. – Piracicaba, SP : [s.n.],
2023.

Orientador: Yuri Martins Costa.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade
de Odontologia de Piracicaba.

1. Capsaicina. 2. Hiperalgisia. I. Costa, Yuri Martins, 1987-. II.
Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba.
III. Título.

Informações Complementares

Título em outro idioma: Capsaicin-induced sensitization differences between the trigeminal
and spinal innervation

Palavras-chave em inglês:

Capsaicin

Hyperalgisia

Área de concentração: Fisiologia Oral

Titulação: Mestra em Odontologia

Banca examinadora:

Yuri Martins Costa [Orientador]

Daniel Ciampi Araujo de Andrade

Antônio Pedro Ricomini Filho

Data de defesa: 24-05-2023

Programa de Pós-Graduação: Odontologia

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-6613-3557>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/4504678564052811>



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Odontologia de Piracicaba

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada em 24 de maio de 2023, considerou a candidata ISABELA COELHO NOVAES aprovada.

PROF. DR. YURI MARTINS COSTA

PROF. DR. DANIEL CIAMPI ARAUJO DE ANDRADE

PROF. DR. ANTÔNIO PEDRO RICOMINI FILHO

A Ata da defesa, assinada pelos membros da Comissão Examinadora, consta no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha mãe, Myrna Jordão Coelho, que sempre esteve ao meu lado me apoiando em todas as decisões e nunca mediu esforços para me ajudar e me proporcionar a melhor educação. Eu te amo, mãe, sem você eu não teria chegado até aqui.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Myrna Jordão Coelho e João Batista Novaes Júnior, pela vida, educação e amor. Por cuidarem de mim, me ensinarem, me incentivarem e me apoiarem em todas as decisões. Mãe, obrigada por todo o cuidado e amor e por estar ao meu lado em todos os momentos. Por ser minha companheira nos congressos e pela paciência de me ouvir treinar várias vezes todos os trabalhos importantes que apresento. Você é minha maior apoiadora! Não tenho palavras para expressar a minha gratidão e o meu amor. Ao meu pai, por sempre me incentivar nos estudos. Guardo na minha memória tudo que aprendi com você, todas as atividades e para casa que fizemos juntos. Agradeço à minha irmã, Laurie Coelho Venturi, pelo apoio, cuidado e amizade. Agradeço à minha avó Maria do Carmo, meu maior exemplo de dedicação, e ao meu avô João Batista, exemplo de leveza e felicidade.

Agradeço a todos meus tios e tias, maternos e paternos, especialmente às tias Cristina, Dedeia e Valéria, por todo carinho e amor. Aos meus primos, pela amizade e companheirismo. À minha prima Germana, por ter sido mãe e amiga, por ter me recebido na sua casa, cuidado de mim e por estar do meu lado em um momento tão difícil. Minha gratidão e amor por todos vocês.

Aos meus amigos da vida, obrigada por estarem comigo em todos os momentos. Em especial à Larissa Gazzi, por tantos anos de amizade, pela paciência e por todas as trocas. Aos meus amigos Scoparo e Thainá, obrigada por todo incentivo e pelos momentos juntos.

Obrigada a todos os meus professores e colegas da graduação, pela base da minha educação, especialmente ao Professor Dr. Paulo Antônio por todo conhecimento e pelo carinho e amor pela docência. Agradeço por me ensinar e despertar em mim o interesse pela área acadêmica. Ao professor José Mario, agradeço imensamente por ter me apresentado essa área tão importante da Odontologia que é a DTM e a Dor Orofacial. Agradeço também aos meus professores e colegas de Bauru que me ensinaram e ainda me ensinam tanto sobre Dor Orofacial, especialmente aos professores Dr. Paulo Conti, Dra. Juliana Stugiski Barbosa, Dr. Leonardo Bonjardin, Dra. Carolina Ortigosa e Dr. Flávio Augusto Cardoso. Também

gostaria de agradecer à minha dupla, Débora Assaf, pelas trocas e por ser um exemplo de profissional e docente para mim.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Yuri Martins Costa, grande exemplo de profissional, professor e pesquisador, agradeço por ter aberto portas e ter confiado a mim este trabalho. Obrigada por me ensinar tanto sobre pesquisa, docência, Dor Orofacial e, principalmente, por me ensinar a base que é a Fisiologia. Agradeço pela amizade, pela paciência e por me incentivar a fazer coisas que eu não acreditava que conseguiria.

Aos professores da FOP, especialmente às professoras Dra. Michelle Leite e Dra. Fernanda Klein, agradeço pelos ensinamentos e por me fazerem encantar por essa área tão linda e importante que é a Fisiologia.

Aos amigos que fiz na FOP, principalmente meus irmãos de orientador, Soraya e Allen, não tenho palavras para agradecer pela paciência, por terem me mostrado todos os caminhos, por estarem presentes em todos os momentos de felicidade e desespero, por serem solícitos e me ensinarem tanto. Agradeço por todas as trocas e pela amizade. Agradeço aos meus colegas de apartamento, Anne, Klinger e Allen, por todo suporte, por terem me acolhido em Piracicaba e por serem minha família nesse período. Levarei vocês sempre comigo. Agradeço à Lorena pelo carinho, amor e paciência. Vocês trouxeram alegria e leveza para os meus dias.

Agradeço aos pacientes por terem confiado em mim e participado da pesquisa. Sem vocês nada disso seria possível.

À Universidade Estadual de Campinas, na pessoa do Magnífico Reitor Prof. Dr. Antônio José de Almeida Meirelles, e em especial à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, na pessoa de seu Diretor Prof. Dr. Flávio Aguiar, minha imensa admiração e orgulho pela instituição que foi tão importante para minha formação profissional e pessoal.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior/CAPES pelo apoio para a realização deste trabalho - Código de Financiamento 001.

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, na pessoa do Prof. Dr. Antônio Pedro Ricomini Filho, em especial à área de Fisiologia Oral, meu agradecimento a todo corpo docente pelos ensinamentos, incentivo para a produção científica e pelas oportunidades oferecidas.

RESUMO

Os sistemas espinal e trigeminal, apesar de serem considerados homólogos, apresentam diversas diferenças anatômicas e fisiológicas, principalmente na forma como eles respondem ou se adaptam à lesão. O objetivo principal deste estudo foi comparar o grau de hiperalgesia secundária induzida pela capsaicina tópica entre a inervação espinal e trigeminal. Este ensaio clínico cruzado incluiu 40 indivíduos (20 homens e 20 mulheres), em que 0,25 gramas de creme de capsaicina a 1% foram aplicados aleatoriamente por 45 minutos em uma área circular de 2 cm² no masseter e antebraço em 2 sessões separadas por pelo menos 24 horas e não mais que 72h (período de washout). Uma sessão basal foi realizada para incluir o efeito das flutuações naturais na sensibilidade somatossensorial. As principais variáveis de resultado foram a área de alodinia e hiperalgesia à picada e limiares elétricos e mecânicos dentro da área de hiperalgesia. Modelos mistos de ANOVA e teste de McNemar foram aplicados aos dados ($p < 0,050$). Os sistemas trigeminal e espinal diferenciaram-se significativamente em resposta à capsaicina tópica. A incidência de alodinia e hiperalgesia foi maior no antebraço do que no masseter ($p < 0,05$). Além disso, as áreas de hiperalgesia à picada e alodinia foram maiores no antebraço quando comparadas com o masseter ($p < 0,050$). Os limiares de dor elétrica e mecânica indicaram perda de função somatossensorial no masseter após a capsaicina ($p < 0,050$), enquanto não houve ganho significativo de função no antebraço após a capsaicina ($p > 0,050$). Assim, a região trigeminal é menos suscetível aos efeitos de sensibilização da capsaicina tópica, o que sugere diferenças relevantes nos mecanismos centrais de sensibilização entre a inervação trigeminal e espinal.

Palavras-chave: Capsaicina, Sensibilização Central, Hiperalgesia Secundária, Inervação espinal, Inervação Trigeminal.

ABSTRACT

The spinal and trigeminal systems, despite being considered homologous, present several anatomical and physiological differences, mainly in the way they respond or adapt to injury. The primary aim of this study was to compare the degree of secondary hyperalgesia induced by topical capsaicin between spinal and trigeminal innervation. This crossover clinical trial included 40 individuals (20 male and 20 female) where 0.25 grams of 1% capsaicin cream was randomly applied for 45 min in a circular area of 2 cm² at the masseter and forearm in 2 sessions separated by at least 24 h and no more than 72h (washout period). A baseline session was performed to include the effect of natural fluctuations in somatosensory sensitivity. The main outcome variables were the area of allodynia and pinprick hyperalgesia and electrical and mechanical thresholds within the area of pinprick hyperalgesia. Mixed ANOVA models and McNemar test were applied to the data ($p < 0.050$). The trigeminal and spinal systems differentiated significantly in response to topical capsaicin. The incidence of allodynia and hyperalgesia was higher in the forearm than in the masseter ($p < 0.05$). Also, the areas of punctate hyperalgesia and allodynia were larger in the forearm when compared with the masseter ($p < 0.050$). Moreover, electrical, and mechanical pain thresholds indicated a loss of somatosensory function at the masseter after capsaicin ($p < 0.050$), whereas there was no significant gain of function at the forearm after capsaicin ($p > 0.050$). Thus, the trigeminal region is less susceptible to the sensitization effects of topical capsaicin, which suggest relevant differences in central sensitization mechanisms between the trigeminal and spinal innervation.

Keywords: Capsaicin, Central Sensitization, Secondary Hyperalgesia, Spinal Innervation, Trigeminal Innervation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Nas fases do estudo, 40 participantes saudáveis (20 homens e 20 mulheres) foram incluídos e completaram todas as sessões.

Figura 2 - Marcação da área de aplicação da capsaicina (2cm²) em antebraço (A) e masseter (B).

Figura 3 - Aplicação do creme de capsaicina em antebraço (A) e masseter (B).

Figura 4 - Filme plástico posicionado sob o creme em antebraço e masseter.

Figura 5 - A. Instrumentos utilizados para realizar o mapeamento da área de alodinia (pincel) e hiperalgesia (filamento de von Frey). B. Mapeamento da área de alodinia. C. Mapeamento da área de hiperalgesia.

Figura 6 - Delimitação da área de alodinia e hiperalgesia em antebraço (A) e masseter (B).

Figura 7 - Transferência das áreas de hiperalgesia e alodinia para o papel vegetal.

Figura 8 - Filamento de von Frey (Aesthesio).

Figura 9 - Teste utilizando o filamento de von Frey

Figura 10 - Aparelho Neurometer CPT/C (Neurotron).

Figura 11 - Teste CPT realizado em antebraço (A) e masseter (B).

Figura 12- Média das áreas de alodinia e hiperalgesia à picada desenvolvida em reposta à aplicação tópica de capsaicina a 1% no masseter e antebraço. As barras de erro indicam o erro padrão da média.

Figura 13 - Correlação entre modulação da dor condicionada e área de hiperalgesia, e entre modulação condicionada da dor e intensidade média de dor após aplicação tópica de capsaicina. A e B referem-se à aplicação do estímulo teste na região anterior do músculo temporal (modulação da dor trigeminal).

C e D referem-se à aplicação do estímulo teste na região tenar (modulação da dor espinal).

Figura 14 - Correlação entre área de hiperalgesia e intensidade média de dor após aplicação tópica de capsaicina. A corresponde à avaliação no masseter (sítio trigeminal); B refere-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).

Figura 15 – Correlação entre escala de ansiedade hospitalar (HADS) e área de hiperalgesia secundária após aplicação tópica de capsaicina, e entre HADS e intensidade média de dor durante aplicação tópica de capsaicina. A e B correspondem à avaliação do masseter (sítio trigeminal); C e D referem-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).

Figura 16 - Correlação entre escala de ansiedade hospitalar (HADS) e área de hiperalgesia secundária após aplicação tópica de capsaicina, e entre HADS e intensidade média de dor durante aplicação tópica de capsaicina em mulheres. A e B correspondem à avaliação do masseter (sítio trigeminal); C e D referem-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).

Figura 17 - Correlação entre escala de ansiedade hospitalar (HADS) e área de hiperalgesia secundária após aplicação tópica de capsaicina, e entre HADS e intensidade média de dor durante aplicação tópica de capsaicina em homens. A e B correspondem à avaliação do masseter (sítio trigeminal); C e D referem-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).

Figura 18 - Correlação entre escala de depressão hospitalar (HADS) e área de hiperalgesia secundária após aplicação tópica de capsaicina, e entre HADS e intensidade média de dor durante aplicação tópica de capsaicina. A e B correspondem à avaliação do masseter (sítio trigeminal); C e D referem-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).

Figura 19 - Correlação entre escala de depressão hospitalar (HADS) e área de hiperalgesia secundária após aplicação tópica de capsaicina, e entre HADS e intensidade média de dor durante aplicação tópica de capsaicina em mulheres. A e B correspondem à avaliação do masseter (sítio trigeminal); C e D referem-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).

Figura 20 - Correlação entre escala de depressão hospitalar (HADS) e área de hiperalgesia secundária após aplicação tópica de capsaicina, e entre HADS e intensidade média de dor durante aplicação tópica de capsaicina em homens. A e B correspondem à avaliação do masseter (sítio trigeminal); C e D referem-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).

Figura 21 - Correlação entre o Índice de Qualidade do Sono de Pittsburgh (PSQI) e a área de hiperalgesia secundária após a aplicação tópica de capsaicina, e entre o PSQI e a intensidade média da dor durante a aplicação tópica de capsaicina. A e B correspondem à avaliação do masseter (sítio trigeminal); C e D referem-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).

Figura 22 - Correlação entre o Índice de Qualidade do Sono de Pittsburgh (PSQI) e a área de hiperalgesia secundária após a aplicação tópica de capsaicina, e entre o PSQI e a intensidade média da dor durante a aplicação tópica de capsaicina em mulheres. A e B correspondem à avaliação do masseter (sítio trigeminal); C e D referem-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).

Figura 23 - Correlação entre o Índice de Qualidade do Sono de Pittsburgh (PSQI) e a área de hiperalgesia secundária após a aplicação tópica de capsaicina, e entre o PSQI e a intensidade média da dor durante a aplicação tópica de capsaicina em homens. A e B correspondem à avaliação do masseter (sítio trigeminal); C e D referem-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).

Figura 24 – Correlação entre Escala de Catastrofização da Dor (PCS) e área de hiperalgesia secundária após aplicação tópica de capsaicina, e entre PCS e intensidade média de dor durante aplicação tópica de capsaicina. A e B correspondem à avaliação do masseter (sítio trigeminal); C e D referem-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).

Figura 25 - Correlação entre Escala de Catastrofização da Dor (PCS) e área de hiperalgesia secundária após aplicação tópica de capsaicina, e entre PCS e intensidade média de dor durante aplicação tópica de capsaicina em mulheres. A e B correspondem à avaliação do masseter (sítio trigeminal); C e D referem-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).

Figura 26 - Correlação entre Escala de Catastrofização da Dor (PCS) e área de hiperalgesia secundária após aplicação tópica de capsaicina, e entre PCS e intensidade média de dor durante aplicação tópica de capsaicina em homens. A e B correspondem à avaliação do masseter (sítio trigeminal); C e D referem-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).

Figura 27 - Correlação entre a Escala de Estresse Percebido (PSS) e área de hiperalgesia secundária após aplicação tópica de capsaicina, e entre PSS e intensidade média de dor durante aplicação tópica de capsaicina. A e B correspondem à avaliação do masseter (sítio trigeminal); C e D referem-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).

Figura 28 - Correlação entre a Escala de Estresse Percebido (PSS) e área de hiperalgesia secundária após aplicação tópica de capsaicina, e entre PSS e intensidade média de dor durante aplicação tópica de capsaicina em mulheres. A e B correspondem à avaliação do masseter (sítio trigeminal); C e D referem-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).

Figura 29 - Correlação entre a Escala de Estresse Percebido (PSS) e área de hiperalgesia secundária após aplicação tópica de capsaicina, e entre PSS e intensidade média de dor durante aplicação tópica de capsaicina em homens. A e B correspondem à avaliação do masseter (sítio trigeminal); C e D referem-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Resultado das áreas de flare, alodinia e hiperalgesia à picada de estudos publicados anteriormente utilizando capsaicina tópica com concentrações, tempo e área de aplicação diferentes.
- Tabela 2 - Proporção e intervalo de confiança (IC) de 95% dos participantes que desenvolveram áreas de alodinia e hiperalgesia no masseter e antebraço após 45 min de aplicação tópica de capsaicina a 1%.
- Tabela 3 - Média, Desvio Padrão (DP) e Intervalo de Confiança (IC) da média de dor, área sob a curva (AUC) e dor máxima após aplicação tópica de capsaicina (1%) em masseter e antebraço.
- Tabela 4 - Média, Desvio Padrão (DP) e Intervalo de confiança da média (95% IC) dos testes limiar de detecção mecânica (MDT), limiar de dor mecânica (MPT) e limiar de percepção de corrente (CPT) em três frequências (2k, 250 e 5). Os tempos de avaliação foram basal 1 (B1), basal 2 (B2), sessão antes da capsaicina (AC) e depois (DC) da aplicação tópica de capsaicina a 1% aplicada em dois locais (masseter e antebraço) em duas sessões diferentes.
- Tabela 5 - Número de indivíduos que apresentaram diferenças relevantes para os testes de limiar de detecção mecânica (MDT), limiar de dor mecânica (MPT) e limiar de percepção de corrente (CPT – 2k, 250 e 5 Hz) antes e após aplicação tópica de capsaicina 1%.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASIC1	Canal iônico sensível ao ácido
CGRP	Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina
CPM	Modulação Condicionada da Dor
CPT	Limiar de percepção de corrente
DP	Desvio Padrão
DRG	Gânglio da raiz dorsal
EVA	Escala visual analógica
fMRI	Ressonância Magnética Funcional
HADS	Escala hospitalar de ansiedade e depressão
IB4	Isolectina B4
IC	Intervalo de Confiança
LC	Locus Coeruleus
LTP	Potenciação de longa duração
MDT	Limiar de detecção mecânica
MPT	Limiar de dor mecânica
mTOR	Alvo mecanístico da rapamicina
NS	Nociceptivo específico
PAG	Substância Cinzenta Periaquedutal
PBL	Núcleo Parabraquial Lateral

PBN	Núcleo Parabraquial
PCS	Escala de catastrofização da dor
PRF	Formação reticular da ponte
PSS	Escala de estresse percebido
PSQI	Índice de qualidade do sono de Pittsburgh
QST	Testes quantitativos sensoriais
RVM	Medula Rostroventral
SC	Sensibilização Central
SEM	Erro padrão de mensuração
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Sistema Nervoso Periférico
SpVc	Subnúcleo caudal do trigêmeo
TG	Gânglio trigeminal
TRPV1	Transient receptor potential cation channel subfamily V member 1
WDR	Ampla faixa dinâmica

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	19
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	25
2.1 Nocicepção e Hiperalgisia.....	25
2.2 Capsaicina e TRPV1	28
2.2.1 TRPV1	34
2.2.2 Capsaicina Tópica	37
2.2.3 Efeitos da capsaicina na região trigeminal	41
2.3 Diferença entre os sistemas trigeminal e espinal	43
3 PROPOSIÇÃO.....	51
4 MATERIAIS E MÉTODOS	52
4.1 Amostra	52
4.2 Variáveis de desfecho	52
4.3 Desenho experimental.....	53
4.4 Avaliação da área de hiperalgisia secundária e alodinia	56
4.5 Avaliação somatossensorial.....	58
4.6 Avaliação da intensidade de dor	61
4.7 Avaliação da modulação condicionada da dor	61
4.8 Análise estatística	62
5 RESULTADOS.....	64
5.1 Área de hiperalgisia secundária e alodinia	64
5.2 Intensidade de dor	65
5.3 Alterações Somatossensoriais.....	66
5.4 Modulação Condicionada da Dor.....	69
5.5 Aspectos Psicossociais	70
6 DISCUSSÃO	79
7 CONCLUSÃO	84
REFERÊNCIAS*	85
ANEXO 1 – Relatório de Similaridade	95
ANEXO 2 – Documento de aprovação no CEP	96

1 INTRODUÇÃO

Modelos experimentais de dor humana aprofundam o entendimento sobre os mecanismos da nocicepção, inflamação e analgesia (Lötsch et al., 2014). Em geral, eles mimetizam os sinais clínicos característicos da dor aguda ou crônica sem causar danos irreversíveis ao indivíduo (Enax-Krumova et al., 2017). Além disso, apresentam a vantagem de serem mais padronizados em relação ao tipo e grau da lesão e indivíduos estudados (normalmente indivíduos saudáveis), em comparação às pesquisas clínicas com pacientes (Dirks et al., 2003). Grande parte deles induzem o ganho sensorial, por exemplo, hiperalgesia por estimulação elétrica, injeção intramuscular de glutamato ou fator de crescimento nervoso, capsaicina intradérmica ou tópica e mentol tópico; ou perda sensorial, por isquemia ou compressão nervosa (Enax-Krumova et al., 2017). Os modelos de dor representam ferramentas importantes para avaliar a eficácia de medicamentos analgésicos ou no desenvolvimento de novos fármacos. Entretanto, para serem confiáveis, os modelos experimentais de dor em humanos devem ser bem caracterizados e os desfechos devem ser reproduzíveis (Dirks et al., 2003).

A capsaicina (8-metil-N-vanilil-6-nonenamida), agente ativo da pimenta, foi isolada pela primeira vez no século XIX (Fein, 2011). Esta produz áreas de alterações sensoriais e tem sido usada em humanos para avaliar os mecanismos de geração e controle da dor espontânea ou provocada (hiperalgesia e alodinia) (Liu et al., 1998; Torebjörk et al., 1992). Este modelo apresenta componentes de sensibilização periférica e central bem definidos que supostamente desempenham um papel importante no início e manutenção da dor, especialmente nas dores neuropáticas (Kim et al., 2009). A capsaicina tópica, método escolhido para este estudo, é usada como modelo para induzir sinais sensoriais positivos em indivíduos saudáveis. O uso tópico apresenta vantagens em relação à injeção por ser menos invasivo, menos doloroso, mais fácil de administrar experimentalmente, além de diminuir um possível medo e ansiedade que são comuns em experimentos que utilizam injeções (Enax-Krumova et al., 2017; Harding et al., 2001; Maracle et al., 2017). Entretanto, uma relativa desvantagem desse modelo é ser menos robusto no desenvolvimento de hiperalgesia e alodinia (Quesada et al., 2021).

A capsaicina é uma substância que ativa uma subpopulação de nociceptores que expressam o receptor vanilóide específico para a capsaicina, conhecido como TRPV1 (van den Broeke et al., 2015; Enax-Krumova et al., 2017; Harding et al., 2001; Shabes et al., 2021). Ao ativar esses receptores nociceptivos, a capsaicina gera uma sensação dolorosa e cria mudanças reversíveis no processamento central de entradas aferentes somatossensoriais (Torebjörk et al., 1992). Em geral, há a percepção de dor na área da aplicação e também vasodilatação devido à liberação de peptídeos vasoativos como substância P e peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP, na sigla em inglês), que atuam diretamente nos nociceptores, incluindo os silenciosos, sensibilizando-os (Gazerani et al., 2006, 2005; Kilo et al., 1994; Kim et al., 2009; Mohammadian et al., 1998). Esse processo é conhecido como sensibilização periférica, e é evidenciado na pele como uma área de hiperemia, eritema e hiperalgesia (Harding et al., 2001; Kilo et al., 1994), que apresenta um aumento da dor ao calor e a estímulos mecânicos (Fuchs et al., 2000; LaMotte et al., 1991; Liu et al., 1998; Torebjörk et al., 1992). A hiperalgesia é o termo clínico que representa uma redução do limiar de dor e/ou aumento da resposta a estímulos supralimiais, sendo um importante fator de proteção que auxilia no processo de cicatrização tecidual (Simone et al., 1991; Treede et al., 1992). Essa hiperalgesia é denominada primária quando se desenvolve no local da aplicação da capsaicina. O principal mecanismo pelo qual a capsaicina induz a hiperalgesia primária é pela facilitação homossináptica. Isso significa que a sensibilidade dos neurônios de segunda ordem à entrada das fibras C pode ser aumentada pela estimulação repetitiva dessas mesmas fibras C em resposta à capsaicina. Como consequência, há uma liberação de peptídeos e glutamato pelo primeiro neurônio que ativa os receptores dos neurônios de ampla faixa dinâmica (WDR, na sigla em inglês) localizados no sistema nervoso central (SNC), gerando uma despolarização cumulativa da membrana pós-sináptica. Essa despolarização gera um aumento crescente de potenciais de ação pelo neurônio secundário, fenômeno conhecido como *wind-up*. Como esse tipo de sensibilização central afeta a mesma entrada sináptica que transmitiu o estímulo, ela é chamada de facilitação homossináptica (Baron et al., 2013; Magerl et al., 1998).

A capsaicina também causa hiperalgesia em uma área distante do local de aplicação, i.e., hiperalgesia secundária, por meio de mecanismos que atuam no sistema nervoso central. A capsaicina ativa predominantemente as terminações nervosas de aferentes nociceptivos amielínicos, tais como fibras C polimodais que respondem a estímulos mecânicos e ao calor, além de algumas fibras mielínicas do tipo A- δ (Baumann et al., 1991; Kilo et al., 1994). De acordo com um estudo anterior (Derry et al., 2017), existem, pelo menos, dois tipos de nociceptores cutâneos: mecanossensíveis e mecanoinsensíveis. A capsaicina sensibiliza a maioria dos nociceptores mecanoinsensíveis das fibras C tornando-os responsivos a estímulos mecânicos (Kilo et al., 1994; Mohammadian et al., 1998; Serra et al., 2004). A ativação desses aferentes primários sensíveis à capsaicina deflagra um potencial de ação que percorre toda a fibra até chegar ao SNC, onde liberam-se neurotransmissores que aumentam a excitabilidade e a responsividade dos neurônios espinhais de segunda ordem, tanto os nociceptivo específico (NS, na sigla em inglês) quanto os WDR (Conti, 2021; Lam et al., 2009; LaMotte et al., 1991; Simone et al., 1991). As projeções de neurônios espinhais sensibilizados para o trato espinotalâmico alteram o processamento de mensagens nociceptivas pelos centros superiores. A hiperalgesia secundária a estímulos mecânicos, tal como picada de agulha, é mediada por aferentes mielínicos A- δ insensíveis à capsaicina (Fuchs et al., 2000; Magerl et al., 2001), que são centralmente facilitados pelas aferências de fibras C. Isso suporta a hipótese de que o papel das fibras C mecanoinsensíveis na hiperalgesia secundária seria de desencadear ou manter uma facilitação central (Serra et al., 2004). Esse processo é conhecido como facilitação heterossináptica. Enquanto a facilitação das fibras A- δ é responsável pela hiperalgesia mecânica, a facilitação das fibras A- β não nociceptivas resulta em alodinia (Baron et al., 2017; Magerl e Treede, 2004; Treede e Magerl, 2000).

Testes quantitativos sensoriais (QST, na sigla em inglês) são comumente realizados nas áreas de hiperalgesia, tanto primária quanto secundária, para avaliar as alterações produzidas pela capsaicina. Assim, as alterações somatossensoriais causadas pela aplicação de capsaicina são bem descritas na literatura, principalmente no sistema espinal. Entretanto, os estudos que avaliam os efeitos da capsaicina na sensibilidade somatossensorial na área de inervação trigeminal são escassos. Apesar disso, os poucos dados mostram que a aplicação de capsaicina na região trigeminal

também demonstra componentes periféricos e centrais e induz dor em queimação, aumento do fluxo sanguíneo, hiperemia (*flare*), hipersensibilidade a estímulos térmicos e mecânicos, hiperalgesia secundária, alodinia e redução do limiar de dor mecânica (Gazerani et al., 2009, 2006, 2005; Gazerani e Arendt-Nielsen, 2005; Moulton et al., 2007; Valeriani et al., 2005). Um estudo de Moulton *et al.*, 2007, avaliou que a capsaicina altera o processamento nociceptivo em vários níveis ao longo da via trigêmino-talâmico-cortical. Em nível central, ela ativa áreas do córtex frontal, amígdala, uncus, cerebelo, entre outras, gerando mudanças no processamento de dimensões sensoriais, afetivas, emocionais e avaliativas (Moulton et al., 2007).

As vias do sistema somatossensorial podem ser divididas em via trigemino-talâmica e via espinotalâmica. Embora sejam consideradas homólogas, estas apresentam diversas diferenças anatômicas e fisiológicas. A via espinotalâmica recebe informações do corpo e transmite sinais dos gânglios da raiz dorsal para o corno dorsal da medula espinhal, onde o sinal é retransmitido para neurônios secundários e segue para o tálamo e para o córtex sensorial. As informações da face e da cabeça são recebidas e transmitidas pela via trigêmino-talâmica. O sinal é transmitido através de neurônios nociceptivos primários, passa pelo gânglio trigeminal, e segue para o subnúcleo caudal, localizado no tronco cerebral. Em seguida, é retransmitido para neurônios nociceptivos secundários, que ascendem para o tálamo e para o córtex sensorial (Kogelman et al., 2018). Dessa forma, o sistema trigeminal encontra-se localizado mais próximo ao SNC, enquanto o trajeto dos axônios do sistema espinal é mais longo (Korczeniewska et al., 2020).

Além das diferenças anatômicas, os neurônios do gânglio da raiz dorsal (DRG, na sigla em inglês) e do gânglio trigeminal (TG, na sigla em inglês) apresentam origem embrionárias distintas (D'amico-Martel e Noden, 1983; Lopes et al., 2017). Enquanto os neurônios do DRG derivam da crista neural, os neurônios do TG têm origem dupla, contendo células originadas tanto da crista neural craniana quanto dos placódios ectodérmicos do trigêmeo (D'amico-Martel e Noden, 1983; Lopes et al., 2017). Além disso, a proporção de fibras não mielinizadas para fibras mielinizadas é menor nos ramos do nervo trigêmeo em relação aos nervos espinhais (Sessle, 2000). Ainda, a proporção de neurônios simpáticos em relação aos neurônios sensoriais também aparenta ser menor na via trigeminal (Fried et al., 2001; Hoffmann and

Matthews, 1990). Parece haver, também, diferenças na sinalização nociceptiva e na expressão gênica, tendo em vista que diversas substâncias que causam dor na região trigeminal não geram dor em outros locais do corpo, como a histamina e o CGRP. Nessa mesma linha, também existem medicamentos que são específicos para migrêneas, mas não têm efeito sobre dores em outras regiões (Kogelman et al., 2018). Estudos realizados em animais indicaram diferenças na expressão gênica e, também, nas ações que um mesmo gene pode exercer em cada sistemas de acordo com a sua regulação (Kogelman et al., 2018; Korczeniewska et al., 2020).

Clinicamente, observa-se que existem diversas dores na região da cabeça e da face que não são observadas em outros lugares do corpo, ou se apresentam com características diferentes, como é o caso da neuralgia do trigêmeo, migrânea e cefaleias trigêmino-autonômicas. Além disso, o sistema trigeminal parece ser mais resistente que o espinal ao desenvolvimento de dores neuropáticas pós-traumáticas, levando em consideração a grande diversidade de procedimento que geram lesões no nervo trigêmeo, como extrações dentárias, procedimentos endodônticos, traumas faciais, implante, cirurgia ortognática, entre outros, que raramente resultam em dor neuropática. Esses achados indicam que existem diferenças entre esses sistemas, principalmente na forma com que eles respondem ou se adaptam à lesão (Hargreaves, 2011; Korczeniewska et al., 2020). Apesar de algumas evidências, principalmente anatômicas, as diferenças fisiológicas entre os sistemas nociceptivos espinal e trigeminal ainda são amplamente desconhecidas (Korczeniewska et al., 2020). Dessa forma, é fundamental que novos estudos sejam realizados com objetivo de evidenciar as individualidades de cada uma dessas vias.

As diferenças fisiológicas e anatômicas entre esses sistemas podem se manifestar por meio de diferentes mecanismos e/ou diferentes interações neuronais da resposta à capsaicina. Por sua vez, esses mecanismos podem ser indiretamente observados pela extensão e características das zonas de hiperalgesia primária e secundária. No entanto, não existem estudos que avaliam de forma sistemática possíveis diferenças somatossensoriais entre o sistema espinal e trigeminal em resposta à capsaicina tópica. Assim, nossa proposta pode contribuir para aprofundar o entendimento sobre as especificidades do sistema trigeminal. Ainda, entender como o sistema trigeminal processa os impulsos nervosos originados pela capsaicina pode

ajudar a melhorar as indicações de tratamento em dores neuropáticas, em que o uso de capsaicina tópica é uma das opções (Baron et al., 2013; Magerl et al., 2001; Valeriani et al., 2005).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Nociceção e Hiperalgisia

Em 1983, Dubner e Bennett publicaram uma revisão de literatura que teve como objetivo examinar circuitos neurais e mecanismos sensoriais ativados por estimulação nociva da pele e dos nervos periféricos, tendo em vista os avanços da época sobre o entendimento dos mecanismos nociceptivos (Dubner and Bennett, 1983). Conforme as evidências anteriores, os nociceptores foram classificados de acordo com as suas respostas a diferentes estímulos e à velocidade de condução dos seus axônios. Assim, os nociceptores podem ser mecânicos, térmicos, mecanotérmicos ou polimodais, e os impulsos podem ser conduzidos por fibras A- δ ou fibras C. A sensibilização de um nociceptor é caracterizada pela redução do limiar de disparo e aumento da responsividade. Além disso, em alguns casos pode ocorrer o desenvolvimento de descargas espontâneas (Dubner and Bennett, 1983).

Os nociceptores mecânicos, conhecidos como mecanorreceptores de alto limiar, respondem a estímulos mecânicos intensos ou nocivos. A informação é transmitida normalmente pelas fibras A- δ . Uma característica interessante desses receptores é que embora eles não respondam inicialmente a estímulos térmicos, podem responder ao calor após sensibilização causada por estimulação térmica repetida (Dubner and Bennett, 1983). Curiosamente, essa estimulação térmica não sensibiliza os nociceptores a estímulos mecânicos. Os termorreceptores específicos são sensíveis a pequenas mudanças de temperatura e sua descarga aumenta com aumento da temperatura na faixa inócua, mas o papel para a dor ao calor, até o momento, era desconhecido. Os nociceptores mecanotérmicos são sensíveis a estímulos nocivos tanto mecânicos quanto térmicos. Eles podem ser diferenciados dos nociceptores mecânicos pela maior sensibilidade a estímulos térmicos de calor e limiares de calor mais baixos (Dubner and Bennett, 1983).

Existem também os nociceptores polimodais, que são caracterizados pela capacidade de respostas a estímulos térmicos e mecânicos nocivos, além de responderem também a substâncias químicas irritantes. As fibras que conduzem essa informação são as fibras C cutâneas e de tecidos profundos. A sensibilização por estimulação repetida de calor também é uma característica desses nociceptores

(Dubner and Bennett, 1983). Um fato interessante discutido pelo artigo é que a estimulação repetida de calor em nociceptores polimodais nem sempre tem como consequência a sensibilização, ela também pode resultar em fenômenos de fadiga, inativação e depressão. Ou seja, um estímulo de calor nocivo intenso ou repetido pode levar a redução na responsividade do nociceptor. Dessa forma, pode ocorrer tanto aumento quanto redução da responsividade, dependendo da intensidade e duração da estimulação, da localização do receptor e do período entre os estímulos (Dubner and Bennett, 1983).

Após uma lesão tecidual, no local da lesão desenvolve-se um estado de hiperalgesia primária, caracterizada por redução do limiar de dor, aumento de sensibilidade a estímulos, podendo ocorrer, também, sensações de dor espontânea (Dubner and Bennett, 1983). Além disso, ao redor da área da lesão desenvolve-se uma região hiperalgésica, chamada de hiperalgesia secundária, e uma área de vasodilatação, conhecida como “*flare*”. Enquanto a hiperalgesia primária é causada por uma sensibilização de nociceptores, a secundária parece envolver mecanismos centrais (Dubner and Bennett, 1983).

Treede *et al.*, publicaram, em 1992, uma revisão sobre hiperalgesia cutânea e seus mecanismos neurais (Treede et al., 1992). Para eles, a dor é um sistema de alerta e, assim como outros sistemas sensoriais, estímulos repetidos ou de longa duração podem gerar uma redução na intensidade da sensação. Entretanto, no sistema nociceptivo, muitas vezes esses estímulos nocivos repetidos podem aumentar as respostas, desenvolvendo o fenômeno de hiperalgesia. Esta pode ocorrer após lesão tecidual ou ser uma característica de determinadas doenças, como neuropatias. Ainda, esse fenômeno parece ter uma função protetora, visto que leva o indivíduo a preservar a parte do corpo lesada para garantir a cicatrização. A hiperalgesia é caracterizada por uma diminuição no limiar de dor e aumento da dor a estímulos supra limiáres. Esta também pode estar associada à dor espontânea ou contínua, que ocorre mesmo na ausência de estímulos. Existem dois tipos de hiperalgesia: a primária, que ocorre dentro da área da lesão, e a secundária, que ocorre na área da pele não danificada ao redor da lesão. Estas diferem em relação às características e aos mecanismos neurais subjacentes (Treede et al., 1992).

A sensibilização dos aferentes nociceptivos primários parece ser fundamental para o desenvolvimento da hiperalgesia primária (Treede et al., 1992). Os nociceptores polimodais, ao contrário dos demais, podem ser ativados por estímulos químicos exógenos, como óleo de mostarda e capsaicina, e por mediadores inflamatórios. Os efeitos dessas substâncias parecem ser importantes para a sensibilização aferente e contribuem para a hiperalgesia primária. Nessa região ocorre um aumento da sensibilidade mecânica e ao calor. Além da sensibilização de nociceptores, também foi observado mudanças no limiar e tamanho do campo receptivo. Dessa forma, foi sugerido que parte dos mecanismos da hiperalgesia primária também podem estar associados a alterações centrais (Treede et al., 1992).

A hiperalgesia secundária, por outro lado, é caracterizada por hiperalgesia a estímulos mecânicos, mas não ao calor. A fim de avaliar como a hiperalgesia se espalha para o tecido circundante não lesado, dois mecanismos separados foram propostos, um com ênfase no sistema nervoso periférico (SNP) e outro no SNC (Treede et al., 1992). O primeiro sugeriu que a ativação de nociceptores faz com que os potenciais de ação se espalhem ao longo de fibras nervosas ramificadas e se propaguem até terminais nervosos periféricos localizados adjacentes ao local da lesão. Esse potencial de ação faz com que os neurônios aferentes liberem substâncias de forma antidrômica em áreas ao redor da lesão, sensibilizando os nociceptores e desenvolvendo uma área de hiperalgesia secundária. Além disso, essa liberação antidrômica também seria o mecanismo responsável pela vasodilatação na área adjacente ao local da lesão, fenômeno conhecido como resposta “*flare*”. Para os autores, a liberação de neuropeptídeos periféricos provavelmente é responsável pela área de *flare*, entretanto, ela não parece explicar os mecanismos da hiperalgesia secundária, e sim da hiperalgesia primária (Treede et al., 1992). O segundo modelo apresentado sugeria que a hiperalgesia secundária depende da sensibilização central, que resulta em uma facilitação da entrada nociceptiva. Eles acreditavam que os neurônios sensibilizados residiam no SNC. Segundo os autores, as evidências da época suportavam esse modelo de sensibilização central como o responsável pela hiperalgesia secundária (Treede et al., 1992).

Em 2013, foi publicado por Baron *et al.*, um artigo abordando os mecanismos da sensibilização central (SC) e a importância da entrada periférica

(Baron et al., 2013). Para os autores, a sensibilização central explica a relação não linear entre a intensidade de um estímulo nocivo e a percepção da dor. Como já visto, a hiperalgesia primária é causada por mediadores químicos que sensibilizam as fibras nociceptivas periféricas. Esse aumento da entrada de estímulos na medula, segundo os autores, favorece a indução de sensibilização central que é manifestada por uma área de hiperalgesia secundária (Baron et al., 2013). Um dos mecanismos de sensibilização central, exposto no estudo, é que a ativação repetida de fibras C causa potenciação de longa duração (LTP, na sigla em inglês) em neurônios do corno dorsal, aumentando a força sináptica. Esse fenômeno é chamado de facilitação homossináptica. Além disso, o condicionamento de fibras C nociceptivas com capsaicina, por exemplo, pode induzir uma facilitação heterossináptica de mecanorreceptores não nociceptivos de baixo limiar (fibras A- β) e fibras nociceptivas A- δ inicialmente insensíveis. A facilitação heterossináptica é o mecanismo que explica os sintomas de alodinia mecânica dinâmica e hiperalgesia mecânica à picada. Esses sinais, em grande medida, estendem-se para além das áreas de lesão e representam a área de hiperalgesia secundária (Baron et al., 2013).

Os autores ainda discutem que não se sabe exatamente onde ocorre a sensibilização no SNC (Baron et al., 2013). Muitos mecanismos parecem envolver a medula, mas evidências recentes indicam que o cérebro também pode apresentar um aumento na excitabilidade. Ainda, alterações na modulação endógena também podem influenciar a SC. O ponto-chave desse artigo foi mostrar que a entrada periférica nociceptiva parece ser essencial não só para iniciar a SC como para mantê-la e modulá-la (Baron et al., 2013). Isso pode ser demonstrado pela presença e duração de alodinia que parece depender essencialmente da entrada nociceptiva. Além disso, o bloqueio da entrada abole os sintomas da SC e faz com que o processamento alterado retorne para condições normais. Dessa forma, parece que, em muitos pacientes, a SC só se desenvolve e persiste se houver entrada aferente nociceptiva contínua no SNC (Baron et al., 2013).

2.2 Capsaicina e TRPV1

A capsaicina é amplamente utilizada como modelo de sensibilização central. Essa molécula ativa o canal TRPV1 presente em neurônios sensoriais

primários peptidérgicos. Esse canal parece ter papel importante na indução de hiperalgesia e sensibilização central (McMahon, 2006). Muitos estudos utilizaram a capsaicina com o objetivo de compreender mecanismos de hiperalgesia, alodinia e sensibilização central. Dessa forma, alguns artigos clássicos sobre os mecanismos pelos quais a capsaicina gera estados de hiperalgesia, sensibilização central e dor em queimação serão expostos nos parágrafos seguintes.

Em 1967, Jancsó *et al.*, utilizaram a capsaicina e outros componentes químicos com o objetivo de avaliar os mecanismos da inflamação neurogênica e vasodilatação (Jancso et al., 1967). Foi avaliado que a estimulação elétrica dos nervos safeno e trigêmeo de ratos gerou respostas inflamatórias como vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular e extravasamento de proteínas. Entretanto, após a degeneração do nervo, a capsaicina e outras substâncias químicas não evocaram inflamação. A partir disso, os autores concluíram que essas substâncias induzem inflamação por meio dos nervos sensoriais (Jancso et al., 1967).

Um grupo de pesquisadores publicou em 1991 uma série de três artigos, em que testes psicofísicos foram realizados em humanos a fim de avaliar as características sensoriais e os mecanismos subjacentes à hiperalgesia secundária que ocorre na pele após a injeção de capsaicina (Baumann et al., 1991; LaMotte et al., 1991; Simone et al., 1991). O primeiro artigo dessa série mimetizou uma lesão tecidual a partir da injeção de capsaicina no antebraço de humanos (LaMotte et al., 1991). Os participantes relataram dor intensa em queimação acompanhada pela formação de três áreas de hiperalgesia ao redor do local da injeção. A maior área foi a de hiperalgesia à picada (55 cm²), seguida da área de alodinia (38 cm²) e hiperalgesia ao calor (2 cm²). Além disso, no centro do local da injeção foi observada uma área de hipoalgesia à picada. Eles observaram que a formação da área de hiperalgesia secundária era dependente da atividade neural, e não pelo transporte ou difusão da substância para longe da lesão, tendo em vista que a injeção de capsaicina em uma pequena área de pele anestesiada não produziu hiperalgesia na pele circundante não anestesiada. Outra observação foi que a propagação da hiperalgesia (hiperalgesia secundária) foi mediada periféricamente por fibras nervosas cutâneas, visto que essa foi inibida sob o efeito de anestésico local aplicado a 1 cm de distância do local da injeção (LaMotte et al., 1991).

Além disso, eles avaliaram que a estimulação térmica da pele que produziu dor equivalente em duração e magnitude semelhante à produzida pela capsaicina resultou em áreas muito menores de hiperalgesia (LaMotte et al., 1991). A partir disso, foi confirmado que existem fibras nervosas aferentes quimiossensíveis que são mais eficazes no desenvolvimento de hiperalgesia em relação às fibras nervosas nociceptivas mecânicas e térmicas. Ainda, o resfriamento do local reduziu a área de alodinia, enquanto o aquecimento restabeleceu-a. Foi demonstrado que a anestesia tópica após a injeção de capsaicina reduz ou elimina a hiperalgesia ao toque, entretanto, ela é menos eficaz na redução da área de hiperalgesia à picada (LaMotte et al., 1991). Dessa forma, os autores concluíram que, uma vez desenvolvida, a hiperalgesia mecânica é apenas parcialmente dependente da atividade neural periférica do local da lesão. Além disso, o bloqueio do nervo proximal realizado antes da injeção de capsaicina preveniu a ocorrência de qualquer hiperalgesia, dessa forma, foi constatado que os neurônios que são sensibilizados pelas fibras nervosas ativadas pela capsaicina não são periféricos, e sim centrais (LaMotte et al., 1991).

Ao final do estudo, os autores propuseram um modelo de hiperalgesia no qual as fibras nervosas periféricas quimiossensíveis sensibilizam interneurônios mecanossensíveis de baixo e alto limiar no corno dorsal (LaMotte et al., 1991). Esses interneurônios facilitariam a resposta de determinados neurônios de projeção à estimulação mecânica inócua e nociva dentro da área de hiperalgesia secundária. Ainda, foi sugerido que os aferentes sensíveis ao calor sensibilizam os interneurônios receptivos de informação térmica que, também, convergem para os neurônios de projeção, resultando na área de hiperalgesia ao calor (LaMotte et al., 1991).

O segundo estudo foi realizado a fim de testar a hipótese proposta pelo primeiro artigo, no qual a hiperalgesia secundária dependia de um conjunto de neurônios sensibilizando outros (Baumann et al., 1991). Para isso, foram realizados experimentos neurofisiológicos em símios e as respostas das fibras aferentes à aplicação de capsaicina e a estímulos mecânicos e térmicos foram registradas. Nesse estudo, foi observado que a maioria das fibras aferentes nociceptivas mecano e termosensíveis responderam muito pouco à capsaicina para justificar a magnitude da dor. A partir disso, foi proposto que aferentes quimionociceptivos poderiam ter

contribuído para essa resposta. Ainda, os autores observaram que os nociceptores periféricos não foram sensibilizados após a estimulação mecânica ou térmica realizada posteriormente à injeção de capsaicina, portanto, a hipótese de que a sensibilização periférica das fibras justificava a ocorrência de hiperalgesia foi excluída. No entanto, a dessensibilização das fibras nociceptivas no local da injeção foi correlacionada com a analgesia observada no local de aplicação da capsaicina em humanos (Baumann et al., 1991).

Ainda nesse estudo, a capsaicina aplicada topicamente aumentou as respostas das fibras C e A- δ ao calor e ao toque, e reduziu os limiares ao calor das fibras C (Baumann et al., 1991). A partir disso, os autores sugeriram que a sensibilização de fibras C contribuem para a área de hiperalgesia primária na pele exposta à capsaicina tópica. Dado os fatos, os autores concluíram que a dessensibilização de fibras A e C contribuem para a analgesia cutânea no local da injeção e que a hiperalgesia secundária prolongada não pode ser explicada pela sensibilização de nociceptores periféricos. Portanto, foi proposto que os neurônios que contribuem para a hiperalgesia secundária estão localizados no SNC (Baumann et al., 1991).

A partir da conclusão do segundo artigo, os autores desenvolveram um terceiro estudo (Simone et al., 1991). O objetivo foi avaliar a contribuição dos neurônios do trato espinotalâmico para a dor e a hiperalgesia induzida por injeção intradérmica de capsaicina. Para isso, as respostas eletrofisiológicas dos neurônios do trato espinotalâmico de macacos foram registradas e comparadas com as medidas psicofísicas de dor e hiperalgesia obtidas utilizando estímulos idênticos em humanos. Após a injeção de capsaicina a magnitude de dor produzida por um estímulo de picada utilizando um filamento de von Frey de 225 mN aumentou seis vezes em relação aos valores pré-injeção. Além disso, após a capsaicina, os limiares de dor ao calor bem próximo ao local da injeção foram reduzidos. Os neurônios do trato espinotalâmico são normalmente classificados como nociceptivos específicos ou neurônios de ampla faixa dinâmica. Esse estudo mostrou que a capsaicina excita em média 50% mais neurônios WDR do que NS, indicando uma contribuição importante dos WDR para a dor induzida pela capsaicina. Apesar disso, a capsaicina aumentou a capacidade de

resposta de ambos os neurônios, NS e WDR, após estimulação mecânica da pele, mostrando a importância destes para a hiperalgesia mecânica (Simone et al., 1991).

Foi observado também que os limiares de dor ao calor reduziram nos neurônios WDR no local da injeção e as respostas aos estímulos aumentaram, entretanto, as respostas não foram alteradas em neurônios NS (Simone et al., 1991). A partir disso, os autores concluíram que a sensibilização dos neurônios WDR contribui para a hiperalgesia ao calor. Além disso, as respostas provocadas por estimulação elétrica da raiz dorsal aumentaram significativamente após a capsaicina, sugerindo que a injeção dessa substância aumenta a excitabilidade dos neurônios do corno dorsal (Simone et al., 1991). Dessa forma, os autores concluíram que a atividade dos neurônios do trato espinotalâmico contribuem para a dor e a hiperalgesia induzida por capsaicina. As respostas aumentadas desses neurônios por estimulação cutânea são mediadas, em parte, por um aumento de excitabilidade central. Ou seja, esses resultados suportam a hipótese do segundo estudo que neurônios do SNC se tornam sensibilizados durante a hiperalgesia (Simone et al., 1991).

O artigo de Torebjork *et al.*, de 1992, também buscou identificar mecanismos que explicassem a dor e a hiperalgesia induzida capsaicina (Torebjörk et al., 1992). Para isso, foi injetado capsaicina via intradérmica em humanos saudáveis. Assim como mostrado nos artigos anteriores, a administração de capsaicina gerou uma área pequena de hiperalgesia ao calor e uma ampla área de hiperalgesia mecânica ao toque, hoje conhecida como alodinia. Para avaliar qual tipo de fibra contribui para cada mecanismo, foram realizados experimentos de compressão nervosa. Inicialmente foi realizado o bloqueio seletivo por compressão das fibras A mielinizadas. Os resultados indicaram que as fibras C, que não estavam bloqueadas, contribuíram para a dor gerada pela injeção da capsaicina e para a hiperalgesia ao calor. Por outro lado, a fibra A foi necessária para a percepção da hiperalgesia mecânica (Torebjörk et al., 1992). Além disso, foi observado que uma estimulação elétrica normalmente não dolorosa foi relatada como dolorosa ao ser realizada dentro da área de hiperalgesia mecânica induzida pela capsaicina. Os resultados do trabalho indicaram que a alodinia ocorre por alterações reversíveis no processamento central das fibras mielinizadas, A- β , que normalmente provocam sensações táteis não dolorosas (Torebjörk et al., 1992).

Em 1992, a revisão de Treede *et al.*, discutiu brevemente sobre a hiperalgesia induzida pela aplicação de capsaicina (Treede *et al.*, 1992). A capsaicina produz uma hiperalgesia semelhante àquela causada por uma lesão, porém, sem causar dano tecidual. Por esse motivo, ela é amplamente utilizada como modelo para estudar mecanismos de hiperalgesia em humanos. Poucos segundos após a injeção intradérmica de capsaicina, uma intensa sensação de queimação é relatada e o limiar de dor ao calor é reduzido no local da aplicação. Ao redor do local da injeção desenvolve-se uma extensa área de hiperalgesia mecânica e alodinia. Para os autores, as características da hiperalgesia primária e secundária em resposta à capsaicina parecem ser análogas às causadas por lesão por calor (Treede *et al.*, 1992).

O estudo de Treede e Magerl, de 2000, teve como objetivo primário determinar as contribuições relativas das fibras A e C para a indução de sensibilização central (Treede and Magerl, 2000). Para isso, foram realizados experimentos de bloqueio seletivo por compressão nervosa. Além disso, injeções de capsaicina foram utilizadas para induzir áreas de hiperalgesia secundária. Essa substância excita nociceptores polimodais de fibras A e C. A injeção de capsaicina na mão foi igualmente dolorosa com ou sem bloqueio completo de fibra A, indicando que a excitação dos nociceptores de fibra A não contribui para a sensação dolorosa provocada pela capsaicina. Ainda, foi mostrado que os nociceptores de fibra A parecem não contribuir para a sensibilização central na hiperalgesia secundária (Treede and Magerl, 2000).

O segundo objetivo do trabalho foi avaliar a população de fibras aferentes que medeiam a hiperalgesia a estímulos mecânicos nocivos (Treede and Magerl, 2000). Os resultados indicaram que a sensibilização central a estímulos de picada ocorre por uma facilitação da via mecanossensível da fibra A, no entanto, a fibra C não é facilitada. Em outro experimento, os autores descobriram que a via facilitada da fibra A é insensível à ação dessensibilizante da capsaicina. Dessa forma, a ausência de hiperalgesia ao calor e a falta de facilitação da via da fibra C parecem ser um indicativo que essa via aferente não é facilitada durante a hiperalgesia secundária. Assim, a facilitação central na hiperalgesia secundária parece ser específica para

aferentes com as seguintes propriedades: fibras mielinizadas, mecanicamente sensíveis, insensíveis ao calor e insensíveis à capsaicina, ou seja, mecanorreceptores de alto limiar de fibra A. Tendo em vista os resultados encontrados nesse estudo, os autores propuseram que na hiperalgesia secundária as vias facilitadas (fibras A insensíveis à capsaicina) parecem estar separadas das vias facilitadoras (fibra C sensíveis à capsaicina) (Treede and Magerl, 2000).

2.2.1 TRPV1

Em 1997, Caterina M. *et al.*, avaliaram pela primeira vez a natureza molecular da ação da capsaicina e sua relação com os mecanismos de sinalização da dor por meio da clonagem de um gene que codifica o receptor dessa substância (Caterina *et al.*, 1997). Os autores isolaram um clone de cDNA que reconstitui a capacidade de resposta da capsaicina. Eles observaram que esses receptores são proteínas de membrana muito similares à família de canais de cálcio e estão expressos exclusivamente em neurônios sensoriais de pequeno diâmetro. Os autores, nomearam esse canal de receptor vanilóide subtipo 1 (VR1), visto que este é ativado por substâncias constituídas essencialmente do componente químico vanilóide. Além disso, foi observado que o VR1, atualmente conhecido como TRPV1, funciona como um sensor térmico ativado por temperaturas elevadas e nocivas, mas não inócuas, gerando respostas de dor. Da mesma forma, a capsaicina ativa esses canais gerando sensações de dor em queimação. Ainda, os íons de hidrogênio sozinhos, em situações de pH reduzido, não são capazes de ativar o canal, mas potencializam o efeito da capsaicina. Além disso, os autores observaram que o TRPV1 apresenta uma permeabilidade muito alta ao cálcio e uma baixa permeabilidade ao magnésio, sódio e potássio. Outro ponto importante do trabalho foi avaliar o mecanismo antagônico da capsaicina. Essa substância normalmente gera sensibilização do TRPV1, entretanto, ela também pode dessensibilizar esse receptor quando aplicada repetidamente, sendo que esses mecanismos de dessensibilização são dependentes do influxo de cálcio. A capsaicina, em alguns casos, pode gerar uma destruição seletiva dos nociceptores aferentes primários, devido ao influxo excessivo de íons. Esse artigo foi um marco na literatura, tendo em vista que foi o primeiro estudo que clonou e nomeou o receptor da capsaicina e foi a primeira demonstração contundente da existência e

caracterização de nociceptores. Os autores sugeriram que este estava estruturalmente relacionado à família TRP e que o papel desses receptores é participar da detecção de calor nocivo. Entretanto, conforme discutido no estudo, nem todas as características das respostas ao calor são mediadas por esse canal, visto que estas são traduzidas por múltiplas vias moleculares, das quais apenas algumas podem envolver o TRPV1. Os pesquisadores ainda sugerem que esse canal poderia fornecer um modelo importante para o estudo de hiperalgesia (Caterina et al., 1997).

Em 2013, Julius publicou uma revisão sobre os papéis fisiológicos, mecanismos de ativação e relações entre estrutura e função dos canais TRP nociceptivos, além do TRPV1, e.g., TRPM8 e TRPA1 (Julius, 2013). O TRPV1 pertence à subfamília de canais TRP termossensíveis que detectam mudanças na temperatura ambiente. Ele é um canal ativado por calor nocivo com um limiar de ativação térmica de, em média, 43°C. Camundongos modificados sem TRPV1 apresentam déficit parcial na nocicepção térmica nociva. Segundo os autores, os produtos do dano tecidual e da inflamação sensibilizam esses canais e reduzem seu limiar (Julius, 2013). Além disso, o TRPV1 parece ser um componente essencial para a sinalização celular da hiperalgesia e alodinia. Este está localizado nas fibras finas não mielinizadas (fibras C). A ativação dessas fibras desencadeia uma vasodilatação e liberação de vários fatores pró-inflamatórios e pró-álgicos na periferia que constituem a sopa inflamatória. Essas substâncias liberadas atuam nas terminações nervosas sensoriais, sensibilizando-as à temperatura e ao toque, caracterizando o processo conhecido como inflamação neurogênica. O TRPV1 funciona como um integrador polimodal de sinais térmicos e químicos e pode modular a excitabilidade do nociceptor em resposta às mudanças no ambiente tecidual. Ou seja, esse canal apresenta vários mecanismos regulatórios e interage com diversas substâncias e respostas celulares que podem gerar sensibilização ou dessensibilização (Julius, 2013). Além disso, parece haver uma diferença nos canais TRPV1 em relação à sua localização. Uma isoforma longa é encontrada em todo o corpo e apresenta um limiar de ativação térmico de 40°C, enquanto uma isoforma curta é expressa exclusivamente em neurônios que inervam a cabeça e a face. Além de algumas diferenças na estrutura, a isoforma curta parece ter um limiar de ativação mais baixo. Entretanto, os autores discutem que esse modelo proposto ainda apresenta muitas controvérsias e objeções (Julius, 2013).

Quartu *et al.*, em 2016, avaliaram a ocorrência imuno-histoquímica do receptor TRPV1 no gânglio trigeminal humano e do núcleo espinhal do trigêmeo (Quartu *et al.*, 2016). Para isso, foram analisadas amostras do TG e tronco encefálico obtidas na necropsia de recém-nascidos, crianças e adultos. Segundo os autores, no sistema trigeminal, a ativação do TRPV1 gera uma liberação antidrômica de CGRP e substância P pelos neurônios primários. Esses neuropeptídeos ativam e sensibilizam os nociceptores, desencadeando uma inflamação neurogênica. Os resultados indicaram que a imunorreatividade ao TRPV1 estava localizada principalmente no subnúcleo caudal do trigêmeo (SpVc). Além disso, no TG de adultos, quase metade dos neurônios foram marcados para CGRP e 25% foram marcados para substância P. Ainda, o TRPV1 está localizado em aferentes nociceptivos não mielinizados (fibras C) ou pouco mielinizados (fibra A- δ), e parecem desempenhar papel importante na dor e hiperalgesia (Quartu *et al.*, 2016). A distribuição de TRPV1 no subnúcleo caudal do trigêmeo apresenta semelhanças com os anteriormente encontrados no corno dorsal espinhal. Entretanto, é importante ressaltar que parece haver uma diferença notável entre as espécies em relação à localização do TRPV1 (Julius, 2013; Quartu *et al.*, 2016).

Em 2021, o grupo de Luo publicou uma revisão sobre as evidências atuais dos canais TRP na dor orofacial, discutindo os possíveis mecanismos celulares e moleculares (Luo *et al.*, 2021). De acordo com os autores, os TRP são extensamente estudados na dor espinhal, mas existem poucos estudos que avaliam o papel desses canais nas dores trigeminais. Trabalhos de imuno-histoquímica indicaram a presença de TRPV1 em nervos que inervam a articulação temporomandibular e o masseter de ratos. Além disso, parece que muitos nervos que expressam o TRPV1 são peptidérgicos e coexpressam o TRPA1. Estudos indicaram que o TRPV1 pode ser regulado positivamente em condições inflamatórias. Por outro lado, seu bloqueio atenua a hiperalgesia mecânica e a dor espontânea no musculo masseter. Ainda, o bloqueio duplo de TRPV1 e TRPA1 produz um maior efeito, indicando que esses canais parecem contribuir, juntos, para a dor. Dessa forma, os autores sugerem que o TRPV1 apresenta um papel importante no sistema sensorial trigeminal e que novas estratégias terapêuticas direcionadas para ele podem contribuir para o manejo da dor orofacial (Luo *et al.*, 2021).

2.2.2 Capsaicina Tópica

Em 1985, os pesquisadores Helme e McKernan examinaram a capacidade da capsaicina tópica de induzir dor e *flare* em diferentes regiões do corpo em 220 indivíduos (Helme e McKernan, 1985). O objetivo foi estabelecer uma base para estudos futuros sobre nocicepção. Entretanto, nenhuma das regiões estudadas envolveram sítios trigeminais. A concentração de capsaicina utilizada para induzir o *flare* foi de 1gm/L em 70% de álcool por um período de 30 minutos. A solução de capsaicina foi dispensada em um pedaço de papel de 1 cm² posicionado sob a pele. Posteriormente, a margem do *flare* foi delineada e calculada. Os resultados indicaram que a área de *flare* em resposta à capsaicina varia significativamente em diferentes locais no mesmo indivíduo, entre participantes e com a idade (Helme e McKernan, 1985). Regiões distais apresentaram uma maior tendência a sujeitos menos reativos, além disso, as áreas de *flare* foram menores nessas regiões. Ainda, a correlação entre a classificação da dor e o tamanho do *flare* foi pequena, apesar de estatisticamente significativa (Helme e McKernan, 1985). Os autores apresentaram hipóteses de alguns fatores que podem contribuir para essa variabilidade. Estes envolvem diferenças na espessura e temperatura da pele e permeabilidade à capsaicina, e todos esses parecem afetar o acesso da substância aos nervos. Ainda, a variabilidade também pode ser influenciada pelas propriedades do órgão efetor neurovascular que medeia a resposta ao *flare*. Contudo, de acordo com as observações, a espessura e a temperatura da pele não parecem ter um papel importante na determinação da resposta *flare* à capsaicina (Helme e McKernan, 1985).

Kilo *et al.*, 1994, estudaram diferentes tipos de hiperalgesia em voluntários saudáveis utilizando dois modelos experimentais de inflamação, a capsaicina e o congelamento de uma área da pele (Kilo *et al.*, 1994). Um dos métodos utilizados para induzir hiperalgesia foi colocar um pedaço de papel de 1,5 cm² embebido com solução de capsaicina 1% sob a pele do antebraço por 30 minutos. Após a indução da inflamação, as áreas de hiperalgesia a diferentes estímulos foram avaliadas e medidas. Após a aplicação, foi relatada uma sensação de queimação, além disso, a área da pele em contato com a substância tornou-se avermelhada e levemente

edemaciada. Uma área de *flare* de 24,4 cm² se formou ao redor da área da pele tratada com capsaicina. Ainda, a área de alodinia foi de 24 cm², enquanto a de hiperalgesia à picada foi de 47 cm². Na zona de hiperalgesia primária, foi observada uma redução do limiar de dor ao calor de 42,5 para 33,7°C, além de uma hiperalgesia à pressão (Kilo et al., 1994).

Os autores ainda discutem os mecanismos que envolvem o desenvolvimento de áreas de hiperalgesia. Segundo eles, a hiperalgesia à picada é causada pela sensibilização central após a excitação de aferentes nociceptivos não mielinizados na área traumatizada (Kilo et al., 1994). Os resultados expostos confirmaram que, uma vez desencadeada, a SC não requer entrada contínua para sustentar a excitabilidade central. Por outro lado, a alodinia é mediada por unidades mecanorreceptoras mielinizadas e parece envolver mecanismos centrais. Entretanto, ao contrário da hiperalgesia à picada, o estado nervoso central responsável pela alodinia parece depender da entrada de informação contínua de nociceptores no SNC (Kilo et al., 1994).

Em 1998, o grupo de Mohammadian investigou e correlacionou as alterações sensoriais e vasculares com o objetivo de compreender os mecanismos de alodinia, hiperalgesia e *flare* em resposta à aplicação repetitiva de capsaicina (Mohammadian et al., 1998). Os experimentos foram realizados em 10 indivíduos saudáveis e divididos em 5 sessões. Cada sessão consistia em 15 minutos de aplicação de creme de capsaicina a 1% em uma área de 16 cm² no antebraço seguida pela avaliação da intensidade de dor utilizando uma escala visual analógica (EVA) e mapeamento das áreas de alodinia, hiperalgesia à picada e *flare*. Além disso, o fluxo sanguíneo local foi medido utilizando um doppler. Os resultados indicaram que após a primeira aplicação (15 min) a intensidade de dor foi 2 na EVA, a área de alodinia e hiperalgesia à picada foram de 21 e 26 cm², respectivamente, enquanto a área de *flare* foi de 30 cm². Após a terceira aplicação (45 min) as áreas de alodinia, hiperalgesia e *flare* foram 29, 40 e 53 cm², respectivamente, enquanto a média da intensidade de dor na EVA foi de 3. Ainda, os autores mostraram um aumento do fluxo sanguíneo e da temperatura da pele na região após a aplicação de capsaicina. As análises realizadas indicaram que a área de *flare* foi correlacionada com a intensidade de dor e com as áreas de hiperalgesia à picada e alodinia (Mohammadian et al., 1998).

O estudo de Harding *et al.*, 2001, teve como objetivo desenvolver um modelo tópico simples de administração de capsaicina, utilizando uma pequena área de aplicação e produzindo dor limitada (Harding *et al.*, 2001). O segundo objetivo foi desenvolver um modelo em que a administração de capsaicina fosse sustentada durante todo o protocolo de teste a fim de produzir uma área estável de alodinia durante o período de estudo (Harding *et al.*, 2001). Uma solução de capsaicina a 10% foi misturada com uma geleia à base de água, resultando em um creme de capsaicina a 1%. 50ml do creme de capsaicina foi depositado sobre um plástico transparente com uma área de 0,64 cm² que foi posicionado sob o antebraço de 13 indivíduos saudáveis. A capsaicina foi substituída duas vezes, de 45 em 45 min, resultando em um tempo de exposição total de 2:15 horas. Os indivíduos avaliaram a intensidade da dor a cada 10 minutos. Além disso, as áreas de *flare*, alodinia e hiperalgesia à picada foram avaliadas e medidas 45 min após a aplicação. A área de *flare* foi 10,8 cm², enquanto a de alodinia e hiperalgesia à picada foram 47,9 e 98,9 cm², respectivamente (Harding *et al.*, 2001). Na discussão do artigo, os autores expuseram que a manutenção da área de alodinia depende da entrada periférica contínua, portanto, para avaliá-la é preciso uma exposição constante à capsaicina, como foi realizado por eles, ou um modelo de capsaicina associada à estimulação por calor (Harding *et al.*, 2001).

Em 2009, Zheng *et al.*, aplicaram uma solução de capsaicina de 5mg/ml em um papel filtro de 2 cm de diâmetro no antebraço de 40 indivíduos saudáveis, sendo 20 jovens e 20 idosos por 60 minutos (Zheng *et al.*, 2009). A intensidade de dor foi avaliada por uma escala 0-50-100 e as áreas de hiperalgesia à picada e alodinia foram delineadas e calculadas. Os resultados apresentados serão focados apenas no grupo dos participantes jovens. A intensidade de dor na escala 0-50-100 não passou de 50 em nenhuma das avaliações. Além disso, a área de alodinia foi 25 cm², enquanto a de hiperalgesia à picada foi de 42 cm² (Zheng *et al.*, 2009).

O estudo de Enax-Krumova *et al.*, 2017 aplicou uma solução de capsaicina em um papel de 12 cm² que foi colocado sob a região volar do antebraço de indivíduos saudáveis por 15 minutos (Enax-Krumova *et al.*, 2017). Antes e após a aplicação de capsaicina foi realizada uma série QST, incluindo os testes limiar de detecção

mecânica (MDT, na sigla em inglês) e limiar de dor mecânica (MPT, na sigla em inglês). Além disso, a intensidade de dor à capsaicina foi avaliada por uma escala numérica (0-10). As áreas de alodinia, hiperalgesia à picada e hipoestesia foram delimitadas e calculadas. Os resultados indicaram que a média da intensidade de dor foi 6,7 após 15 min. Ainda, após a aplicação, desenvolveu-se uma área de alodinia de 60cm² e uma área de hiperalgesia à picada de 66 cm², mas não foi observada nenhuma área de hipoestesia. Em relação aos testes MDT e MPT, houve uma pequena redução nos valores após a capsaicina (ganho de função), entretanto, os valores continuaram dentro da faixa normal (Enax-Krumova et al., 2017).

O estudo de Rukwied *et al.*, 2003, aplicou uma solução de capsaicina a 1% no antebraço de 20 indivíduos saudáveis em uma área de 0,5 cm² por 15 min (Rukwied et al., 2003). A intensidade de dor à capsaicina foi avaliada por uma escala numérica (0-10). Após 5, 15 e 30 minutos da aplicação da capsaicina as áreas de alodinia e hiperalgesia à picada foram delimitadas e calculadas. Como resultado, as áreas de hiperalgesia foram 7,5 cm² (5 min), 18,5 cm² (15 min) e 20,6 cm² (30 min), enquanto as áreas de alodinia foram 7,5 cm² (5 min), 10 cm² (15 min) e 9,9 cm² (30 min). Além disso, foi observada uma redução do limiar de dor ao calor, indicando uma hiperalgesia térmica no local de aplicação da capsaicina (Rukwied et al., 2003).

Foi publicada por Quesada *et al.*, em 2021, uma revisão de literatura de vários modelos de dor (Quesada et al., 2021). Em relação ao modelo de capsaicina tópica, 47 artigos foram incluídos, no entanto, a maioria deles associava capsaicina + calor. De acordo com os autores, a capsaicina tópica é um modelo de hiperalgesia seguro e fácil de usar. As principais qualidades são a facilidade de manuseio e a dor moderada em relação à capsaicina intradérmica. As limitações podem ser a relação desfavorável entre a duração da aplicação e a duração da hiperalgesia (Quesada et al., 2021). Essas dificuldades podem ser melhoradas por aplicação de calor concomitante, procedimento recomendado para aumentar a estabilidade e a duração da hipersensibilidade. Além disso, não foi encontrada correlação entre a concentração de capsaicina tópica e as áreas de hiperalgesia secundária e alodinia. Por outro lado, a superfície de aplicação correlacionou-se positivamente com a área de hiperalgesia secundária (Quesada et al., 2021).

Tabela 1. Resultado das áreas de *flare*, alodinia e hiperalgesia à picada de estudos publicados anteriormente utilizando capsaicina tópica com concentrações, tempo e área de aplicação diferentes.

Artigo	Concentração (veículo)	Tempo (min)	Sítio	Área (cm ²)	Flare (cm ²)	Alodinia (cm ²)	Hiperalgesia (cm ²)
Kilo et al., 1994	1% (solução)	30	Antebraço	1,5	24,4	24	47
Harding et.al., 2001	1% (creme)	45	Antebraço	0,64	10,8	47,9	98,9
Mohammadian et al., 1998	1% (creme)	45	Antebraço	16	53	29	40
Rukwied et al., 2003	1% (solução)	15	Antebraço	0,5	-	10	18,5
Zheng et al., 2009	- (solução)	60	Antebraço	3,14	-	25	42
Enax-Krumova et al., 2017	0,6% (solução)	15	Antebraço	12	-	60	66

2.2.3 Efeitos da capsaicina na região trigeminal

Estudos recentes têm surgido com o objetivo de avaliar mecanismos induzidos pela aplicação de capsaicina na região trigeminal. Esses estudos foram apresentados na breve revisão de literatura abaixo. Entretanto, nenhum desses artigos utilizou o modelo de capsaicina tópica sem associação com calor. Além disso, ainda não há na literatura estudos que comparam as respostas à capsaicina em regiões trigeminais e extratrigeminais.

O grupo de estudos de Gazerani publicou três estudos avaliando as respostas à capsaicina injetável aplicada na região trigeminal sob diferentes contextos. Em todas as pesquisas foi injetado capsaicina (100ug/0,1ml) via intradérmica na testa de indivíduos saudáveis. O primeiro estudo (Gazerani et al., 2005) teve como objetivo avaliar as diferenças entre os sexos. Os resultados indicaram que a área de *flare* foi 60 cm² em mulheres e 45 cm² em homens, enquanto a área de alodinia foi 7,5 cm² e 6 cm², respectivamente. Além disso, a área de dor cruzou a linha média em 15 de 42 participantes. A partir disso, os autores mostraram que existem diferenças entre os gêneros na percepção de dor e respostas à sensibilização induzida pela capsaicina. O segundo trabalho (Gazerani e Arendt-Nielsen, 2005) encontrou diferenças na resposta de dor à capsaicina entre caucasianos e indianos. A área de hiperalgesia à picada foi de 9,5 cm² em indianos e 6,5 cm² em caucasianos, indicando discrepâncias étnicas na resposta à sensibilização trigeminal induzida por capsaicina. Por último (Gazerani et al., 2006), em 2006, os autores encontraram uma área de *flare* de 40 cm² e uma área de hiperalgesia à picada de 7 cm² em indivíduos saudáveis.

O estudo de Mainero *et al.*, 2007, utilizou fMRI com controle cardíaco para mapear a atividade no núcleo trigeminal espinal e estruturas moduladoras da dor no tronco cerebral e supraespinhais após alodinia mecânica dinâmica induzida por calor/capsaicina no sistema trigeminal humano (Mainero *et al.*, 2007). Inicialmente, foi avaliado quais alterações neuronais da transmissão nociceptiva ocorrem nos locais do tronco cerebral espinal e supraespinhal durante a alodinia primária e secundária. Em segundo lugar, as respostas do tronco encefálico a estímulos mecânicos na área secundária foram comparadas com aquelas que realizadas na área primária. O objetivo foi avaliar se existem diferenças no processamento central entre as duas condições. Alodinia mecânica foi induzida na divisão oftálmica (V1) do nervo trigêmeo de 12 indivíduos saudáveis. A pele foi aquecida por 5 min a 45° C, em seguida, um creme de capsaicina 0,1% foi aplicado em uma área de 1,6 cm² por 30 minutos. A intensidade da dor foi avaliada por meio de uma escala numérica (0-10) e as bordas da área de alodinia mecânica dinâmica foram delineadas por meio da estimulação com pincel, e em seguida calculada. Os resultados indicaram que a dor média foi de 5,2, e esta apresentou correlação positiva com a área de alodinia mecânica. Ainda, a classificação de dor não diferiu entre as áreas de hiperalgesia primária e secundária (Mainero *et al.*, 2007).

O mapeamento utilizando Ressonância Magnética Funcional (fMRI) indicou que a alodinia primária apresentou uma maior atividade na medula rostroventral (RVM, na sigla em inglês), na formação reticular da ponte (PRF, na sigla em inglês), onde estão localizados o *locus coeruleus* (LC) e o núcleo parabraquial (PBN, na sigla em inglês), e na substância cinzenta periaquedutal (PAG, na sigla em inglês) bilateral (Mainero *et al.*, 2007). Por outro lado, estímulos na área de alodinia secundária determinou uma atividade significativamente maior na formação reticular da ponte em contraste com uma atividade reduzida na substância cinzenta periaquedutal. Estimulações em ambas as regiões levaram a uma atividade aumentada no núcleo trigeminal em comparação com a estimulação controle, sugerindo sensibilização central de neurônios de segunda ordem. As fibras A-β em condições normais, transmitem estímulos táteis e fazem sinapse no núcleo parabraquial na ponte. A ativação prolongada nas fibras C geram alterações centrais em neurônios no corno dorsal localizados no núcleo trigeminal, aumentando suas respostas aos

mecanorreceptores de baixo limiar, caracterizando, dessa forma, os mecanismos da alodinia (Mainero et al., 2007). A atividade da ponte está relacionada tanto ao processamento da informação nociceptiva ascendente quanto à modulação descendente da dor. O núcleo parabraquial é conhecido por participar da nocicepção ascendente e da modulação da dor, enquanto as projeções descendentes do locus coeruleus fornecem uma importante fonte de supressão da dor a nível da coluna vertebral. Já a medula rostroventral é o principal local de retransmissão da modulação descendentes de volta aos neurônios espinhais. Em relação às estruturas superiores, foi documentando aumento da atividade na amígdala durante alodinia primária e secundária. A amígdala também participa na modulação da dor pela ligação da substância cinzenta periaquedutal ao tronco cerebral, e essa atividade parece justificar a dimensão aversiva da dor nas áreas de alodinia (Mainero et al., 2007).

2.3 Diferença entre os sistemas trigeminal e espinal

Desde as primeiras publicações, até os dias atuais, os estudos de cefaleia, disfunção temporomandibular e dores na face buscam entender os mecanismos que explicam essas dores. Ao longo do tempo, os estudos começaram a levantar hipóteses e descobrir algumas particularidades do sistema trigeminal (Hoffmann e Matthews, 1990; Sessle, 2000; Tal e Devor, 1992) que diferiam do sistema espinal. Essas diferenças poderiam justificar, pelo menos parcialmente, as características distintas das dores trigeminais (Hargreaves, 2011). A maioria dos trabalhos tem por objetivo estudar a fisiopatologia de cada tipo de dor, como neuralgia do trigêmeo e migrânea. Entretanto, existem poucos artigos que, de fato, testam hipóteses sobre possíveis diferenças entre os dois sistemas. Esses artigos, serão apresentados na revisão de literatura a seguir.

O estudo de Hoffmann e Matthews, de 1990, teve como objetivo avaliar a existência de diferenças na proporção de neurônios simpáticos entre nervos da região orofacial e extratrigeminais (Hoffmann e Matthews, 1990). A hipótese era de que nervos frequentemente associados à causalgia apresentariam uma maior quantidade de neurônios simpáticos, em relação aos nervos da cabeça, que apresentam uma baixa incidência de causalgia. Nesse estudo, neurônios simpáticos pós-ganglionares

e neurônios sensoriais de gatos foram marcados com um traçador neuroanatômico. Os neurônios marcados foram contados para determinar a proporção entre neurônios simpáticos e sensoriais em cada nervo (Hoffmann e Matthews, 1990). Os nervos orofaciais examinados foram os nervos infraorbital, alveolar inferior e lingual, enquanto os da extremidade superior foram os nervos ulnar e mediano. Os resultados indicaram que os nervos da região extratrigeminal mostraram uma maior proporção de neurônios simpáticos, sendo essa proporção duas vezes maior do que a encontrada em ramos do nervo trigêmeo. Outra diferença entre as duas regiões é que, no sistema espinal, as fibras simpáticas pós-ganglionares deixam os gânglios estrelados e seguem com os nervos espinhais que compõem o plexo braquial, estando intimamente associadas às fibras sensoriais. Assim, lesões nervosas nas fibras axonais permitem interações entre fibras simpáticas e sensoriais e possivelmente o desenvolvimento de condições de dor mantidas simpaticamente (Hoffmann e Matthews, 1990). Na cabeça, as fibras simpáticas saem do gânglio cervical superior, atravessam a artéria carótida e são distribuídas principalmente nos vasos sanguíneos por toda a cabeça. Esse arranjo anatômico evita a íntima associação entre as fibras simpáticas e sensoriais presentes nas extremidades, reduzindo, dessa forma, a ocorrência de causalgias (Hoffmann e Matthews, 1990).

O estudo de Tal e Devor de 1992, teve como objetivo avaliar a existência de diferença na prevalência de descarga ectópica em axônios do nervo trigêmeo em relação a nervos segmentares, ambos lesados experimentalmente (Tal e Devor, 1992). A pergunta desse trabalho surgiu a partir de percepções e trabalhos anteriores que mostravam que nervos da face, apesar de estarem sujeitos a uma série de lesões nervosas e dores neuropáticas, não desenvolviam descarga ectópica e outras características da mesma forma que lesões em nervos segmentares. Nesse estudo, lesões foram feitas nos nervos infraorbitário e ciáticos de ratos e, em seguida, foram realizados testes nos neuromas formados. Como resultado, os autores observaram que os axônios aferentes do nervo infraorbitário experimentalmente lesado foram muito menos propensos a desenvolver hiperexcitabilidade ectópica do que as terminações aferentes nos neuromas do nervo ciático (Tal e Devor, 1992). Para as fibras A, essa diferença foi proeminente apenas durante as primeiras semanas de pós-operatório, tendo em vista que, após a quarta semana, a atividade nos neuromas ciáticos também diminuiu. Já para as fibras C, a diferença persiste por toda a vida. O

nível de hiperexcitabilidade ectópica no nervo infraorbitário foi refletido na redução da descarga contínua do neuroma e da mecanossensibilidade e, também, na redução da descarga da lesão após corte agudo do nervo. Para os autores, a diferença observada na hiperexcitabilidade fisiopatológica entre o nervo infraorbitário e o ciático pode explicar, em parte, a diferença na sintomatologia da dor neuropática característica nas áreas de inervação trigeminal e segmentar (Tal e Devor, 1992).

O estudo de Bongenhielm *et al.*, 1999, teve como objetivo investigar se existe brotamento do nervo simpático dentro do gânglio trigêmeo, após uma constrição ou lesão dos nervos alveolar inferior ou infraorbitário (Bongenhielm *et al.*, 1999). Foram realizadas lesões nos nervos alveolar inferior, infraorbitário e ciático de ratos, em seguida, os gânglios trigeminal e os gânglios da raiz dorsal foram removidos e avaliados. Não foi encontrado nenhum sinal de brotamento simpático no gânglio trigeminal após lesão do nervo alveolar inferior. Dessa forma, os autores concluíram que o resultado da lesão do nervo espinal e trigêmeo são diferentes: um evoca o brotamento simpático dentro do gânglio sensorial e o outro não. Assim, o processo de brotação não é um fenômeno geral após a lesão do SNP, mas está restrito a localizações específicas que não incluem nervos cranianos (Bongenhielm *et al.*, 1999).

O artigo de Price e Flores, 2007, avaliou e quantificou a colocalização dos neuropeptídeos CGRP e substância P com os sítios de ligação de Isolectina B4 (IB4) e o TRPV1 entre o gânglio trigeminal e o gânglio da raiz dorsal de ratos e camundongos (Price e Flores, 2007). O CGRP e a substância P foram usados para definir populações de nociceptores peptidérgicos, enquanto a IB4 foi relacionada à nociceptores não peptidérgicos. De acordo com os resultados, existem diferenças na colocalização de CGRP, substância P, TRPV1 e IB4 entre o gânglio trigeminal e espinal. Foi observado que neurônios extratrigeminais imunorreativos ao CGRP expressam mais sítios de ligação ao IB4, em relação aos trigeminais. Mas, em contraste, apresentam significativamente menos neurônios imunorreativos ao CGRP com imunorreatividade ao TRPV1. Dessa forma, é possível perceber diferenças significativas entre o gânglio trigeminal e o gânglio da raiz dorsal na forma em que os marcadores neuronais nociceptivos são co-expressos (Price e Flores, 2007).

Hargreaves K publicou, em 2011, uma revisão de literatura sobre os principais focos de pesquisa em dor orofacial (Hargreaves, 2011). Segundo ele, vários estudos têm como foco a fisiologia do sistema nociceptivo trigeminal, buscando caracterizar as diferenças nas propriedades eletrofisiológicas, anatômicas e farmacológicas de aferentes trigeminais que inervam tecidos alvos distintos. Assim, a presença de tecidos únicos, como meninges, córnea, polpa dentária, mucosa oral/nasal e articulação temporomandibular, parece contribuir para diferenças na responsividade desses neurônios (Hargreaves, 2011). O autor ainda sugere que pesquisas futuras deveriam incluir estudos pré-clínicos com foco nos mecanismos subjacentes às diferenças entre as condições de dor trigeminal e espinal, tendo em vista que, embora existam aspectos comuns na transdução e no processamento da dor entre os sistemas, as individualidades em relação aos componentes periféricos e centrais da dor precisam ser mais bem elucidadas (Hargreaves, 2011).

O estudo de Aicher *et al.*, 2012, avaliou a modulação da transmissão nociceptiva da dor por meio dos neurônios da medula rostroventral no corno dorsal espinal e no subnúcleo caudal do trigêmeo (Aicher et al., 2012). Foi realizado o rastreamento do RVM por meio da detecção imunocitoquímica da enzima GABAérgica (GAD67) para avaliar as diferenças entre as projeções inibitórias em ratos. Os resultados indicaram que a modulação GABAérgica descendente parece ser menos robusta nas vias do trigêmeo em relação à medula espinal, indicando que sistemas trigeminais parecem receber uma menor entrada inibitória. Esse resultado sugere que a modulação descendente de RVM para alvos trigeminal e espinal não é uniforme e pode ser modulada diferencialmente (Aicher et al., 2012).

O artigo de Schmidt *et al.*, de 2016, teve como objetivo examinar os efeitos comportamentais e neurais da dor trigeminal e periférica no processamento visual e na codificação da memória (Schmidt et al., 2016). Para isso, a atividade cerebral de 23 indivíduos saudáveis foi avaliada com o uso de ressonância magnética funcional (fMRI). O exame foi realizado enquanto os participantes executavam diferentes tarefas e, concomitantemente, recebiam estimulação elétrica nociva na testa ou na mão. Em concordância com outros artigos, (Sambo et al., 2012; Schmidt et al., 2016) eles encontraram classificações de medo mais altas para o rosto em relação à mão. Esse resultado foi relacionado com a maior ativação da amígdala em estímulos da face. Os

autores relacionaram essa maior indução do medo na face à relevância biológica da dor localizada na região da cabeça e da face, que abriga funções vitais, como respiração e ingestão de alimentos (Schmidt et al., 2016). Entretanto, ao contrário do que eles esperavam, a dor facial não comprometeu a realização de tarefas de categorização e reconhecimento e não reduziu a atividade neural em áreas relacionadas à codificação visual e de memória. De modo geral, esse estudo mostrou aumento da atividade neural na face em comparação com a dor nas mãos, mas sem diferença no desempenho comportamental (Schmidt et al., 2016).

Em 2017, Rodriguez *et al.*, realizaram um estudo que teve como objetivo avaliar as diferenças entre as vias afetivas da dor, na qual os segundos neurônios se projetam para o núcleo parabraquial lateral (PBL, na sigla em inglês), em estímulos aplicados na face e na extremidade de ratos (Rodriguez et al., 2017). Foi utilizado uma tecnologia dependente de atividade, chamada CANE, para identificar neurônios nociceptivos e suas conexões com o PBL e o sistema de dor afetiva. Os resultados desse estudo mostraram que os aferentes nociceptivos trigeminais transmitem o sinal doloroso para a via afetiva por projeções monossinápticas diretas do gânglio trigeminal para o núcleo parabraquial lateral ou indiretas, passando pelo subnúcleo caudal antes de ascender para o PBL. Já nas vias extratrigeminais, a via é indireta e única, saindo do gânglio da raiz dorsal em direção ao corno dorsal da medula espinal e terminando no PBL (Rodriguez et al., 2017). Para os autores, esse achado pode explicar o motivo pelo qual os estímulos de intensidade semelhantes aplicados na face ativam mais neurônios PBL, em relação a estímulos em regiões extratrigeminais (Rodriguez et al., 2017). O núcleo parabraquial lateral retransmite as informações da dor para regiões límbicas, como amígdala, hipotálamo, cíngulo anterior e córtex insular. Isso pode levar a ativações aumentadas da resposta afetiva à dor, percebendo a dor como mais grave, indutora de medo e emocionalmente desgastante em relação às demais dores no corpo. Ainda nesse estudo, a ativação da projeção monossináptica para o PBL induziu comportamentos de fuga, evitação e estresse, enquanto o silenciamento reduziu a nocicepção facial (Rodriguez et al., 2017). Para os autores, essa conexão rápida entre o gânglio trigeminal e o núcleo parabraquial lateral pode ajudar na compreensão do fato das comorbidades, como ansiedade, depressão, entre outras, estarem intimamente relacionadas com as dores nas regiões da cabeça e face (Rodriguez et al., 2017).

O grupo de Lopes *et al.*, 2017 isolou e examinou os gânglios da raiz dorsal e trigeminal de camundongos, usando classificações de células ativadas por fluorescência e realizaram o sequenciamento do RNA (Lopes et al., 2017). O objetivo do estudo foi avaliar as diferenças na expressão do gene neuronal. Como resultado, eles observaram que, apesar da origem embrionária e a capacidade de processamento distintos, como mostraram estudos anteriores, o DRG e TG apresentam uma impressão digital muito semelhante. Entretanto, foram observados 63 genes diferencialmente expressos entre as duas populações de neurônios primários, destes, 24 genes foram encontrados exclusivamente em qualquer um dos gânglios (Lopes et al., 2017). Uma maior atenção foi dada à expressão do gene CGRP e ao canal iônico sensível ao ácido (ASIC1). O CGRP foi encontrado em ambos os gânglios, entretanto, o DRG apresentou duas vezes mais expressão desse gene. Os autores sugerem que esse gene está implicado em processos divergentes em condições de dores faciais e cranianas em relação à periférica. Dessa forma, o CGRP parece contribuir para dores trigeminais, enquanto sua regulação negativa no DRG pode estar relacionada a causas de dor (Lopes et al., 2017). Por outro lado, o ASIC1 é mais expresso em neurônios do TG. Esse canal participa da mecanoccepção, nocicepção e dor, além de estar associado ao crescimento e diferenciação neuronal, plasticidade sináptica, aprendizado e memória. Dessa forma, os autores concluíram que, apesar da semelhança, as duas populações de neurônios apresentam características moleculares únicas (Lopes et al., 2017).

O artigo de Levy *et al.*, 2018, comparou sistematicamente as capacidades de modulação da dor endógena na região trigeminal em relação à extratrigeminal em indivíduos saudáveis (Levy et al., 2018). O procedimento foi realizado em quatro regiões do corpo, sendo duas trigeminais (testa e bochecha) e duas extratrigeminais (pescoço e superfície dorsal do braço) em 17 participantes. Os testes de modulação condicionada da dor, soma temporal da dor e soma espacial da dor foram realizados. Como resultado, eles observaram que as regiões inervadas pelo trigêmeo apresentaram a menor sensibilidade à dor, com a testa, em particular, exigindo uma temperatura mais alta para induzir o mesmo nível de dor e apresentando a menor soma espacial em comparação com outras regiões. Apesar disso, nessa mesma área

houve uma inibição endógena da dor menos eficiente, i.e., uma modulação mais fraca, em relação às regiões extratrigeminais (Levy et al., 2018).

Em 2018, Kogelman *et al.*, avaliaram a diferença entre perfis de expressão gênica em neurônios nociceptivos secundários na via trigeminal e espinotalâmica (Kogelman et al., 2018). Para isso, foram extraídos RNA de lâminas microdissecadas no núcleo caudal do trigêmeo e do corno dorsal da medula espinal de seis ratos. A motivação para o estudo era entender por que diversas substâncias sinalizadoras (por exemplo, trinitrato de glicerila, histamina, CGRP e polipeptídeo ativador de adenilato ciclase pituitária) provocam dor na cabeça, mas não na periferia. A hipótese do estudo era de que genes distintos poderiam explicar essa diferença entre as cefaleias e as dores no corpo. Como resultado, eles encontraram que a expressão diferencial de genes indica que, embora as vias de sinalização nociceptiva trigeminal e espinotalâmica sejam homólogas, muitos genes são expressos diferencialmente entre esses sistemas em ratos virgens (Kogelman et al., 2018).

O estudo de Megat *et al.*, de 2019, utilizou a purificação de ribossomos para caracterizar e comparar a tradução de mRNA em nociceptores no TG e DRG de camundongos (Megat et al., 2019). Os resultados mostraram que a atividade (eficiência na tradução) dos genes relacionados ao alvo mecanístico da rapamicina, chamado de mTOR, é maior no gânglio trigeminal, enquanto genes reguladores negativos do mTOR e proteína quinase ativada por AMP têm maior eficiência de tradução no DRG. Isto é, o TG apresenta níveis mais elevados de síntese proteica pela via mTORC1, enquanto no DRG a síntese proteica é realizada a partir da via de sinalização de AMPK (Megat et al., 2019). Os dados também sugerem que as diferenças na atividade basal do mTORC1 entre os nociceptores TG e DRG podem levar a diferenças na magnitude da sensibilização após a lesão (Megat et al., 2019).

Em 2020, Korczeniwska *et al.*, avaliaram a diferença na regulação transcricional de genes envolvidos no desenvolvimento de dor neuropática trigeminal e espinal. O objetivo foi comparar os perfis de expressão de genes inflamatórios relacionados com a dor neuropática em ratos expostos à lesão dos nervos infraorbitário ou ciático (Korczeniwska et al., 2020). Os achados do estudo mostram que, embora os mesmos processos biológicos possam ser ativados nos dois gânglios

após lesão do nervo periférico, eles podem ser afetados de forma diferente. Isto é, o mesmo gene exerce ação diferente quando regulado positivamente em um sistema e regulado negativamente no outro (Korczeniewska et al., 2020).

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo primário deste estudo foi comparar o grau de hiperalgisia secundária induzida pela capsaicina tópica entre a inervação espinal e trigeminal. Ainda, foi avaliada a influência da sensibilização central induzida pela capsaicina tópica na sensibilidade somatossensorial do masseter e antebraço em indivíduos saudáveis. As nossas hipóteses foram que: 1) a hiperalgisia secundária seria mais robusta na inervação espinal; 2) a capsaicina tópica modularia a sensibilidade somatossensorial, e essas respostas seriam diferentes entre a inervação espinal e trigeminal.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Amostra

O estudo foi realizado em um total de 40 indivíduos saudáveis da região de Piracicaba – SP, recrutados na Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas – SP, Brasil. A seleção dos indivíduos para a pesquisa foi realizada por meio de divulgação do estudo dentro da universidade. Ainda, a fim de obter uma amostra representativa da população e reduzir vieses, o número de participantes foi igual entre os sexos (Hughes et al., 2019; Srbely et al., 2010).

Os critérios de inclusão foram: a) idade maior que 18 anos; b) bom estado de saúde geral, sem queixa de qualquer tipo de dor crônica ou episódios de dor orofacial e cefaleia nos últimos 30 dias ou mais do que 11 episódios nos últimos 12 meses. Já os critérios de exclusão foram: a) presença de distúrbios sistêmicos não controlados, e.g., diabetes, hipertensão ou distúrbios endócrinos; b) presença de alterações congênitas ou de desenvolvimento, e.g., aplasia, hiperplasia, displasia ou neoplasias; c) distúrbios neurológicos, renais, hepáticos, cardíacos, reumáticos ou psiquiátricos; d) gravidez ou lactação; e) uso de medicamentos de ação central. Além disso, não foi permitido fazer uso de qualquer analgésico 24 h antes das sessões. A tomada da história médica e odontológica detalhada foi a principal fonte de informação para determinação dos critérios de elegibilidade.

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

4.2 Variáveis de desfecho

As variáveis primárias deste estudo foram: a área de hiperalgesia à picada e alodinia, e os limiares de dor mecânico e elétricos dentro da área de hiperalgesia à picada. Já as variáveis secundárias foram a intensidade de dor durante a aplicação da capsaicina, o limiar de detecção mecânico e a modulação condicionada da dor (Yarnitsky et al., 2012). Ainda, os seguintes questionários (variáveis secundárias) foram aplicados: Escala hospitalar de ansiedade e depressão (HADS, na sigla em inglês) (Botega et al., 1995), Índice de qualidade do sono de Pittsburgh (PSQI, na sigla em inglês) (Bertolazi et al., 2011), Escala de catastrofização da dor (PCS, na sigla em inglês) (Sardá Junior et al., 2008) e Escala de estresse percebido (PSS, na sigla em inglês) (Di Bernardi Luft et al., 2007).

4.3 Desenho experimental

Neste ensaio clínico cruzado, um creme de capsaicina tópica 1% (Galena Química e Farmacêutica Ltda, Campinas, SP – Brasil) foi aplicado em diferentes áreas e em diferentes sessões. As aplicações foram feitas em 2 sessões consecutivas e separadas por pelo menos 24 h (período de *washout*) (Figura 1). Os sítios de aplicação foram a região cutânea sobre o terço distal da face volar do antebraço direito e região cutânea central do masseter direito (Figura 1). A região cutânea sobre o antebraço, inervada pelo sistema espinal, foi escolhida para permitir a comparação com os inúmeros estudos em humanos que investigaram a resposta à capsaicina também nessa área (Enax-Krumova et al., 2017; Harding et al., 2001; LaMotte et al., 1991; Liu et al., 1998; Mohammadian et al., 1998; Rukwied et al., 2003; Zheng et al., 2009). Além disso, a área sobre o masseter é uma região inervada pelos ramos V2 e V3 do nervo trigêmeo e é grande o suficiente para que os testes sejam realizados sem cruzar a linha média (como a testa, por exemplo). Nessas regiões, foram aplicados 0,25 g do creme de capsaicina 1% em uma área circular de 2 cm² durante 45 min. A área foi limpa com gaze embebida com álcool 70 e um círculo de 2 cm² foi marcado na pele com uma caneta com o auxílio de um objeto de plástico com diâmetro de 1.596 cm (Figura 2). Em seguida, a capsaicina foi aplicada com auxílio de uma espátula descartável (Figura 3) e um plástico foi posicionado sob o creme para evitar uma possível evaporação da capsaicina (Figura 4). A ordem de aplicação nas áreas foi randomizada para cada indivíduo e a lista de randomização foi obtida pelo website www.randomization.com. As seguintes variáveis foram avaliadas antes e após o final

da aplicação do creme dentro da área de hiperalgesia secundária, tanto em masseter quanto em antebraço: limiar de detecção mecânica (MDT, na sigla em inglês), limiar de dor mecânica (MPT, na sigla em inglês) e limiar de percepção de corrente (CPT, na sigla em inglês). Ressalta-se que um creme placebo inerte não foi utilizado, tendo em vista que o objetivo principal foi a comparação entre sítios, e não uma avaliação do efeito da capsaicina em si. Além disso, foi realizada uma sessão prévia à aplicação do creme, em que os testes CPT, MDT e MPT foram realizados em dois tempos diferentes – Basal 1 e Basal 2 (separado por pelo menos 20 min) em ambos os sítios. O objetivo foi avaliar as possíveis flutuações naturais na sensibilidade somatossensorial. Ao final dessa sessão prévia foi realizado o teste de modulação condicionada da dor e a aplicação dos questionários psicossociais. Foi realizada uma demonstração em uma área que não foi avaliada (região tenar da mão direita) para os indivíduos se familiarizarem com os testes. Além disso, é importante ressaltar, que os homens eram solicitados a se barbear com cuidado antes das sessões - evitando possíveis cortes - para que houvesse um contato direto entre o creme de capsaicina e a pele, sem interferência de pelos.

Figura 1 – Nas fases do estudo, 40 participantes saudáveis (20 homens e 20 mulheres) foram incluídos e completaram todas as sessões.

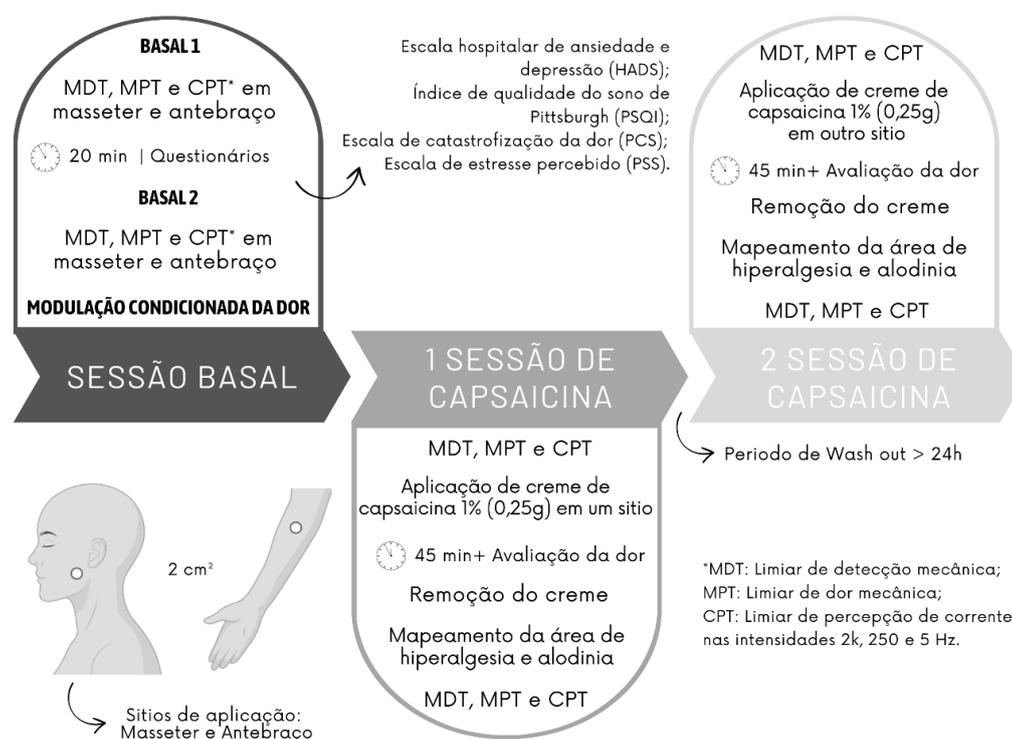


Figura 2 – Marcação da área de aplicação da capsaicina (2cm²) em antebraço (A) e masseter (B).

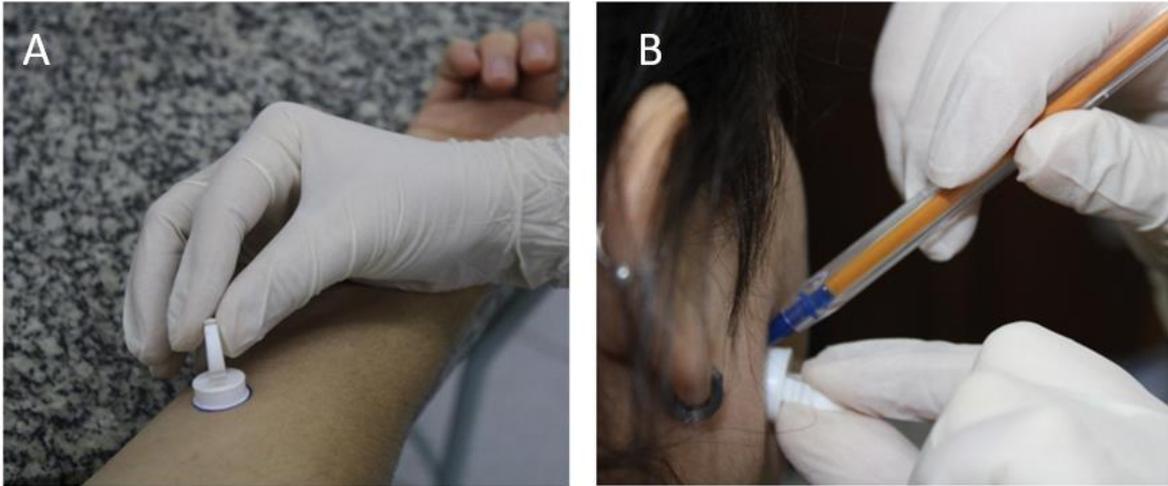


Figura 3 – Aplicação do creme de capsaicina em antebraço (A) e masseter (B).

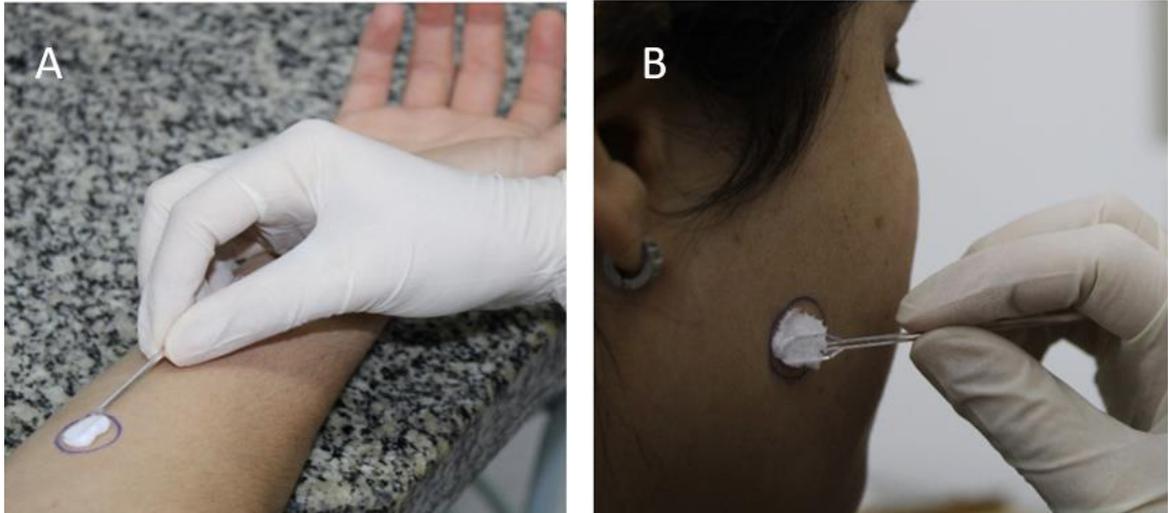
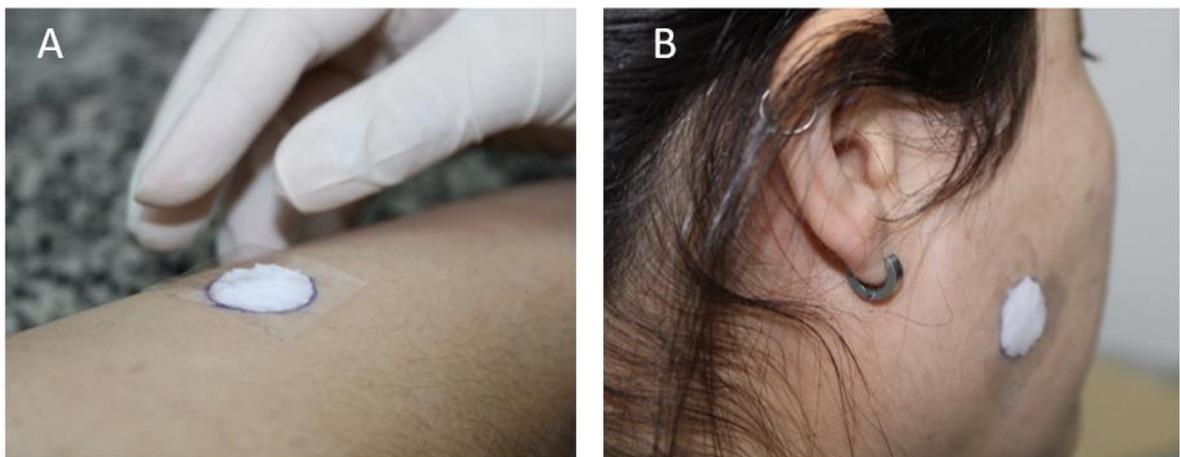


Figura 4 – Filme plástico posicionado sobre o creme em antebraço e masseter.



4.4 Avaliação da área de hiperalgesia secundária e alodinia

As áreas de hiperalgesia secundária e alodinia foram avaliadas por meio de estímulos mecânicos (estímulos de picada e pincel) (Figura 5A). A área de alodinia mecânica dinâmica foi avaliada usando um pincel de pelo macio. O mapeamento teve início em uma área muito distante da aplicação de capsaicina, e o pincel foi movido em direção à zona de hiperalgesia primária a uma velocidade de 1 cm/s até que os indivíduos reportassem uma sensação dolorosa (Figura 5B). Para esse mapeamento foram determinadas oito linhas radiais, com ângulos de 45° entre elas. Em cada raio, o ponto de mudança de sensação tátil para sensação dolorosa foi marcado e, quando interligados, formaram a área de alodinia (Magerl et al., 2001) (Figura 6). A intensidade de dor da alodinia mecânica foi avaliada utilizando uma escala de graduação numérica 0-10, em que 0 indicava “nenhuma dor” e 10 “a pior dor imaginável” (Harding et al., 2001; Liu et al., 1998; Srbely et al., 2010; Torebjörk et al., 1992).

O mapeamento da área de hiperalgesia à picada foi avaliada por um filamento de von Frey de nylon de 180 g (Aesthesio, DanMic Global LLC. San Jose CA, USA). De maneira semelhante, o teste também foi iniciado em uma área bem distante da área de aplicação do creme, e os estímulos foram aplicados de maneira dinâmica, i.e., os filamentos foram movidos em direção à área de aplicação em intervalos de 1 cm (Figura 5C). Em cada raio, o ponto no qual os participantes relataram que o estímulo passou a ser claramente mais doloroso foi marcado com uma caneta. Esses pontos foram interligados formando um octógono que representou a área de hiperalgesia à picada, considerada uma manifestação da hiperalgesia secundária (Torebjörk et al., 1992; Treede et al., 1992) (Figura 6). O limite da zona de hiperalgesia secundária foi confirmado por uma reavaliação perto da borda da zona de hiperalgesia secundária (Fuchs et al., 2000; Gazerani e Arendt-Nielsen, 2005; Hughes et al., 2020; Liu et al., 1998; Magerl e Treede, 2004). A zona de hiperalgesia primária foi considerada a área de contato com o creme de capsaicina e a área eritematosa ao redor mais adjacente. As áreas de hiperalgesia secundária e de alodinia, marcadas na pele com uma caneta, foram transferidas para um papel vegetal (Figura 7). O papel foi escaneado, e a área foi calculada utilizando o software ImageJ (US National Institute for Health) (Hughes et al., 2020).

Figura 5 – A. Instrumentos utilizados para realizar o mapeamento da área de alodinia (pincel) e hiperalgesia (filamento de von Frey). B. Mapeamento da área de alodinia. C. Mapeamento da área de hiperalgesia.



Figura 6 - Delimitação da área de alodinia e hiperalgesia em antebraço (A) e masseter (B).

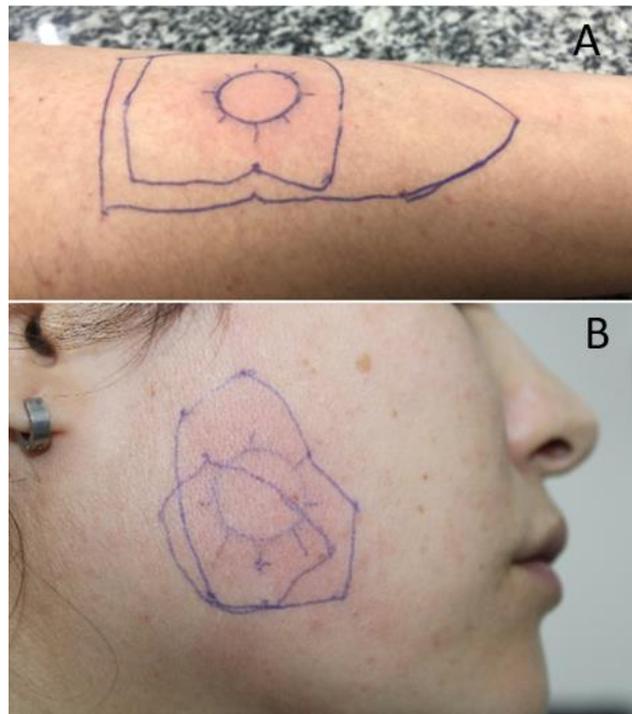
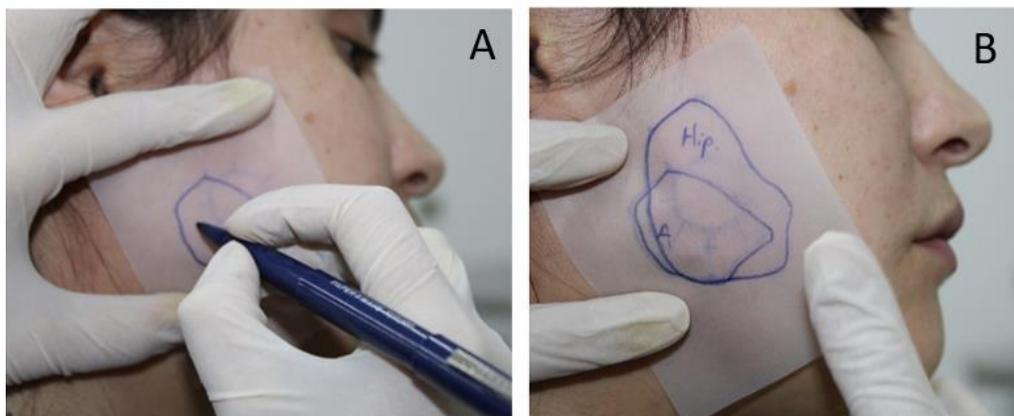


Figura 7 – Transferência das áreas de hiperalgesia e alodinia para o papel vegetal.



4.5 Avaliação somatossensorial

A avaliação somatossensorial foi realizada na região cutânea sobre o masseter e sobre a região volar do antebraço. Os testes MDT e MPT foram realizados de acordo com as recomendações da Rede Germânica de Dor Neuropática (DFNS, na sigla em alemão) (Rolke et al., 2006). Para ambos os testes foram utilizados um conjunto padronizado de filamentos de von Frey (Aesthesio, DanMic Global LLC. San Jose CA, USA) que exercem forças entre 0,008 e 300 g (Figuras 8 e 9). Durante o período dos testes foi solicitado aos participantes que mantivessem seus olhos fechados. O MDT sempre era iniciado com o filamento de menor força (0,008 g), aumentando gradativamente até que o indivíduo relatasse um toque leve. Em seguida, eram utilizados os filamentos com menor intensidade de força até que o indivíduo não relatasse nenhuma sensação de toque. Foi utilizado o método dos limites, no qual cinco limiares foram determinados, cada um em uma série de intensidades de estímulo ascendentes e descendentes. O limiar final foi considerado a média geométrica das cinco séries (Rolke et al., 2006). O MPT também é realizado alterando os filamentos de von Frey de modo que a força seja aumentada gradativamente seguindo a ordem dos filamentos até que o participante relate que a sensação mudou de toque para picada dolorosa. Da mesma forma que o MDT, o limiar final é a média geométrica de cinco séries de estímulos ascendentes e descendentes (Rolke et al., 2006).

Figura 8 – Filamento de von Frey (Aesthesio, San Jose, USA).



Figura 9 – Teste utilizando o filamento de von Frey.



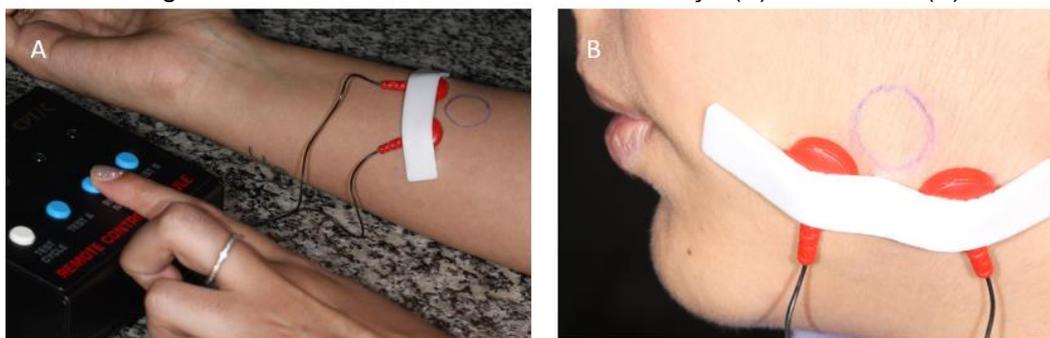
Os limiares elétricos foram avaliados por meio do aparelho Neurometer CPT/C (Neurotron, Baltimore, USA) (Figura 10). O teste de Limiar de Percepção de Corrente avalia o limiar de condução neural, i.e., o mínimo de estímulo elétrico para induzir uma sensação. O objetivo desse teste, na clínica, é avaliar separadamente a integridade funcional das fibras nervosas periféricas A β , A δ e C por meio de estímulos com frequências diferentes: 2000 Hz, 250 Hz e 5 Hz, respectivamente. No atual

estudo, o aparelho foi regulado no modo automático, dessa forma, tanto o participante quanto o operador ficam cegos, portanto, não influenciam o resultado. Dois eletrodos com gel condutor (Mercur) foram posicionados e estabilizados com fita adesiva dentro da área de hiperalgesia à picada em masseter ou antebraço, dependendo da sessão. Inicialmente, eram gerados estímulos de intensidades crescentes, até que o paciente relatasse a primeira sensação. Em seguida, o aparelho realizava um segundo teste, no qual dois estímulos eram gerados de modo aleatório, sendo um verdadeiro e um falso. O paciente era solicitado a apertar um dos botões de uma extensão do aparelho que ficava com o paciente, no qual as opções eram “Teste A”, “Nenhum” e “Teste B” (Figura 11). Apertar o botão “Teste A” significa que o participante sentiu o primeiro estímulo, apertar o “Teste B” significa que sentiu o segundo estímulo e “Nenhum” significa que não sentiu nenhuma sensação em nenhum dos dois estímulos. De acordo com a resposta do paciente, o dispositivo ajustava a intensidade do estímulo e gerava um novo ciclo. Esse teste era realizado várias vezes até que o aparelho chegasse a uma resposta consistente para determinar o limiar de cada fibra. O valor final do CPT para cada frequência/fibra é determinado pela média da intensidade mínima dos estímulos consistentemente detectados e não detectados (Hilgenberg-Sydney et al., 2016; Neurotron, 2010; SYDNEY, 2013).

Figura 10 – Aparelho Neurometer CPT/C (Neurotron, Baltimore, USA).



Figura 11 – Teste CPT realizado em antebraço (A) e masseter (B).



4.6 Avaliação da intensidade de dor

A intensidade de dor durante a aplicação da capsaicina foi avaliada por meio de uma escala de gradação numérica 0-10, em que zero indica “nenhuma dor” e 10 indica “a pior dor imaginável”. O indivíduo era inquirido sobre a intensidade de dor na área de aplicação nos momentos 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 e 45 min. Posteriormente, a média, a área sob a curva (AUC) e a dor máxima foram calculadas.

4.7 Avaliação da modulação condicionada da dor

A magnitude da modulação da dor foi estimada por meio do limiar de dor à pressão. Esse estímulo-teste foi aplicado na região anterior do músculo temporal e mão do lado dominante do indivíduo. Já o estímulo condicionante foi a imersão da mão do lado não dominante em um balde de água com gelo por 2 min, a uma temperatura entre 10 e 12 °C. O protocolo de avaliação foi do tipo paralelo, i.e., o estímulos-teste foi avaliado antes (basal) e juntamente com a aplicação do estímulo-condicionante, iniciando-se após 30 segundos. A ordem da aplicação do estímulo-teste nas áreas foi randomizada para cada indivíduo, e um intervalo de 1 min entre cada um dos estímulos-teste foi respeitado. Foram realizados três estímulos-teste (PPT) antes do estímulo-condicionante (basal) e três estímulos-teste após (condicionado). Dessa forma, a diferença absoluta e relativa entre a média do estímulo-teste basal e condicionado representa a magnitude da modulação, i.e., o “vigor” do sistema modulatório descendente.

4.8 Análise estatística

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

As variáveis foram descritas por meio da média e do desvio padrão ou pela distribuição das proporções, dependendo do tipo de variável. A distribuição normal das variáveis quantitativas foi avaliada com o auxílio do teste Kolmogorov-Smirnov e uma transformação dos dados (\log_{10}) foi aplicada para os resultados significantes ($p < 0.05$). Todas as variáveis foram transformadas em log, exceto idade e valores da modulação condicionada da dor.

Comparou-se a proporção de desenvolvimento de áreas de hiperalgesia e alodinia secundárias e participantes que relataram dor em qualquer momento entre os locais (no total e para cada sexo). Os participantes que desenvolveram áreas de hiperalgesia maiores que 2 cm² foram considerados respondedores, considerando que essa área corresponde à área de hiperalgesia primária.

ANOVA com um fator intrasujeito (local, 2 níveis - masseter e antebraço) e um fator intersujeitos (sexo, 2 níveis - masculino e feminino) foi calculada para comparar a área de hiperalgesia e alodinia e a intensidade da dor causada pela capsaicina - AUC, média de dor e dor máxima. Para avaliar as alterações somatossensoriais, uma ANOVA mista foi realizada considerando dois fatores intrasujeito, ou seja, tempo (4 níveis – basal 1, basal 2, antes da capsaicina e depois da capsaicina) e local (2 níveis - masseter e antebraço) e um fator intersujeito sexo (2 níveis – masculino e feminino). Análises de comparação múltipla foram realizadas usando o teste de Bonferroni. O nível de significância adotado foi de 5% ($p = 0,050$).

O erro padrão de mensuração (SEM) foi calculado para cada resultado somatossensorial, com base nos valores da sessão basal. A fórmula $SEM \times 1,96$ foi usada para determinar o ponto de corte. A diferença entre os valores antes e depois da capsaicina foi calculada, e essa diferença foi comparada com o valor de corte para avaliar as alterações somatossensoriais como relevantes ou não. Em seguida, aplicou-se o teste de McNemar para comparar as proporções de mudanças relevantes entre os sítios considerando um nível de significância de 5% ($p = 0,050$).

Finalmente, o teste de correlação de Spearman e seu intervalo de confiança de 95% (IC 95%) foram calculados para medir a associação linear entre a magnitude da modulação condicionada da dor e 1) a área de hiperalgesia secundária e 2) a intensidade da dor à capsaicina. Além disso, também correlacionamos as variáveis psicossociais com a área de hiperalgesia secundária e com a intensidade da dor da capsaicina.

5 RESULTADOS

5.1 Área de hiperalgesia secundária e alodinia

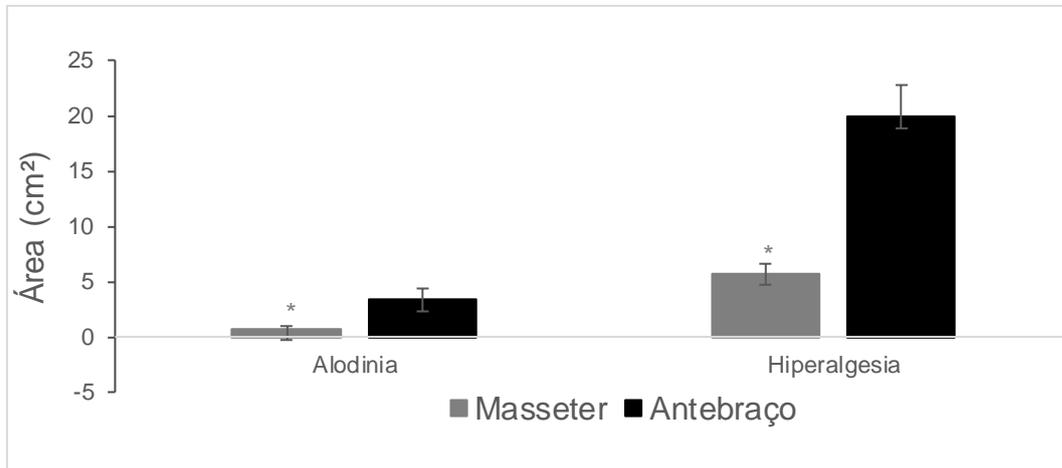
Dos 40 indivíduos que participaram da pesquisa, todos completaram os testes e responderam aos questionários. A idade média (DP) dos participantes foi de 26 (4,2) anos e não houve diferença de idade entre os 20 participantes do sexo masculino e 20 do sexo feminino ($p=0,689$). A tabela 2 descreve as proporções dos indivíduos que desenvolveram áreas de hiperalgesia e alodinia no masseter e antebraço em resposta a aplicação tópica de capsaicina 1%. A incidência das áreas, tanto de alodinia quanto de hiperalgesia, foi maior no antebraço em relação ao masseter (Tabela 2). Ainda, a extensão das áreas de hiperalgesia [$F_{1,38} = 53,491$; $p=0,000$; $\eta=0,585$] e alodinia [$F_{1,38}=15,087$; $p=0,000$; $\eta=0,284$] também foram maiores no antebraço (Figura 12). Entretanto, não foi encontrada diferença entre os sexos na extensão da área de hiperalgesia secundária [$F_{1,38}=0,034$; $p=0,856$; $\eta=0,001$] e alodinia [$F_{1,38}=0,717$; $p=0,402$; $\eta=0,019$].

Tabela 2. Proporção e intervalo de confiança (IC) de 95% dos indivíduos que desenvolveram áreas de alodinia e hiperalgesia no masseter e antebraço após 45 min de aplicação tópica de capsaicina 1%.

	Alodinia				Hiperalgesia			
	Masseter		Antebraço		Masseter		Antebraço	
	N (%)	IC 95%	N (%)	IC 95%	N (%)	IC 95%	N (%)	IC 95%
Mulheres (<i>n</i> =20)	7 (35%)	(15 - 59%)	11 (55%)	(31 - 76%)	13 (65%)	(40 - 84%)	18 (90%)	(68 - 98%)
Homens (<i>n</i> =20)	3 (15%)	(3,2 - 37%)	8 (40%)	(19 - 63%)	14 (66,7%)	(45 - 88%)	17 (81%)	(62 - 96%)
TOTAL (<i>N</i>=40)	10 ^a (25%)	(12 - 41%)	19 (47,5%)	(31 - 63%)	27 ^b (67,5%)	(50 - 81%)	35 (87,5%)	(73 - 95%)

^aDiferença significativa entre os sítios. McNemar [$X^2 (1) = 7.111$; $p=0.004$]. ^bDiferença significativa entre os sítios. McNemar [$X^2 (1) = 6.125$; $p=0.008$].

Figura 12. Média das áreas de alodinia e hiperalgesia à picada desenvolvida em resposta à aplicação tópica de capsaicina a 1% no masseter e antebraço. As barras de erro indicam o erro padrão da média.



* Indica diferença significativa entre os sítios ($p < 0,001$).

5.2 Intensidade de dor

O número de participantes que desenvolveu dor espontânea após a aplicação de capsaicina a 1% foi de 29 no masseter e 33 no antebraço, ou seja, 72,5% (IC 95% entre 58-86%) e 82,5% (IC 95% entre 70-94%), respectivamente. Destes, 14 mulheres (70%) desenvolveram dor após a aplicação de capsaicina no masseter, enquanto 17 (85%) sentiram dor no antebraço. O número de homens que desenvolveram dor foi de 15 (75%) no masseter e 16 (80%) no antebraço. Não houve diferença entre os sítios na proporção de pessoas que relataram dor espontânea. Além disso, a intensidade máxima da dor foi maior no antebraço, quando comparada com o masseter durante a aplicação de capsaicina [$F_{1,38} = 8,478$; $p = 0,006$; $\eta = 0,182$; Tabela 3]. Essa diferença foi observada apenas nas participantes do sexo feminino [$F_{1,38} = 6,975$; $p = 0,012$; $\eta = 0,155$, Tabela 3].

Tabela 3. Média, Desvio Padrão (DP) e Intervalo de Confiança (IC) da média de dor, área sob a curva (AUC) e dor máxima após aplicação tópica de capsaicina (1%) em masseter e antebraço.

		Masseter			Antebraço		
		Feminino	Masculino	Total	Feminino	Masculino	Total
Média de dor	Média	1,8	1,1	1,1	1,3	1,3	1,3
	DP	1,3	1,0	1,2	1,1	1,2	1,2
	95% IC	0,5 - 1,8	0,7 - 1,6	0,8-1,5	0,8 - 1,9	0,7 - 1,8	0,9 - 1,7
AUC	Média	11,8	11,3	11,5	13,5	12,8	13,1
	DP	13,4	10,2	11,8	11,5	12,2	11,7
	95% IC	5,5 - 18,1	6,5 - 16,1	7,8 - 15,3	8,1 - 18,8	7,1 - 18,5	9,4 - 16,9
Dor máxima	Média	2,7 ^a	2,2	2,5^b	3,7	3,0	3,3
	DP	2,5	1,8	2,2	2,4	2,2	2,3
	95% IC	1,5 - 3,9	1,4 - 3,1	1,8 - 3,2	2,5 - 4,8	1,9 - 4,0	2,6 - 4,1

^a ANOVA [F=6,975; p=0,012]. ^b ANOVA [F=8,478; p=0,006].

5.3 Alterações Somatossensoriais

A média (DP) e IC 95% da média para o MDT, MPT e as três frequências do CPT (2k, 250 e 5 Hz) são descritos na tabela 4. A avaliação do MDT indicou um efeito principal do tempo [F_{2,36}=5,2; p=0,004 e parcial $\eta=0,30$] e sítio [F_{1,38}=8,2; p=0,007 e parcial $\eta=0,18$]. Os valores de MDT foram maiores no antebraço, em comparação com o masseter no tempo basal 1 (p=0,031, Tabela 4).

A avaliação do MPT indicou um efeito principal do tempo [F_{2,36}=4,8; p=0,006 e parcial $\eta=0,28$] e uma interação entre sítio e tempo [F_{2,36}=3,1; p=0,037 e parcial $\eta=0,21$]. Os valores de MPT foram maiores após a capsaicina, quando comparados com todos os tempos de avaliação no masseter (p<0,005, Tabela 4). Além disso, os valores de MPT após a capsaicina também foram maiores no masseter, quando comparados aos valores do antebraço no mesmo tempo de avaliação (p=0,004, Tabela 4). Não foram observadas outras diferenças entre os sítios nos demais tempos de avaliação (p>0,050) e não houve alterações significativas no antebraço após a capsaicina (p>0,050).

A avaliação CPT 2k Hz indicou um efeito principal do sítio [F_{1,38}=94,7; p<0,001 e parcial $\eta=0,71$], onde os valores foram maiores no masseter, quando comparados ao antebraço (p<0,001). A avaliação do CPT 250 Hz indicou um efeito principal do tempo [F_{2,36}=6,9; p=0,001 e parcial $\eta=0,37$] e sítio [F_{1,38}=25,5; p<0,001 e parcial $\eta=0,40$]. CPT 250 Hz foi maior após capsaicina, quando comparado com o basal 1 no masseter (p<0,032, Tabela 4). Além disso, os valores do CPT 250 Hz após

a capsaicina também foram maiores no masseter, quando comparados aos valores do antebraço em todos os momentos de avaliação ($p < 0,022$, Tabela 4). Não foram observadas diferenças entre os tempos de avaliação no antebraço ($p > 0,050$, Tabela 4). Finalmente, a avaliação do CPT 5 Hz indicou um efeito principal do tempo [$F_{2,36}=7,4$; $p=0,001$ e parcial $\eta=0,38$] e sítio [$F_{1,38}=25,3$; $p < 0,001$ e parcial $\eta=0,39$]. O CPT 5 Hz foi maior após a capsaicina no masseter, quando comparado com todos os tempos de avaliação ($p < 0,002$). Além disso, os valores foram maiores no masseter, em relação ao antebraço nos tempos basal 1 e 2 e após a capsaicina ($p < 0,038$, Tabela 4). Não foram observadas diferenças entre os tempos de avaliação no antebraço ($p > 0,050$, Tabela 4).

O número de indivíduos que apresentou diferença significativa entre os valores dos testes (MDT, MPT e CPT) antes e após a aplicação de capsaicina superior ao ponto de corte estão representados na tabela 5. De acordo com o teste de McNemar, não houve diferença entre os sítios na proporção de mudanças relevantes para nenhum dos testes ($p > 0,050$).

Tabela 4. Média, Desvio Padrão (DP) e Intervalo de confiança da média (95% IC) dos testes limiar de detecção mecânica (MDT), limiar de dor mecânica (MPT) e limiar de percepção de corrente (CPT) em três frequências (2k, 250 e 5). Os tempos de avaliação foram basal 1 (B1), basal 2 (B2), sessão antes da capsaicina (AC) e depois (DC) da aplicação tópica de capsaicina a 1% aplicada em dois locais (masseter e antebraço) em duas sessões diferentes.

		Masseter				Antebraço			
		B1	B2	AC	DC	B1	B2	AC	DC
MDT (g/mm ²)	Média	0,14 ^{ab}	0,26 ^{aA}	0,23 ^{aA}	0,36 ^{aA}	0,25 ^{aA}	0,33 ^{aA}	0,27 ^{aA}	0,48 ^{aA}
	DP	0,26	0,61	0,83	0,68	0,51	0,55	0,42	0,84
	95% IC	0,06 – 0,22	0,07 – 0,46	-0,03 – 0,50	0,13 – 0,57	0,08 – 0,41	0,15 – 0,50	0,13 – 0,40	0,21 – 0,75
MPT (g/mm ²)	Média	40,78 ^{abA}	17,22 ^{aA}	48,85 ^{ba}	61,59 ^{cb}	51,08 ^{aA}	49,88 ^{aA}	68,94 ^{aA}	50,43 ^{aA}
	DP	80,84	22,31	84	86	96	99	118	88
	95% IC	14,92 – 66,62	6,77 – 27,66	22,00 – 75,69	34,00 – 89,03	20,53 – 82,00	18,26 – 81,49	31,06 – 106,82	22,38 – 78,46
CPT 2K (μAMP)	Média	133,72 ^{ab}	120,75 ^{ab}	145,17 ^{ab}	151,69 ^{ab}	78,2 ^{aA}	83,2 ^{aA}	82,12 ^{aA}	88,4 ^{aA}
	DP	44,31	36,85	53	61	30	31	33	33
	95% IC	119,55 – 147,89	103,50 – 137,99	128,15 – 162,19	132,21 – 171,21	68,49 – 87,90	73,23 – 93,16	71,53 – 92,71	77,87 – 98,92
CPT250 (μAMP)	Média	46,35 ^{ab}	46,4 ^{abB}	48,39 ^{abB}	58,62 ^{bb}	31,3 ^{aA}	34 ^{aA}	32,57 ^{aA}	35,1 ^{aA}
	DP	23	18,90	25	27	12	15	12	12
	95% IC	38,99 – 53,70	37,55 – 55,24	40,44 – 56,24	50,12 – 67,12	27,53 – 35,06	29,16 – 38,83	28,86 – 36,28	31,26 – 39,00
CPT5 (μAMP)	Média	36,57 ^{ab}	35,7 ^{ab}	36,9 ^{aA}	52,8 ^{bb}	25,67 ^{aA}	29,15 ^{aA}	25,15 ^{aA}	30,07 ^{aA}
	DP	23,63	19,41	24	25	14	17	13	12
	95% IC	29,01 – 44,13	26,61 – 44,68	29,35 – 44,44	44,66 – 60,93	21,09 – 30,25	23,81 – 34,48	21,13 – 29,00	26,10 – 34,04

Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas entre os tempos de avaliação no mesmo local (p<0,050). Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas entre os locais para o tempo de avaliação correspondente (p<0,050).

Tabela 5. Número de indivíduos que apresentaram diferenças relevantes para os testes de limiar de detecção mecânica (MDT), limiar de dor mecânica (MPT) e limiar de percepção de corrente (CPT – 2k, 250 e 5 Hz) antes e após aplicação tópica de capsaicina 1%.

	Masseter						Antebraço					
	Mulheres (n=20)		Homens (n=20)		Total (n=40)		Mulheres (n=20)		Homens (n=20)		Total (n=40)	
	N (%)	95% IC	N (%)	95% IC	N (%)	95% IC	N (%)	95% IC	N (%)	95% IC	N (%)	95% IC
MDT (g/mm ²)	3 (15%)	(3,2-37%)	2 (10%)	(1,2-31%)	5 (12,5%)	(4,2-26%)	5 (25%)	(8,7-49%)	1 (5%)	(0,1-24%)	6 (15%)	(5,7-29%)
MPT (g/mm ²)	1 (5%)	(0,1-24%)	1 (5%)	(0,1-24%)	2 (10%)	(0,6-16%)	2 (10%)	(1,2-31%)	4 (20%)	(5,7-43%)	6 (15%)	(5,7-29%)
CPT 2K (μAMP)	3 (15%)	(3,2-37%)	1 (5%)	(0,1-24%)	4 (10%)	(2,8-23%)	1 (5%)	(0,1-24%)	0 (0%)	(0-16%)	1 (2,5%)	(0,1-13%)
CPT 250 (μAMP)	3 (15%)	(3,2-37%)	2 (10%)	(1,2-31%)	5 (12,5%)	(4,2-26%)	1 (5%)	(0,1-24%)	2 (10%)	(1,2-31%)	3 (7,5%)	(1,6-20%)
CPT 5 (μAMP)	0 (0%)	(0-16%)	0 (0%)	(0-16%)	0 (0%)	(0-8,8%)	3 (15%)	(3,2-37%)	2 (10%)	(1,2-31%)	5 (12,5%)	(4,2-26%)

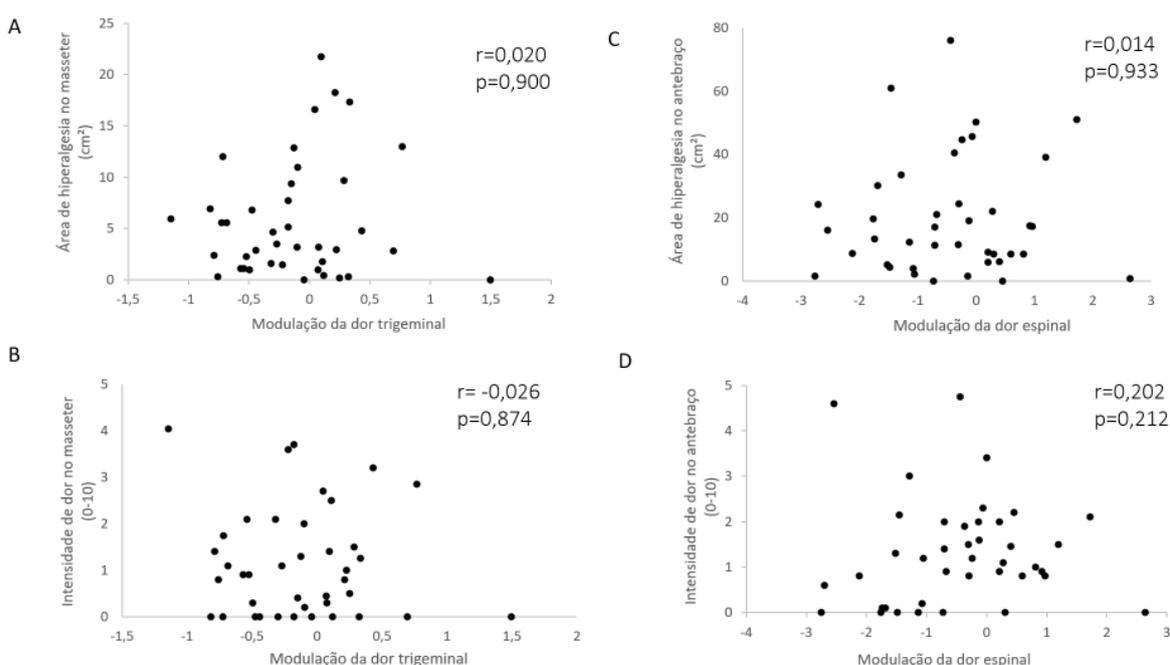
Diferenças relevantes significam valores maiores que o erro padrão de mensuração*1,96. 95% IC = intervalo de confiança de 95% da proporção.

5.4 Modulação Condicionada da Dor

Com relação aos valores do CPM, a média do PPT no temporal antes e após o estímulo condicionante foi de 3,12 (1,6) e 3,25 (1,5), respectivamente. Assim, a magnitude da modulação da dor foi de -0,13 (0,5), IC 95%: -1,15 a 1,5. Para a mão, o PPT médio antes e após o estímulo condicionante foi de 5,28 (1,9) e 5,74 (1,6), respectivamente, resultando em uma magnitude de modulação da dor de -0,46 (1,2), IC 95%: -2,76 a 2,64.

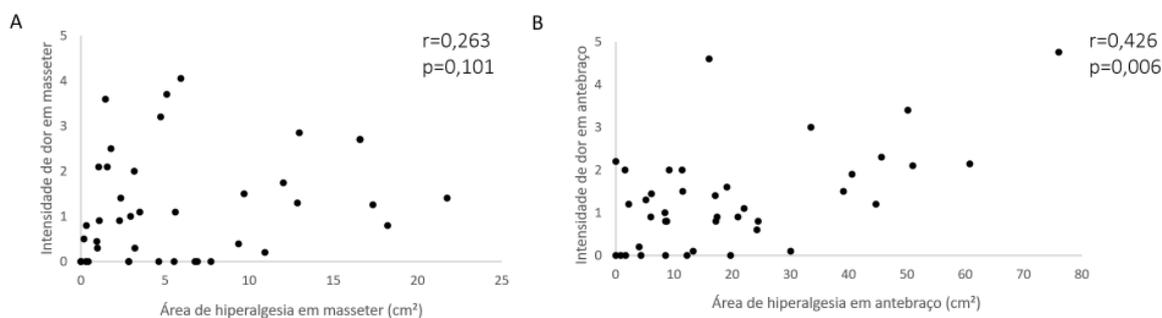
Os resultados do teste de Spearman's mostraram que não houve correlação significativa entre a magnitude da modulação condicionada da dor e a área de hiperalgesia secundária e a intensidade de dor após aplicação de capsaicina 1% tanto em região trigeminal quanto espinal (Figura 13). Já a correlação entre área de hiperalgesia secundária e intensidade de dor foi moderada e significativa apenas para o sítio espinal [$r=0,426$; $p=0,006$; Figura 14B].

Figura 13. Correlação entre modulação da dor condicionada e área de hiperalgesia, e entre modulação condicionada da dor e intensidade média de dor após aplicação tópica de capsaicina. A e B referem-se à aplicação do estímulo teste na região anterior do músculo temporal (modulação da dor trigeminal). C e D referem-se à aplicação do estímulo teste na região tenar (modulação da dor espinal).



Legenda: Números negativos indicam que houve modulação enquanto números positivos indicam que não houve modulação.

Figura 14. Correlação entre área de hiperalgesia e intensidade média de dor após aplicação tópica de capsaicina. A corresponde à avaliação no masseter (sítio trigeminal); B refere-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).



5.5 Aspectos Psicossociais

O teste de Spearman indicou fraca correlação entre os aspectos psicossociais e a área de hiperalgesia secundária e a intensidade da dor. Uma correlação moderada foi encontrada apenas em participantes do sexo masculino. Para eles, quanto maior o nível de catastrofização, maiores as áreas de hiperalgesia no masseter ($r=0,745$; $p=0,000$) e antebraço ($r=0,561$; $p=0,010$). Além disso, também para o sexo masculino, quanto maior o nível de catastrofização, maior a intensidade da dor nas mesmas regiões ($r=0,377$; $p=0,101$ e $r=0,424$; $p=0,063$, respectivamente) (Figura 26).

Figura 15. Correlação entre escala de ansiedade hospitalar (HADS) e área de hiperalgesia secundária após aplicação tópica de capsaicina, e entre HADS e intensidade média de dor durante aplicação tópica de capsaicina. A e B correspondem à avaliação do masseter (sítio trigeminal); C e D referem-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).

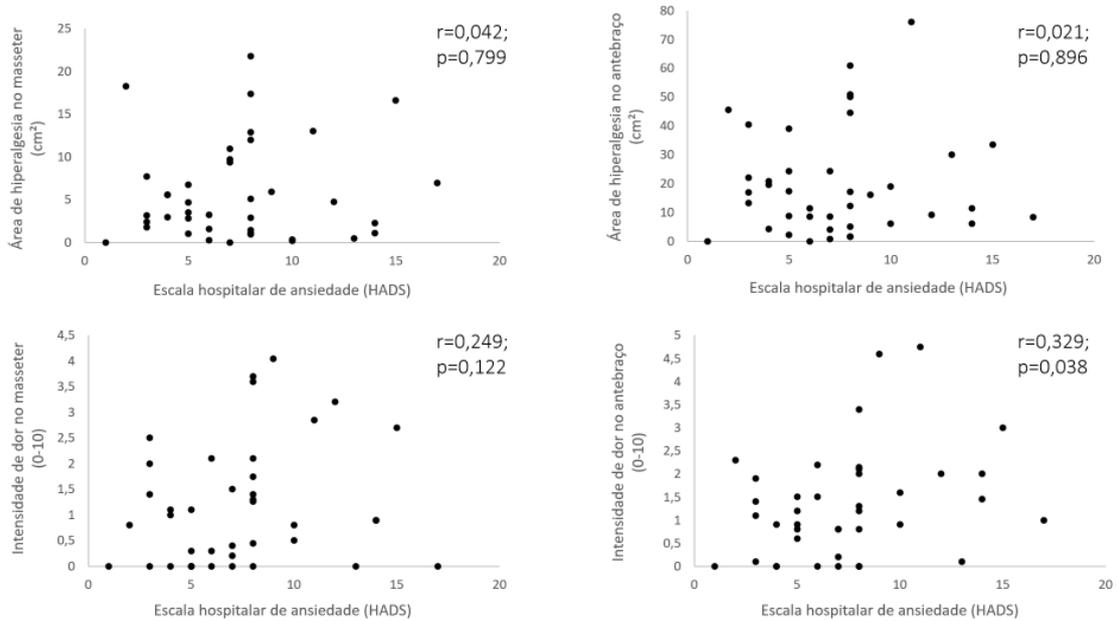


Figura 16. Correlação entre escala de ansiedade hospitalar (HADS) e área de hiperalgesia secundária após aplicação tópica de capsaicina, e entre HADS e intensidade média de dor durante aplicação tópica de capsaicina em mulheres. A e B correspondem à avaliação do masseter (sítio trigeminal); C e D referem-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).

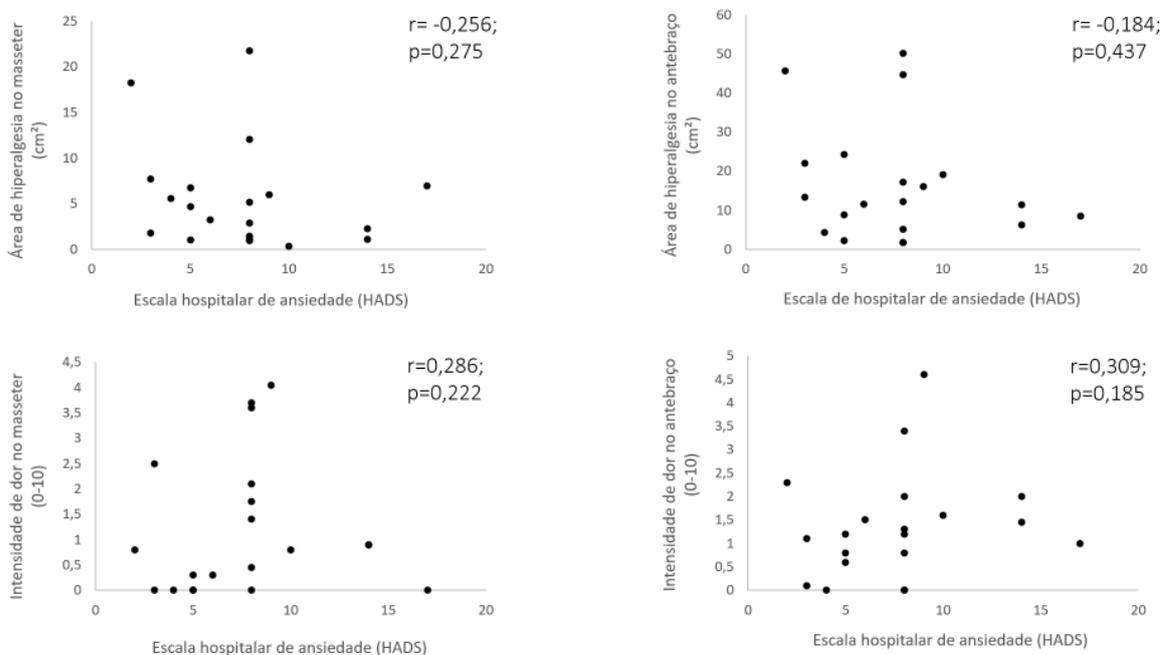


Figura 17. Correlação entre escala de ansiedade hospitalar (HADS) e área de hiperalgesia secundária após aplicação tópica de capsaicina, e entre HADS e intensidade média de dor durante aplicação tópica de capsaicina em mulheres. A e B correspondem à avaliação do masseter (sítio trigeminal); C e D referem-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).

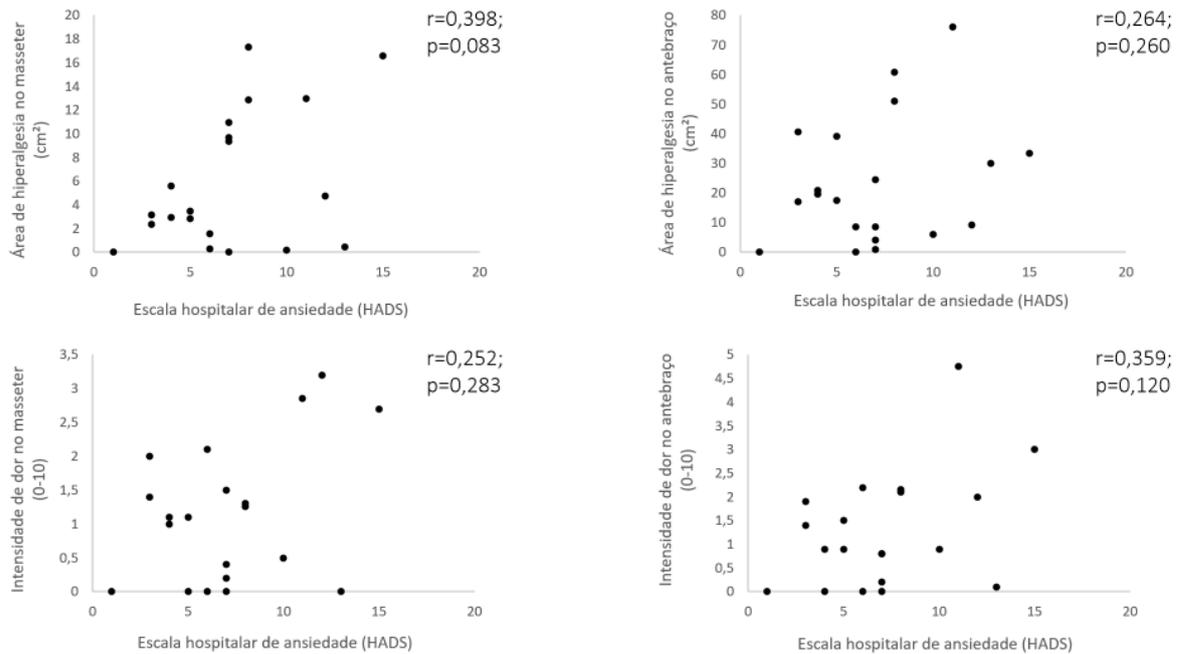


Figura 18. Correlação entre escala de depressão hospitalar (HADS) e área de hiperalgesia secundária após aplicação tópica de capsaicina, e entre HADS e intensidade média de dor durante aplicação tópica de capsaicina. A e B correspondem à avaliação do masseter (sítio trigeminal); C e D referem-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).

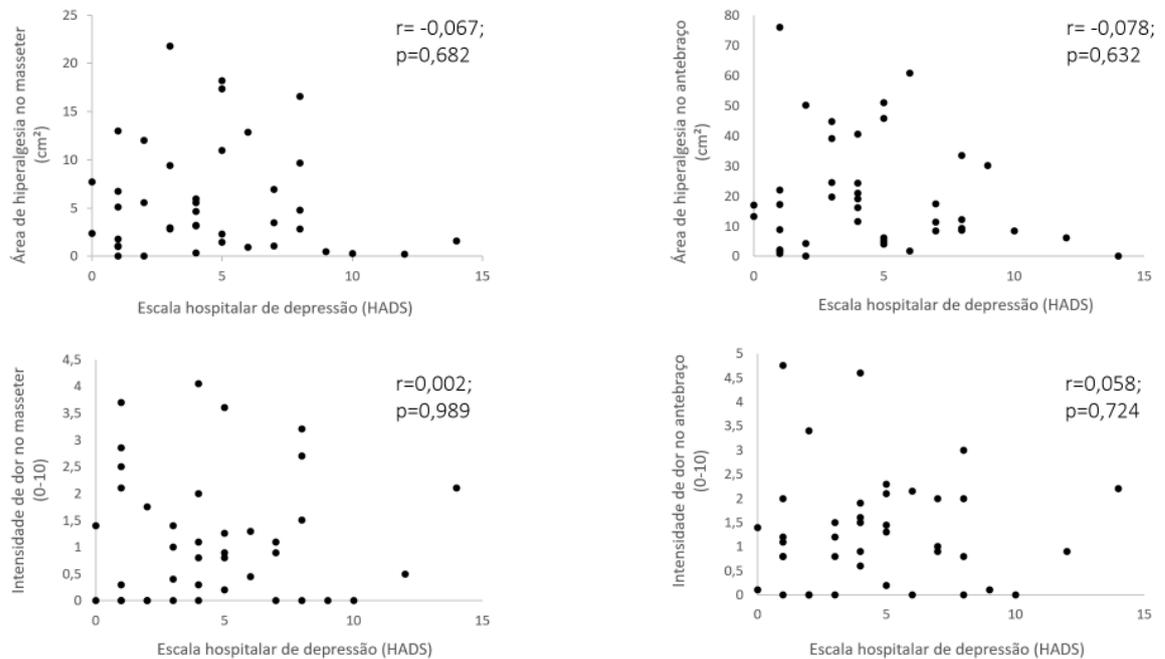


Figura 19. Correlação entre escala de depressão hospitalar (HADS) e área de hiperalgesia secundária após aplicação tópica de capsaicina, e entre HADS e intensidade média de dor durante aplicação tópica de capsaicina em mulheres. A e B correspondem à avaliação do masseter (sítio trigeminal); C e D referem-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).

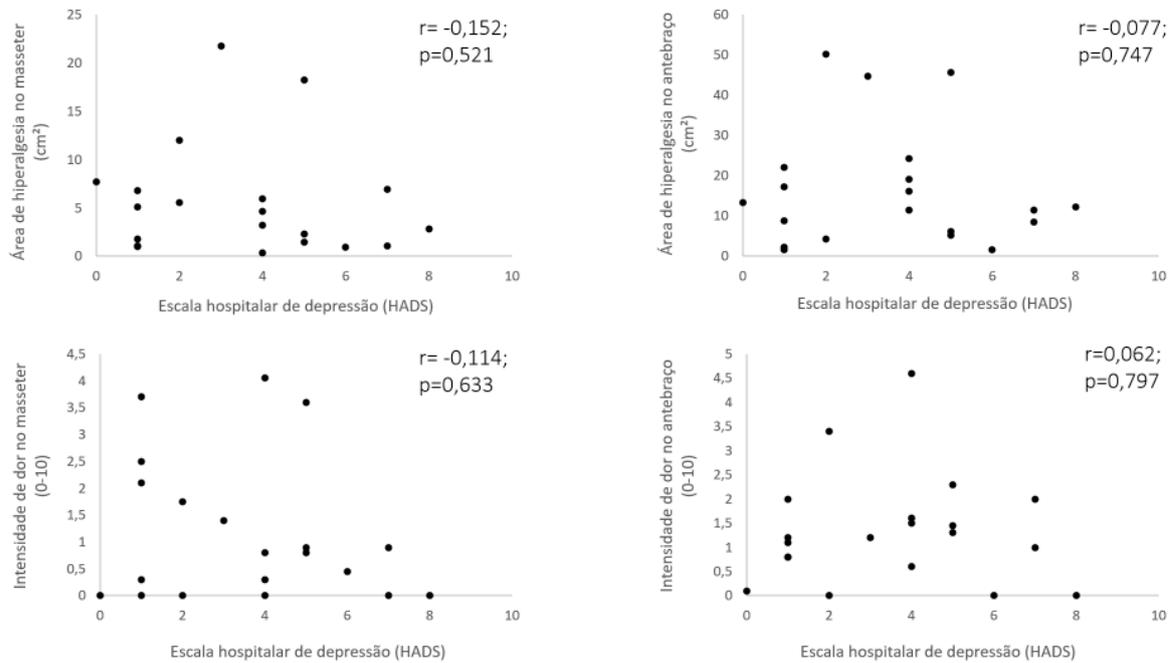


Figura 20. Correlação entre escala de depressão hospitalar (HADS) e área de hiperalgesia secundária após aplicação tópica de capsaicina, e entre HADS e intensidade média de dor durante aplicação tópica de capsaicina em homens. A e B correspondem à avaliação do masseter (sítio trigeminal); C e D referem-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).

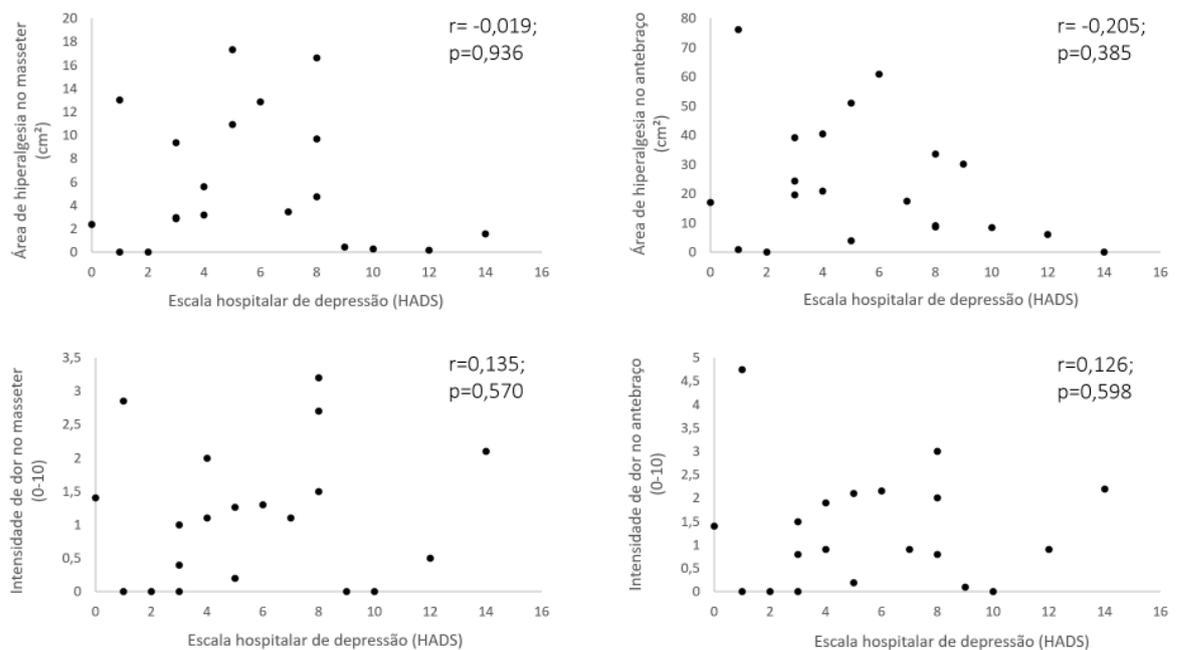


Figura 21. Correlação entre o Índice de Qualidade do Sono de Pittsburgh (PSQI) e a área de hiperalgesia secundária após a aplicação tópica de capsaicina, e entre o PSQI e a intensidade média da dor durante a aplicação tópica de capsaicina. A e B correspondem à avaliação do masseter (sítio trigeminal); C e D referem-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).

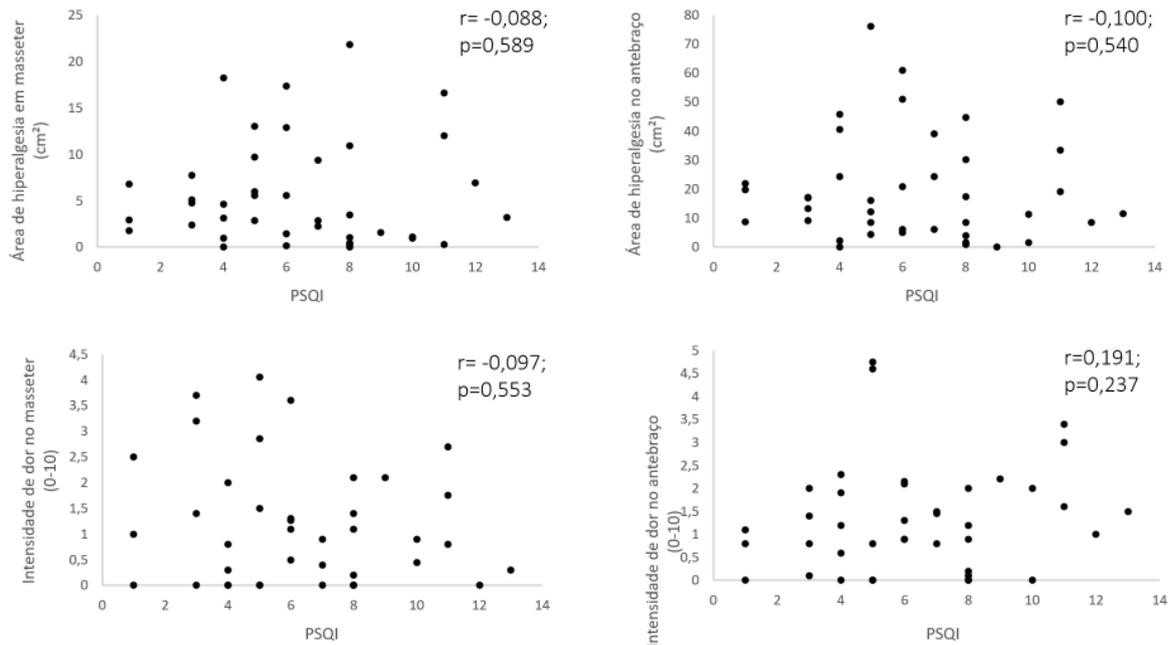


Figura 22. Correlação entre o Índice de Qualidade do Sono de Pittsburgh (PSQI) e a área de hiperalgesia secundária após a aplicação tópica de capsaicina, e entre o PSQI e a intensidade média da dor durante a aplicação tópica de capsaicina em mulheres. A e B correspondem à avaliação do masseter (sítio trigeminal); C e D referem-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).

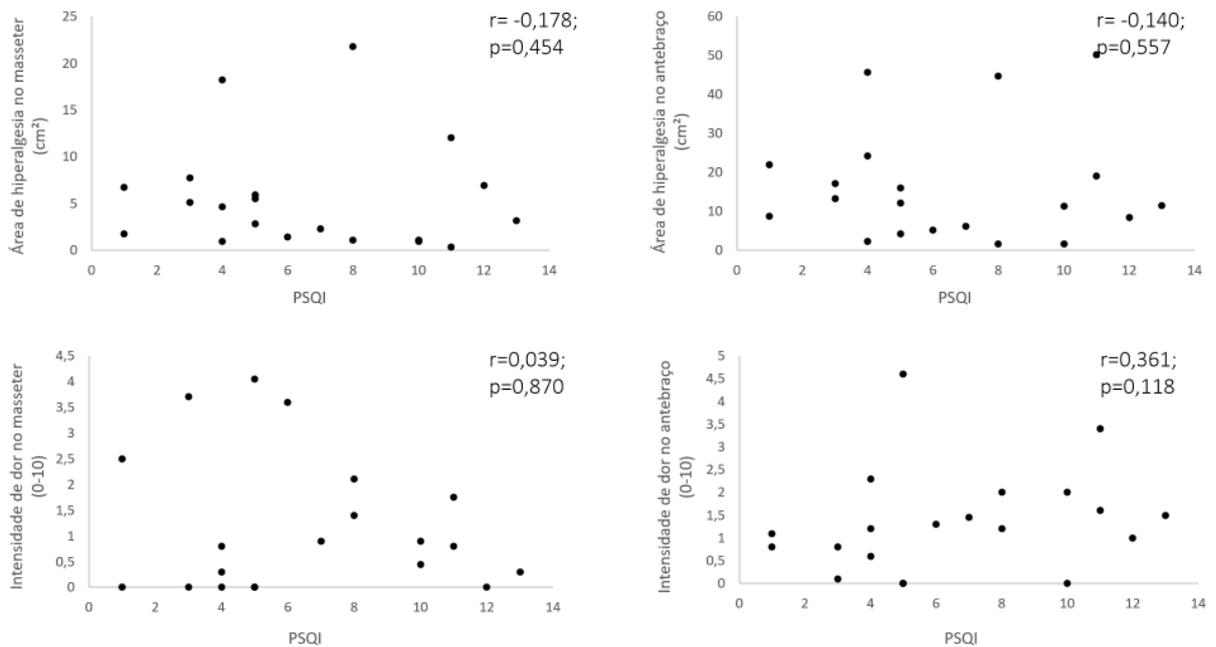


Figura 23. Correlação entre o Índice de Qualidade do Sono de Pittsburgh (PSQI) e a área de hiperalgesia secundária após a aplicação tópica de capsaicina, e entre o PSQI e a intensidade média da dor durante a aplicação tópica de capsaicina em homens. A e B correspondem à avaliação do masseter (sítio trigeminal); C e D referem-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).

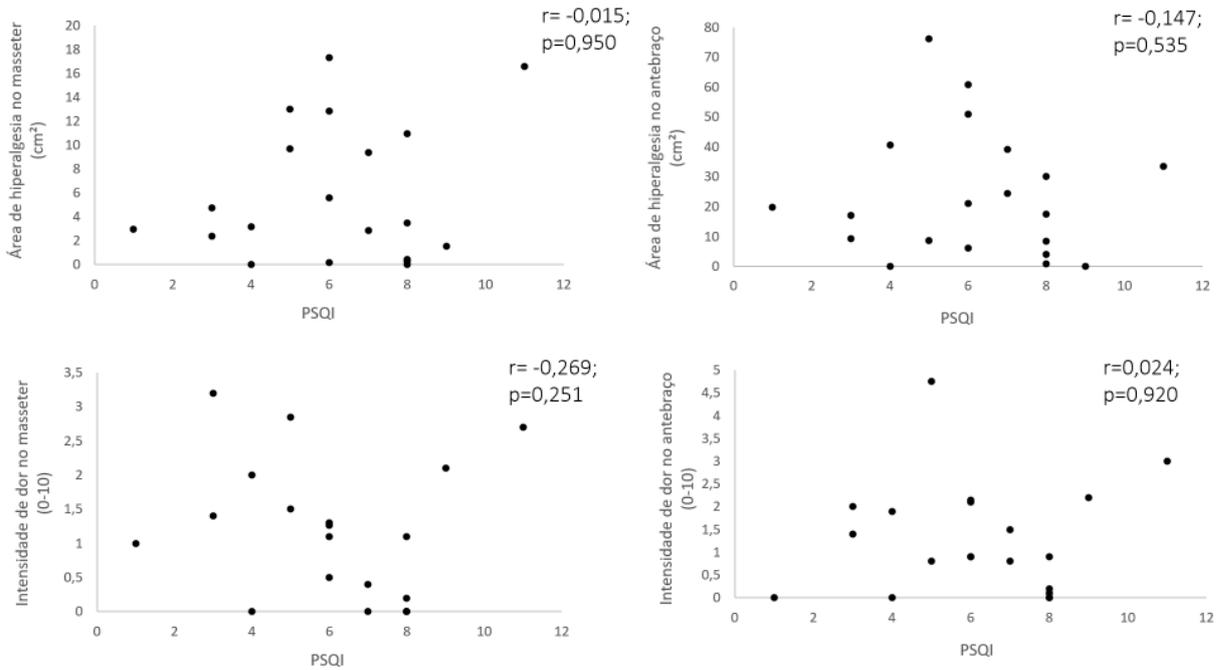


Figura 24. Correlação entre Escala de Catastrofização da Dor (PCS) e área de hiperalgesia secundária após aplicação tópica de capsaicina, e entre PCS e intensidade média de dor durante aplicação tópica de capsaicina. A e B correspondem à avaliação do masseter (sítio trigeminal); C e D referem-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).

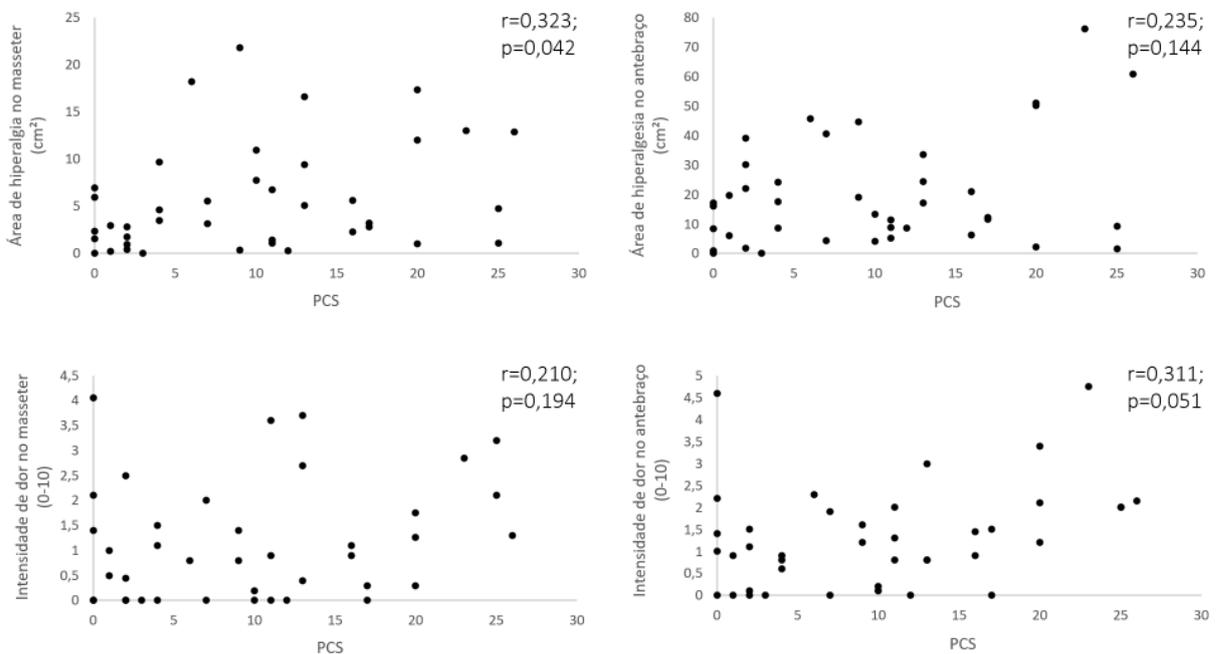


Figura 25. Correlação entre Escala de Catastrofização da Dor (PCS) e área de hiperalgesia secundária após aplicação tópica de capsaicina, e entre PCS e intensidade média de dor durante aplicação tópica de capsaicina em mulheres. A e B correspondem à avaliação do masseter (sítio trigeminal); C e D referem-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).

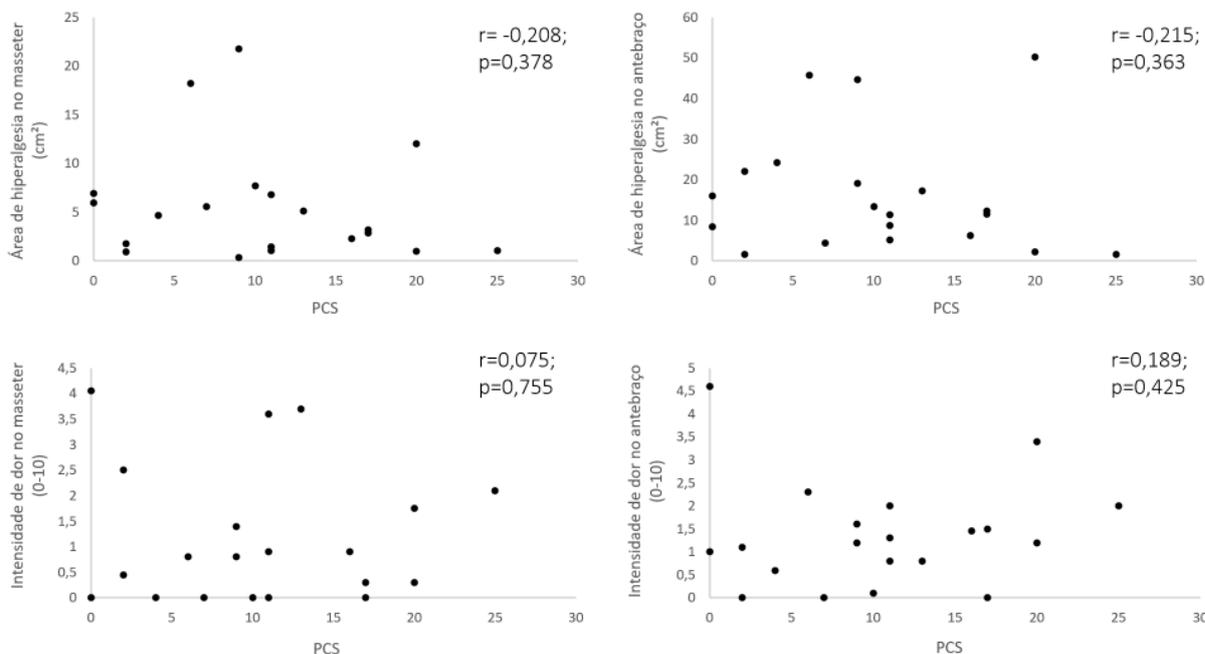


Figura 26. Correlação entre Escala de Catastrofização da Dor (PCS) e área de hiperalgesia secundária após aplicação tópica de capsaicina, e entre PCS e intensidade média de dor durante aplicação tópica de capsaicina em homens. A e B correspondem à avaliação do masseter (sítio trigeminal); C e D referem-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).

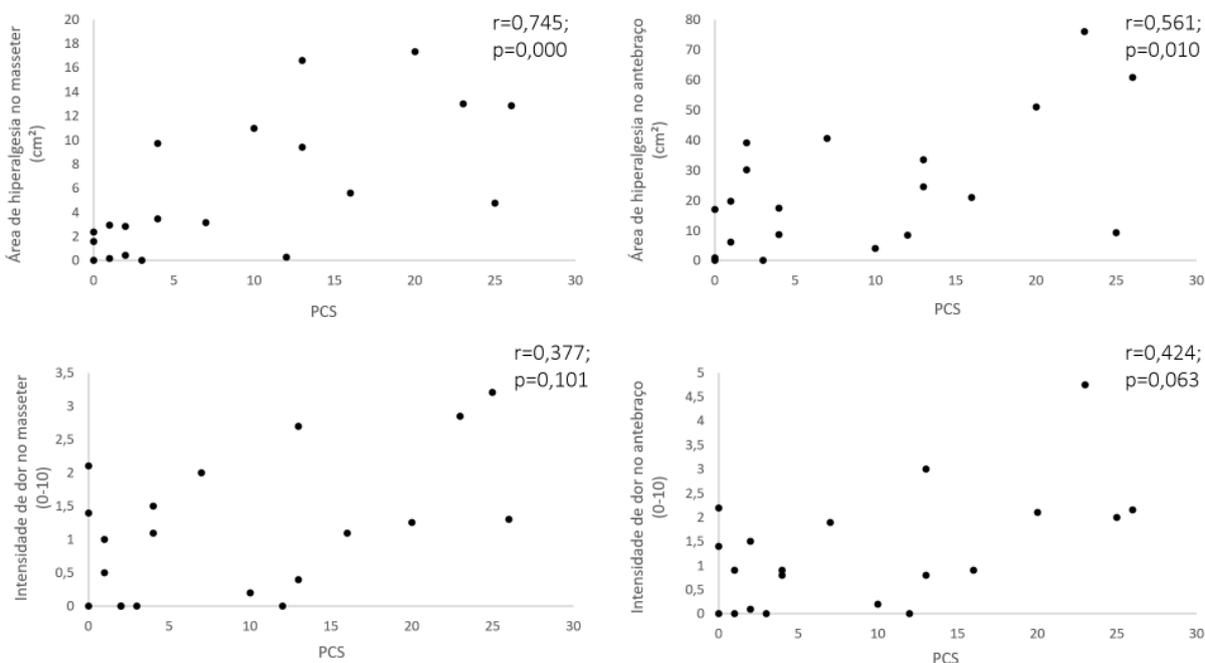


Figura 27. Correlação entre a Escala de Estresse Percebido (PSS) e área de hiperalgesia secundária após aplicação tópica de capsaicina, e entre PSS e intensidade média de dor durante aplicação tópica de capsaicina. A e B correspondem à avaliação do masseter (sítio trigeminal); C e D referem-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).

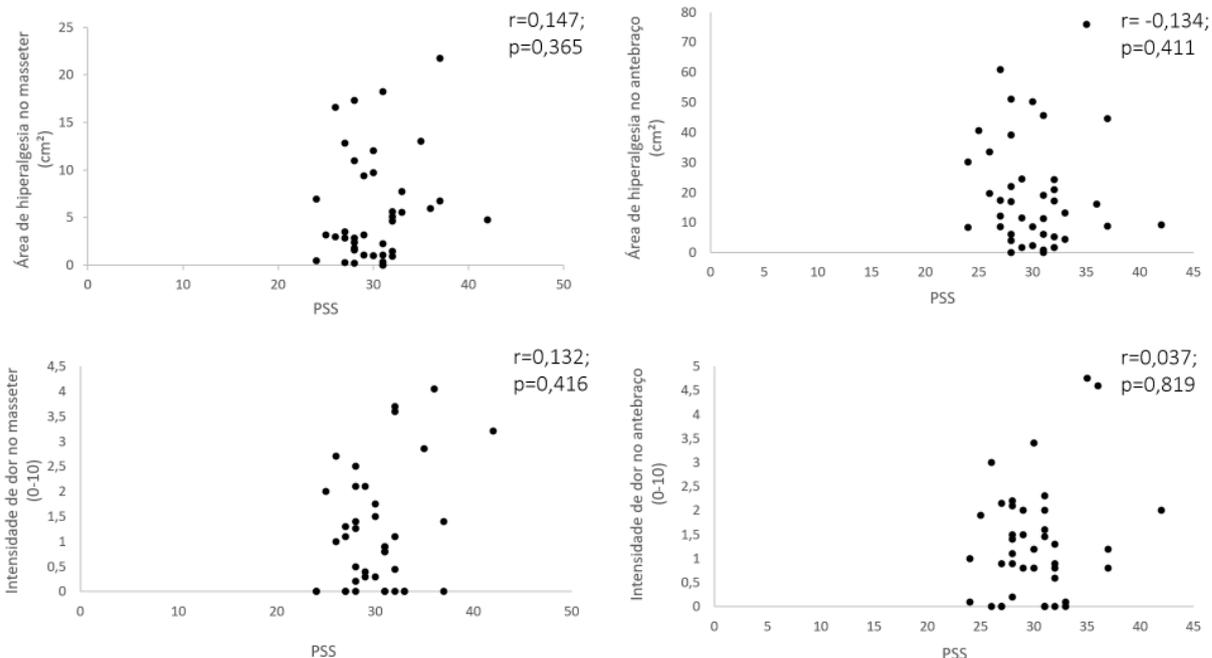


Figura 28. Correlação entre a Escala de Estresse Percebido (PSS) e área de hiperalgesia secundária após aplicação tópica de capsaicina, e entre PSS e intensidade média de dor durante aplicação tópica de capsaicina em mulheres. A e B correspondem à avaliação do masseter (sítio trigeminal); C e D referem-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).

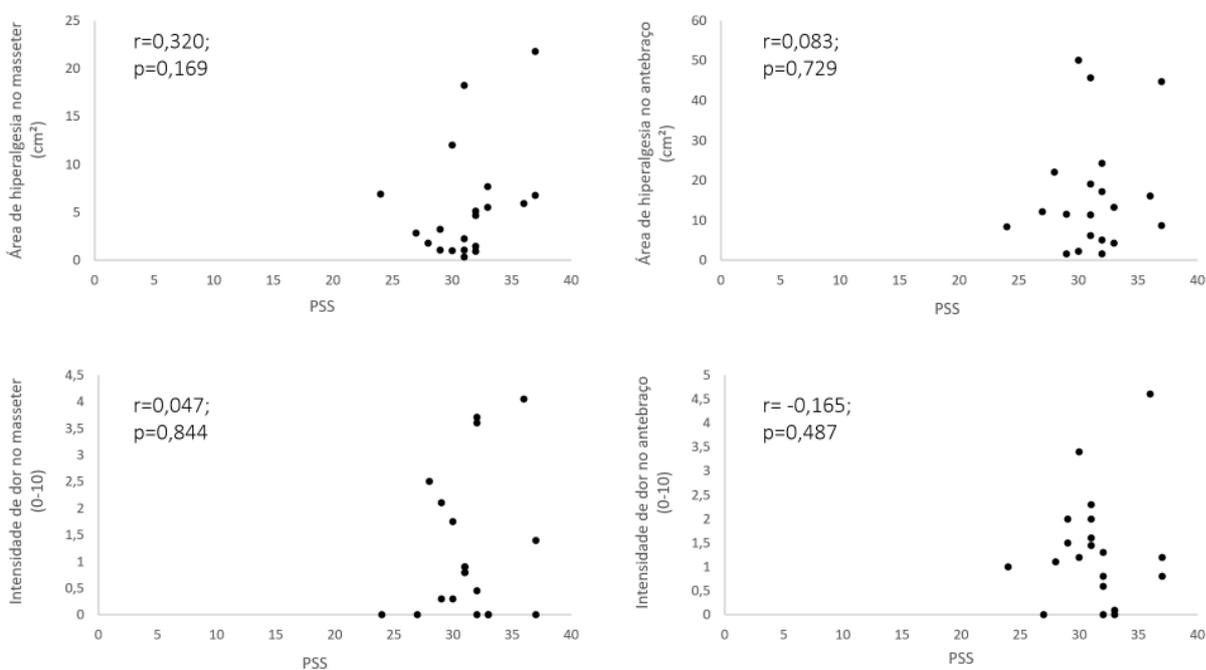
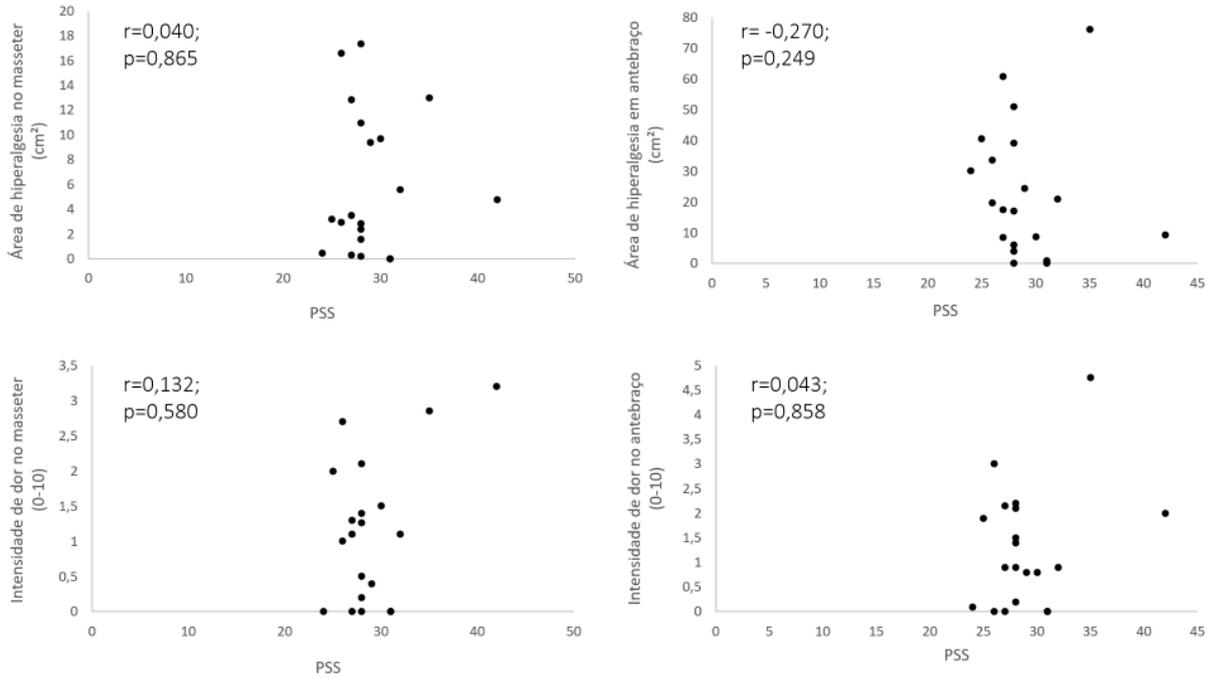


Figura 29. Correlação entre a Escala de Estresse Percebido (PSS) e área de hiperalgesia secundária após aplicação tópica de capsaicina, e entre PSS e intensidade média de dor durante aplicação tópica de capsaicina em homens. A e B correspondem à avaliação do masseter (sítio trigeminal); C e D referem-se à avaliação no antebraço (sítio espinal).



6 DISCUSSÃO

O objetivo deste estudo foi avaliar as possíveis diferenças somatossensoriais entre os sistemas trigeminal e espinal em resposta à capsaicina tópica. Os resultados indicaram uma grande divergência entre os sítios, sendo que, para a região do trigêmeo, a hiperalgesia secundária evocada foi menos expressiva, considerando as evidências robustas dos efeitos somatossensoriais desse modelo de dor quando aplicada na inervação espinal (Quesada et al., 2021). Dessa forma, o principal achado foi que a sensibilização central desenvolvida após aplicação de capsaicina tópica parece ser menos potente na região trigeminal, quando comparada com a região espinal.

Os achados que sustentam a hipótese de uma sensibilização central menos robusta na região trigeminal são as diferenças na incidência e extensão da alodinia e hiperalgesia à picada entre as áreas. Menos indivíduos desenvolveram áreas de alodinia após aplicação de capsaicina no masseter (25%), quando comparado com o antebraço (47,5%). Da mesma forma, a proporção de hiperalgesia à picada também diferiu entre as regiões e foi menor em masseter (67,5%), quando comparado com o antebraço (87,5%). Além disso, as áreas de alodinia e hiperalgesia à picada foram de 0,7 e 5,7 cm² para a região trigeminal, enquanto no sítio espinal, as mesmas áreas foram de 3,29 e 19,8 cm², ou seja, 4,7 e 3,4 vezes maiores.

O tamanho da área de aplicação da capsaicina e a subsequente hiperalgesia secundária variam muito entre os estudos, de acordo com uma recente revisão sistemática (Quesada et al., 2021). Assim, foi calculada a razão entre a área de hiperalgesia secundária e a área de aplicação da capsaicina e aplicada como medida comparativa entre os estudos, o chamado índice de amplificação espacial. O índice médio é de 17,6 para a capsaicina tópica, com um IC de 95% de 7-28 (Quesada et al., 2021). No presente estudo, o índice de amplificação espacial foi de 9,9 para o sítio espinal, concordando com estudos anteriores que utilizaram modelos de capsaicina tópica (Quesada et al., 2021). Por outro lado, a região trigeminal apresentou um índice de amplificação de apenas 2,8, o que indica efeitos apenas marginais de sensibilização da capsaicina tópica na inervação trigeminal.

Ainda, nossos resultados mostraram uma perda de função para certas modalidades somatossensoriais na região trigeminal, sugerindo que os mecanismos inibitórios parecem ser desencadeados em resposta aos estímulos nociceptivos periféricos da capsaicina tópica. Os dados que suportam essa afirmação são as mudanças no MPT e CPT 250 e 5 Hz. Para MPT, os valores foram maiores após a capsaicina apenas no masseter, indicando hipoalgesia por picada de agulha. Os valores do CPT 250 Hz, que supostamente avaliam a condução neuronal das fibras A- δ , também foram maiores no masseter após a aplicação da capsaicina, o que também sugere uma discreta perda da função somatossensorial. Da mesma forma, os valores do CPT 5 Hz, que supostamente medem a condução neuronal das fibras C, também mostraram limiares mais elevados no masseter e hipoestesia após a aplicação de capsaicina.

Foi demonstrado que a sensibilidade à dor mecânica é reduzida na área de hiperalgesia secundária após a aplicação tópica de capsaicina no antebraço (Magerl et al., 1998). No entanto, um estudo encontrou uma pequena, embora não significativa, redução nos valores de MDT e MPT (Enax-Krumova et al., 2017). Da mesma forma, não encontramos redução significativa dos valores de MPT no antebraço, e acreditamos que isso possa ser explicado pelos efeitos menos robustos da capsaicina tópica em comparação à capsaicina intradérmica. Por outro lado, os efeitos da capsaicina na região trigeminal foram inesperados. A sensibilidade à dor mecânica aumentou após a capsaicina, indicando hipoalgesia. Quando somados, a baixa incidência e a pequena extensão de alodinia e hiperalgesia à picada e a discreta perda da função somatossensorial na área da hiperalgesia secundária, sugere-se um predomínio de mecanismos inibitórios em resposta à capsaicina na região facial.

Dessa forma, são necessários mais estudos tanto para reproduzir esses achados quanto para explorar em detalhes os mecanismos que expliquem essas diferenças. Nossas hipóteses são que podem existir diferenças periféricas e/ou centrais que geram essas discrepâncias. Periféricamente, a espessura da pele e a densidade de receptores poderia influenciar na resposta à capsaicina. Por exemplo, existem evidências de que a espessura da pele poderia alterar a permeabilidade à capsaicina (Helme e McKernan, 1985). Além disso, foi encontrada diferença na

permeabilidade à cimetidina, uma droga relativamente hidrofílica, entre diferentes regiões (Tsai et al., 2012). A cimetidina foi 4x mais permeável na testa, em relação ao antebraço, e isso pode ser explicado pela diferença na quantidade de sebo entre as regiões (Tsai et al., 2012).

Uma outra hipótese de diferenças periféricas que poderiam justificar os nossos achados seria em relação à capacidade de resposta do TRPV1. Esse receptor, em contato com a capsaicina, pode ser sensibilizado e/ou dessensibilizado dependendo da intensidade e duração da estimulação, da localização do receptor e do período entre os estímulos (Dubner e Bennett, 1983). Neste estudo, utilizamos um modelo no qual todos esses aspectos foram controlados, sendo a região a única variável. Portanto, uma hipótese seria que o efeito da aplicação tópica de capsaicina a 1% por 45 min geraria dessensibilização na face e sensibilização no antebraço. Além disso, parecem existir diferentes isoformas de TRPV1, uma encontrada em todo o corpo e outra expressa apenas em neurônios que inervam a cabeça e a face (Julius, 2013). Ainda, a experiência de dor espontânea durante a capsaicina não diferiu entre as regiões, exceto para dor máxima, com valores maiores para o antebraço em comparação com o masseter. Apesar disso, acreditamos que fatores periféricos não explicariam totalmente as discrepâncias observadas, visto que as principais diferenças foram em relação à proporção e ao tamanho das áreas de hiperalgesia e alodinia, fenômenos tipicamente relacionados à sensibilização central (Baron et al., 2013).

Alodinia e hiperalgesia ocorrem por facilitação de fibras mielinizadas, A- β e A- δ , respectivamente. No entanto, é importante destacar que a facilitação e a inibição da dor são concomitantes e o resultado depende de uma proporção entre elas (Sugiyo et al., 2005). Assim, é plausível que o sistema trigeminal tenha um limiar aumentado para a facilitação da dor ou apresente uma modulação inibitória da dor mais eficiente, quando comparado com a inervação espinal. Apesar da modulação GABAérgica descendente parecer ser menos robusta nas vias do trigêmeo em comparação com as vias espinais (Aicher et al., 2012), o bloqueio da medula ventromedial rostral inibiu completamente a alodinia mecânica na testa, enquanto bloqueou apenas parcialmente e temporariamente a alodinia na pata traseira de ratos (Edelmayer et al., 2009). Além disso, há evidências clínicas de que a modulação da dor condicionada

parece ser menos potente na face (Levy et al., 2018). No entanto, tal achado não foi reproduzido e poderia ser explicado pela menor sensibilidade à dor e ao calor que foi encontrada na face em comparação com a região espinal, indicando que as vias trigeminal podem ter maior dificuldade na facilitação causada por estímulos periféricos (Levy et al., 2018). No geral, esses achados indicam que a modulação descendente não é uniforme entre as vias trigeminal e espinal.

Além disso, tem sido sugerido que o sistema trigeminal tem menor tendência a desenvolver dor neuropática pós-traumática (Hargreaves, 2011; Korczeniewska et al., 2020). Assim, nossos achados podem contribuir para explicar parcialmente por que algumas neuropatias pós-traumáticas são menos frequentes na face, considerando que o modelo da capsaicina é uma ferramenta experimental utilizada para investigar alguns dos mecanismos envolvidos no desenvolvimento da dor neuropática (Harding et al., 2001; Hoffmann and Matthews, 1990; Kogelman et al., 2018). Além disso, tais evidências podem contribuir para o melhor entendimento de diversas síndromes dolorosas e para o desenvolvimento de novos medicamentos e terapias específicas para dores orofaciais. Caso essas diferenças sejam confirmadas, a indicação do uso de tratamentos para dores orofaciais com base em evidências de terapias para dores que afetam a inervação espinal deve ser feita com cautela. No entanto, investigações adicionais são necessárias para reproduzir nossos achados e estabelecer as diferenças na sensibilização e modulação entre as regiões trigeminal e espinal.

A modulação da dor não foi associada à extensão da hiperalgesia à picada ou à intensidade da dor durante a aplicação de capsaicina. Aplicamos o paradigma comum de subtrair os estímulos dos testes condicionados dos incondicionados que não levam em conta os possíveis erros de medição e flutuações naturais, o que pode explicar em parte os resultados inconsistentes da associação entre a modulação da dor e outras variáveis da dor. De fato, investigações recentes recomendaram protocolos que permitem o cálculo de um “efeito líquido” para aumentar a consistência da avaliação da modulação da dor (Cummins et al., 2021; Hoegh et al., 2018). Por outro lado, encontramos uma correlação moderada entre a área de hiperalgesia secundária e a intensidade da dor no antebraço, o que sugere uma resposta mais robusta e clara à capsaicina nessa região.

Descobrimos que quanto maior o nível de catastrofização, maiores as áreas de hiperalgesia e a intensidade da dor. Esse achado coincide com um estudo anterior que descobriu que a catastrofização desempenha um papel importante no desenvolvimento de hiperalgesia secundária e dor induzida por capsaicina tópica (Pressman et al., 2017). Tais achados foram observados apenas em participantes do sexo masculino, provavelmente devido, pelo menos em parte, a uma maior heterogeneidade na extensão da hiperalgesia, o que permitiu a observação de uma correlação com esse tamanho de amostra. De fato, há evidências de que o sexo masculino pode apresentar maior variabilidade na avaliação psicofísica da função somatossensorial (Costa et al., 2019). Por fim, é importante ressaltar que os achados das correlações são secundários e, portanto, devem ser interpretados com cautela e dentro de um contexto exploratório e não confirmatório.

Uma das limitações do nosso estudo foi o uso exclusivo da capsaicina tópica, um modelo menos robusto no desenvolvimento de hiperalgesia e alodinia. No entanto, a área de hiperalgesia no antebraço desenvolveu-se como esperado (Quesada et al., 2021). A pequena proporção de desenvolvimento de alodinia também pode ser atribuída ao modelo de capsaicina utilizado. Entretanto, foi possível observar uma diferença relevante na proporção de desenvolvimento entre as áreas. Outras limitações foram a ausência de testes somatossensoriais adicionais, como limiares térmicos e a falta de delimitação da área do *flare*. Delimitar a área do *flare* seria importante para demarcar com mais exatidão a área da hiperalgesia secundária. No entanto, a extensão da área de hiperalgesia secundária no sítio espinal foi semelhante ao que seria esperado para essa região (Quesada et al., 2021). Além disso, a não delimitação dessa área possivelmente contribuiu para uma sobrestimativa da área de hiperalgesia secundária, em especial no masseter. Ou seja, é possível que estudos futuros que reproduzam essa metodologia encontrem diferenças tão ou mais robustas.

7 CONCLUSÃO

Nosso trabalho foi o primeiro a mostrar que as vias nociceptivas trigeminal e espinal apresentam diferenças significativas em resposta à capsaicina tópica. As principais diferenças encontradas foram a incidência de alodinia e hiperalgesia à picada, bem como o tamanho dessas áreas, fenômenos característicos da sensibilização central dependente de atividade nociceptiva. Dessa forma, o achado substancial deste estudo foi que esse tipo de sensibilização central parece ser menos potente na região trigeminal. Esses achados podem contribuir para direcionar e fomentar pesquisas sobre particularidades e especificidades dos mecanismos da dor orofacial e cefaleia e suas manifestações clínicas.

REFERÊNCIAS*¹

Aicher SA, Hermes SM, Whittier KL, Hegarty DM. Descending projections from the rostral ventromedial medulla (RVM) to trigeminal and spinal dorsal horns are morphologically and neurochemically distinct. *J Chem Neuroanat.* 2012;43(2):103–11. doi.org/10.1016/J.JCHEMNEU.2011.11.002.

Baron R, Hans G, Dickenson AH. Peripheral input and its importance for central sensitization. *Ann Neurol.* 2013;74(5):630–6. doi.org/10.1002/ana.24017.

Baron R, Maier C, Attal N, Binder A, Bouhassira Di, Cruccu G, et al. Peripheral neuropathic pain: A mechanism-related organizing principle based on sensory profiles. *Pain.* 2017;158(2):261–72. doi.org/10.1097/j.pain.0000000000000753.

Baumann TK, Simone DA, Shain CN, LaMotte RH. Neurogenic hyperalgesia: The search for the primary cutaneous afferent fibers that contribute to capsaicin-induced pain and hyperalgesia. *J Neurophysiol.* 1991;66(1):212–27. doi.org/10.1152/jn.1991.66.1.212.

Di Bernardi Luft C, de Oliveira Sanches S, Mazo GZ, Andrade A. Brazilian version of the Perceived Stress Scale: Translation and validation for the elderly. *Rev Saude Publica.* 2007;41(4):606–15. doi.org/10.1590/s0034-89102007000400015.

Bertolazi AN, Fagondes SC, Hoff LS, Dartora EG, da Silva Miozzo IC, de Barba MEF, et al. Validation of the Brazilian Portuguese version of the Pittsburgh Sleep Quality Index. *Sleep Med.* 2011;12(1):70–5. doi.org/10.1016/j.sleep.2010.04.020.

Bongenhielm U, Boissonade FM, Westermark A, Robinson PP, Fried K. Sympathetic nerve sprouting fails to occur in the trigeminal ganglion after peripheral nerve injury in the rat. *Pain.* 1999;82(3):283–8. doi.org/10.1016/S0304-3959(99)00064-0.

Botega NJ, Bio MR, Zomignani MA, Garcia Jr C, Pereira WAB. Transtornos do humor em enfermagem de clínica médica e validação de escala de medida (HAD) de ansiedade

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

e depressão. *Rev Saude Publica*. 1995;29(5):359–63. doi.org/10.1590/s0034-89101995000500004.

van den Broeke EN, Mouraux A, Groneberg AH, Pfau DB, Treede RD, Klein T. Characterizing pinprick-evoked brain potentials before and after experimentally induced secondary hyperalgesia. *J Neurophysiol*. 2015;114(5):2672–81. doi.org/10.1152/jn.00444.2015.

Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD, Julius D. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature*. 1997;389(6653):816–24. doi.org/10.1038/39807.

Conti PCR. *Disfunções Temporomandibulares e Dores Orofaciais: aplicação clínica das evidências científicas*. First. Maringá, Paraná, Brazil.: Dental Press Editora. 2021.

Costa YM, de Araújo-Júnior ENS, Fiedler LS, de Souza PRJ, Silva LLCP, Ferreira DMAO, et al. Reproducibility of quantitative sensory testing applied to musculoskeletal orofacial region: Site and sex differences. *Eur J Pain (United Kingdom)*. 2019;23(1):81–90. doi.org/10.1002/ejp.1287.

Cummins TM, McMahon SB, Bannister K. The impact of paradigm and stringent analysis parameters on measuring a net conditioned pain modulation effect: A test, retest, control study. *Eur J Pain*. 2021;25(2):415–29. doi.org/10.1002/EJP.1681.

D'amico-Martel A, Noden DM. Contributions of placodal and neural crest cells to avian cranial peripheral ganglia. *Am J Anat*. 1983;166(4):445–68. doi.org/10.1002/aja.1001660406.

Derry S, Rice ASC, Cole P, Tan T, Moore RA. Topical capsaicin (high concentration) for chronic neuropathic pain in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;2017(1). doi.org/10.1002/14651858.CD007393.pub4.

Dirks J, Petersen KL, Dahl JB. The heat/capsaicin sensitization model: A methodologic study. *J Pain*. 2003;4(3):122–8. doi.org/10.1054/jpai.2003.10.

Dubner R, Bennett GJ. Spinal and trigeminal mechanisms of nociception. *Annual review of neuroscience*. 1983; 6:381-418.

doi.org/10.1146/ANNUREV.NE.06.030183.002121

Edelmayer RM, Vanderah TW, Majuta L, En-Tan Z, Fioravanti B, De Felice M, et al. Medullary pain facilitating neurons mediate allodynia in Headache-Related pain. *Ann Neurol*. 2009;65(2):184–93. doi.org/10.1002/ana.21537.

Enax-Krumova EK, Pohl S, Westermann A, Maier C. Ipsilateral and contralateral sensory changes in healthy subjects after experimentally induced concomitant sensitization and hypoesthesia. *BMC Neurol*. 2017;17(1):60. doi.org/10.1186/s12883-017-0839-9.

Fein A. As células que sentem dor. *NOCICEPTORS Cells That Sense Pain*. 2011:106.

Fried K, Bongenhielm U, Boissonade FM, Robinson PP. Nerve injury-induced pain in the trigeminal system. *Neuroscientist*. 2001;7(2):155–65. doi.org/10.1177/107385840100700210.

Fuchs PN, Campbell JN, Meyer RA. Secondary hyperalgesia persists in capsaicin desensitized skin. *Pain*. 2000;84(2-3):141–9. [doi.org/10.1016/S0304-3959\(99\)00194-3](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(99)00194-3).

Gazerani P, Andersen OK, Arendt-Nielsen L. A human experimental capsaicin model for trigeminal sensitization. Gender-specific differences. *Pain*. 2005;118(1-2):155–63. doi.org/10.1016/j.pain.2005.08.009.

Gazerani P, Arendt-Nielsen L. The impact of ethnic differences in response to capsaicin-induced trigeminal sensitization. *Pain*. 2005;117(1-2):223–9. doi.org/10.1016/j.pain.2005.06.010.

Gazerani P, Pedersen NS, Staahl C, Drewes AM, Arendt-Nielsen L. Subcutaneous Botulinum toxin type A reduces capsaicin-induced trigeminal pain and vasomotor reactions in human skin. *Pain*. 2009;141(1-2):60–9. doi.org/10.1016/j.pain.2008.10.005.

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

doi.org/10.1016/j.pain.2006.04.014.

Harding LM, Murphy A, Kinnman E, Baranowski AP. Characterization of secondary hyperalgesia produced by topical capsaicin jelly - A new experimental tool for pain research. *Eur J Pain*. 2001;5(4):363–71. doi.org/10.1053/eujp.2001.0253.

Hargreaves KM. Orofacial pain. *Pain*. 2011;152(3):S25–32. doi.org/10.1016/j.pain.2010.12.024.

Helme RD, McKernan S. Neurogenic flare responses following topical application of capsaicin in humans. *Ann Neurol*. 1985;18(4):505–9. doi.org/10.1002/ana.410180414.

Hilgenberg-Sydney PB, Kowacs PA, Conti PCR. Somatosensory evaluation in Dysfunctional Syndrome patients. *J Oral Rehabil*. 2016;43(2):89–95. doi.org/10.1111/JOOR.12344.

Hoegh M, Petersen KK, Graven-Nielsen T. Effects of repeated conditioning pain modulation in healthy volunteers. *Eur J Pain*. 2018;22(10):1833–43. doi.org/10.1002/EJP.1279.

Hoffmann KD, Matthews MA. Comparison of sympathetic neurons in orofacial and upper extremity nerves: implications for causalgia. *J Oral Maxillofac Surg*. 1990;48(7):720–6. [doi.org/10.1016/0278-2391\(90\)90057-9](https://doi.org/10.1016/0278-2391(90)90057-9).

Hughes SW, Basra M, Chan C, Parr C, Wong F, Gomes S, et al. Capsaicin-Induced Changes in Electrical Pain Perception Threshold Can Be Used to Assess the Magnitude of Secondary Hyperalgesia in Humans. *Pain Med (United States)*. 2020;21(11):2830–8. doi.org/10.1093/PM/PNAA082.

Hughes SW, Zhao H, Auvinet EJ, Strutton PH. Attenuation of capsaicin-induced ongoing pain and secondary hyperalgesia during exposure to an immersive virtual reality environment. *Pain Reports*. 2019;4(6):1–8. doi.org/10.1097/PR9.0000000000000790.

Jancso LN, Jancso-Gabor A, Szolcsanyi J. Direct evidence for neurogenic inflammation and its prevention by denervation and by pretreatment with capsaicin. *Br. J. Pharmacol. Chemother*. 1967;31:138-51. doi.org/10.1111/j.1476-5381.1967.tb01984.x.

Julius D. TRP channels and pain. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2013;29:355–84. doi.org/10.1146/ANNUREV-CELLBIO-101011-155833.

Kilo S, Schmelz M, Koltzenburg M, Handwerker HO. Different patterns of hyperalgesia induced by experimental inflammation in human skin. *Brain.* 1994;117(2):385–96. doi.org/10.1093/brain/117.2.385.

Kim HY, Wang J, Lee I, Kim HK, Chung K, Chung JM. Electroacupuncture suppresses capsaicin-induced secondary hyperalgesia through an endogenous spinal opioid mechanism. *Pain.* 2009;145(3):332–40. doi.org/10.1016/j.pain.2009.06.035.

Kogelman LJA, Elgaard-Christensen R, Olesen J, Jansen-Olesen I, Hansen TF. Transcriptomic profiling of trigeminal nucleus caudalis and spinal cord dorsal horn. *Brain Res.* 2018;1692:23–33. doi.org/10.1016/J.BRAINRES.2018.04.037.

Korczeniewska OA, Katzmann Rider G, Gajra S, Narra V, Ramavajla V, Chang YJ, et al. Differential gene expression changes in the dorsal root versus trigeminal ganglia following peripheral nerve injury in rats. *Eur J Pain.* 2020;24(5):967–82. doi.org/10.1002/EJP.1546.

Lam DK, Sessle BJ, Hu JW. Glutamate and capsaicin effects on trigeminal nociception II: Activation and central sensitization in brainstem neurons with deep craniofacial afferent input. *Brain Res.* 2009;1253:48–59. doi.org/10.1016/j.brainres.2008.11.056.

LaMotte RH, Shain CN, Simone DA, Tsai EFP. Neurogenic hyperalgesia: Psychophysical studies of underlying mechanisms. *J Neurophysiol.* 1991;66(1):190–211. doi.org/10.1152/jn.1991.66.1.190.

Levy D, Abdian L, Dekel-Steinkeller M, Defrin R. Experimental evidence for weaker endogenous inhibition of trigeminal pain than extra-trigeminal pain in healthy individuals. *Cephalalgia.* 2018;38(7):1307–15. doi.org/10.1177/0333102417735851.

Liu M, Max MB, Robinovitz E, Gracely RH, Bennett GJ. The human capsaicin model of allodynia and hyperalgesia: Sources of variability and methods for reduction. *J Pain Symptom Manage.* 1998;16(1):10–20. doi.org/10.1016/S0885-3924(98)00026-8.

Lopes DM, Denk F, McMahon SB. The Molecular Fingerprint of Dorsal Root and

Trigeminal Ganglion Neurons. *Front Mol Neurosci.* 2017(10). doi.org/10.3389/FNMOL.2017.00304.

Lötsch J, Oertel BG, Ultsch A. Human models of pain for the prediction of clinical analgesia. *Pain.* 2014;155(10):2014–21. doi.org/10.1016/j.pain.2014.07.003.

Luo Y, Suttle A, Zhang Q, Wang P, Chen Y. Transient Receptor Potential (TRP) Ion Channels in Orofacial Pain. *Mol Neurobiol.* 2021;58(6):2836–50. doi.org/10.1007/S12035-021-02284-2.

Magerl W, Fuchs PN, Meyer RA, Treede RD. Roles of capsaicin-insensitive nociceptors in cutaneous pain and secondary hyperalgesia. *Brain.* 2001;124(9):1754–64. doi.org/10.1093/brain/124.9.1754.

Magerl W, Treede RD. Secondary tactile hypoesthesia: A novel type of pain-induced somatosensory plasticity in human subjects. *Neurosci Lett.* 2004;361(1-3):136–9. doi.org/10.1016/j.neulet.2003.12.001.

Magerl W, Wilk SH, Treede RD. Secondary hyperalgesia and perceptual wind-up following intradermal injection of capsaicin in humans. *Pain.* 1998;74(2-3):257–68. doi.org/10.1016/S0304-3959(97)00177-2.

Mainero C, Zhang WT, Kumar A, Rosen BR, Sorensen AG. Mapping the spinal and supraspinal pathways of dynamic mechanical allodynia in the human trigeminal system using cardiac-gated fMRI. *Neuroimage.* 2007;35(3):1201–10. doi.org/10.1016/J.NEUROIMAGE.2007.01.024.

Maracle EC, Hung LY, Fell SI, Osmond MR, Brown SHM, Srbely JZ. A Comparison of the Sensitivity of Brush Allodynia and Semmes–Weinstein Monofilament Testing in the Detection of Allodynia Within Regions of Secondary Hyperalgesia in Humans. *Pain Pract.* 2017;17(1):16–24. doi.org/10.1111/papr.12418.

McMahon and MK. Wall and Melzack's Textbook of Pain. Sixth Edit. Elsevier Ltd; 2006. doi.org/10.1016/B978-0-7020-4059-7.00006-1.

Megat S, Ray PR, Tavares-Ferreira D, Moy JK, Sankaranarayanan I, Wangzhou A, et al. Differences between Dorsal Root and Trigeminal Ganglion Nociceptors in Mice

Revealed by Translational Profiling. *J Neurosci.* 2019;39(35):6829–47. doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2663-18.2019.

Mohammadian P, Andersen OK, Arendt-Nielsen L. Correlation between local vascular and sensory changes following tissue inflammation induced by repetitive application of topical capsaicin. *Brain Res.* 1998;792(1):1–9. doi.org/10.1016/S0006-8993(97)01478-9.

Moulton EA, Pendse G, Morris S, Strassman A, Aiello-Lammens M, Becerra L, et al. Capsaicin-induced thermal hyperalgesia and sensitization in the human trigeminal nociceptive pathway: An fMRI study. *Neuroimage.* 2007;35(4):1586–600. doi.org/10.1016/j.neuroimage.2007.02.001.

Neurotron I. Professional Feasibility Report: Neurometer® Electrodiagnostic Evaluation in Neurology. 2010.

Pressman AJ, Peterlin BL, Tompkins DA, Salas RE, Buenaver LF, Haythornthwaite JA, et al. Pain catastrophizing may moderate the association between pain and secondary hyperalgesia. *J Appl Biobehav Res.* 2017;22(1):1–10. doi.org/10.1111/jabr.12096.

Price TJ, Flores CM. Critical evaluation of the colocalization between calcitonin gene-related peptide, substance P, transient receptor potential vanilloid subfamily type 1 immunoreactivities, and isolectin B4 binding in primary afferent neurons of the rat and mouse. *J Pain.* 2007;8(3):263–72. doi.org/10.1016/J.JPAIN.2006.09.005.

Quartu M, Serra MP, Boi M, Poddighe L, Picci C, Demontis R, et al. TRPV1 receptor in the human trigeminal ganglion and spinal nucleus: immunohistochemical localization and comparison with the neuropeptides CGRP and SP. *J Anat.* 2016;229(6):755–67. doi.org/10.1111/JOA.12529.

Quesada C, Kostenko A, Ho I, Leone C, Nochi Z, Stouffs A, et al. Human surrogate models of central sensitization: A critical review and practical guide. *Eur J Pain (United Kingdom).* 2021;25(7):1389–428. doi.org/10.1002/ejp.1768.

Rodriguez E, Sakurai K, Xu J, Chen Y, Toda K, Zhao S, et al. A craniofacial-specific monosynaptic circuit enables heightened affective pain. *Nat Neurosci.*

2017;20(12):1734–43. doi.org/10.1038/S41593-017-0012-1.

Rolke R, Baron R, Maier C, Tölle TR, Treede RD, Beyer A, et al. Quantitative sensory testing in the German Research Network on Neuropathic Pain (DFNS): Standardized protocol and reference values. *Pain*. 2006;123(3):231–43. doi.org/10.1016/j.pain.2006.01.041.

Rukwied R, Watkinson A, McGlone F, Dvorak M. Cannabinoid agonists attenuate capsaicin-induced responses in human skin. *Pain*. 2003;102(3):283–8. doi.org/10.1016/S0304-3959(02)00401-3.

Sambo CF, Liang M, Cruccu G, Iannetti GD. Defensive peripersonal space: the blink reflex evoked by hand stimulation is increased when the hand is near the face. *J Neurophysiol*. 2012;107(3):880–9. doi.org/10.1152/JN.00731.2011.

Sardá Junior J, Nicholas M, IA P, Pimenta C, Asghari A, Cruz R. Validação da Escala de Pensamentos Catastróficos sobre Dor. *Acta Fisiátrica*. 2008;15(1):31–6.

Schmidt K, Forkmann K, Sinke C, Gratz M, Bitz A, Bingel U. The differential effect of trigeminal vs. peripheral pain stimulation on visual processing and memory encoding is influenced by pain-related fear. *Neuroimage*. 2016;134:386–95. doi.org/10.1016/J.NEUROIMAGE.2016.03.026.

Serra J, Campero M, Bostock H, Ochoa J. Two types of C nociceptors in human skin and their behavior in areas of capsaicin-induced secondary hyperalgesia. *J Neurophysiol*. 2004;91(6):2770–81. doi.org/10.1152/jn.00565.2003.

Sessle BJ. Acute and chronic craniofacial pain: brainstem mechanisms of nociceptive transmission and neuroplasticity, and their clinical correlates. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2000;11(1):57–91.

Shabes P, C Rosenberger D, Henrich F, Greffrath W, Treede RD, Baumgärtner U, et al. Modality-specific facilitation of noninjurious sharp mechanical pain by topical capsaicin. 2021; 162(1):275-86. doi.org/10.1097/j.pain.0000000000002020.

Simone DA, Sorkin LS, Oh U, Chung JM, Owens C, LaMotte RH, et al. Neurogenic hyperalgesia: Central neural correlates in responses of spinothalamic tract neurons. *J*

Neurophysiol. 1991;66(1):228–46. doi.org/10.1152/jn.1991.66.1.228.

Srbely JZ, Dickey JP, Bent LR, Lee D, Lowerison M. Capsaicin-Induced Central Sensitization Evokes Segmental Increases in Trigger Point Sensitivity in Humans. *J Pain*. 2010;11(7):636–43. doi.org/10.1016/j.jpain.2009.10.005.

Sugiyo S, Takemura M, Dubner R, Ren K. Trigeminal transition zone/rostral ventromedial medulla connections and facilitation of orofacial hyperalgesia after masseter inflammation in rats. *J Comp Neurol*. 2005;493(4):510–23. doi.org/10.1002/cne.20797.

SYDNEY PBH. Avaliação somatossensorial do Sistema Trigeminal em condições dolorosas crônicas: Testes Quantitativos Sensoriais e Limiar de Percepção Atual. Universidade de São Paulo. 2013.

Tal M, Devor M. Ectopic discharge in injured nerves: comparison of trigeminal and somatic afferents. *Brain Res*. 1992;579(1):148–51. doi.org/10.1016/0006-8993(92)90753-V.

Torebjörk HE, Lundberg LE, LaMotte RH. Central changes in processing of mechanoreceptive input in capsaicin-induced secondary hyperalgesia in humans. *J Physiol*. 1992;448(1):765–80. doi.org/10.1113/jphysiol.1992.sp019069.

Treede RD, Magerl W. Multiple mechanisms of secondary hyperalgesia. *Prog Brain Res*. 2000;129:331–41. doi.org/10.1016/S0079-6123(00)29025-0.

Treede RD, Meyer RA, Raja SN, Campbell JN. Peripheral and central mechanisms of cutaneous hyperalgesia. *Prog Neurobiol*. 1992;38(4):397–421. doi.org/10.1016/0301-0082(92)90027-C.

Tsai JC, Lu CC, Lin MK, Guo JW, Sheu HM. Effects of sebum on drug transport across the human stratum corneum in vivo. *Skin Pharmacol Physiol*. 2012;25(3):124–32. doi.org/10.1159/000336245.

Valeriani M, Tinazzi M, Le Pera D, Restuccia D, De Armas L, Maiese T, et al. Inhibitory effect of capsaicin evoked trigeminal pain on warmth sensation and warmth evoked potentials. *Exp Brain Res*. 2005;160(1):29–37. doi.org/10.1007/s00221-004-1983-1.

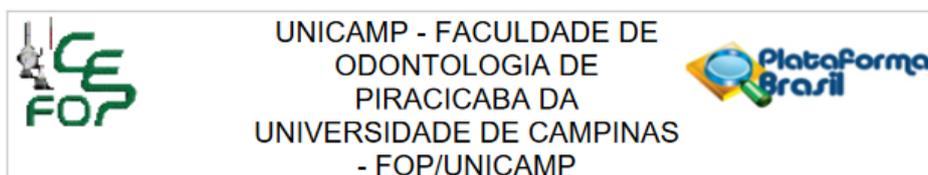
Yarnitsky D, Granot M, Nahman-Averbuch H, Khamaisi M, Granovsky Y. Conditioned pain modulation predicts duloxetine efficacy in painful diabetic neuropathy. *Pain*. 2012;153(6):1193–8. doi.org/10.1016/j.pain.2012.02.021.

Zheng Z, Gibson SJ, Helme RD, McMeeken JM. The effect of local anaesthetic on age-related capsaicin-induced mechanical hyperalgesia - A randomised, controlled study. *Pain*. 2009;144(1-2):101–9. doi.org/10.1016/j.pain.2009.03.021.

ANEXO 1 – Relatório de Similaridade

Dissertação Mestrado			
RELATÓRIO DE ORIGINALIDADE			
20%	19%	16%	%
ÍNDICE DE SEMELHANÇA	FONTES DA INTERNET	PUBLICAÇÕES	DOCUMENTOS DOS ALUNOS
FONTES PRIMÁRIAS			
1	repositorio.unicamp.br Fonte da Internet		1%
2	hdl.handle.net Fonte da Internet		1%
3	www.teses.usp.br Fonte da Internet		1%
4	teses.usp.br Fonte da Internet		1%
5	vbn.aau.dk Fonte da Internet		1%
6	ouci.dntb.gov.ua Fonte da Internet		1%
7	repositorio.ufsc.br Fonte da Internet		1%
8	link.springer.com Fonte da Internet		<1%
9	chdr.nl Fonte da Internet		<1%

ANEXO 2 – Documento de aprovação no CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

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

Pesquisador: ISABELA COELHO NOVAES

Área Temática:

Versão: 6

CAAE: 42779821.0.0000.5418

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia de Piracicaba - Unicamp

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.752.308

Apresentação do Projeto:

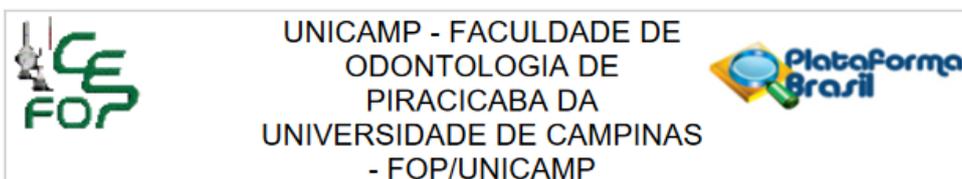
O parecer inicial é elaborado com base na transcrição editada do conteúdo do registro do protocolo na Plataforma Brasil e dos arquivos anexados à Plataforma Brasil. Os pareceres de retorno, emendas e notificações são elaborados a partir dos dados e arquivos da última versão apresentada.

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

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

DELINEAMENTO DA PESQUISA: Trata-se de estudo clínico cruzado, transversal, que envolverá 40

Endereço: Av. Limeira 901 Caixa Postal 52
Bairro: Areião **CEP:** 13.414-903
UF: SP **Município:** PIRACICABA
Telefone: (19)2106-5349 **Fax:** (19)2106-5349 **E-mail:** cep@fop.unicamp.br



Continuação do Parecer: 5.752.308

Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_EmendaAoProtocolo.pdf	19:43:29	NOVAES	Aceito
Outros	SolicitacaoEmendaAoProtocolo.pdf	14/09/2021 14:52:08	ISABELA COELHO NOVAES	Aceito
Outros	Texto_para_divulgacao.pdf	24/02/2021 23:08:05	ISABELA COELHO NOVAES	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_Instituicao.pdf	03/02/2021 16:26:23	ISABELA COELHO NOVAES	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	03/02/2021 16:25:40	ISABELA COELHO NOVAES	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Uso_de Equipamento_e_infraestrutura_LS.pdf	03/02/2021 16:18:10	ISABELA COELHO NOVAES	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PIRACICABA, 10 de Novembro de 2022

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

Endereço: Av. Limeira 901 Caixa Postal 52
Bairro: Areião **CEP:** 13.414-903
UF: SP **Município:** PIRACICABA
Telefone: (19)2106-5349 **Fax:** (19)2106-5349 **E-mail:** cep@fop.unicamp.br