

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

Camila dos Santos Ritter

**PARTICIPAÇÃO DO RECEPTOR TRPA1 NA NOCICEPÇÃO
OBSERVADA EM UM MODELO DE ESCLEROSE MÚLTIPLA
PROGRESSIVA EM CAMUNDONGOS**

Santa Maria, RS
2020

Camila dos Santos Ritter

**PARTICIPAÇÃO DO RECEPTOR TRPA1 NA NOCICEPÇÃO OBSERVADA EM
UM MODELO DE ESCLEROSE MÚLTIPLA PROGRESSIVA EM CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Área de Concentração em Neuropsicofarmacologia e Imunofarmacologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau **Mestre em Farmacologia**.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Gabriela Trevisan dos Santos

Santa Maria, RS
2020

Ritter, Camila dos Santos
PARTICIPAÇÃO DO RECEPTOR TRPA1 NA NOCICEPÇÃO
OBSERVADA EM UM MODELO DE ESCLEROSE MÚLTIPLA PROGRESSIVA
EM CAMUNDONGOS / Camila dos Santos Ritter.- 2020.
117 p.; 30 cm

Orientadora: Gabriela Trevisan dos Santos
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós
Graduação em Farmacologia, RS, 2020

1. Dor neuropática central 2. 4-HNE 3. NADPH oxidase
4. EAE I. Trevisan dos Santos, Gabriela II. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

©2020

Todos os direitos autorais reservados a Camila dos Santos Ritter. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

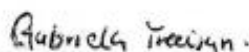
E-mail: biomedicacamilaritter@gmail.com

Camila dos Santos Ritter

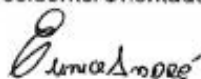
**PARTICIPAÇÃO DO RECEPTOR TRPA1 NA NOCICEPÇÃO OBSERVADA
EM UM MODELO DE ESCLEROSE MÚLTIPLA PROGRESSIVA EM
CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Área de Concentração em Neuro-psicofarmacologia e Imunofarmacologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau **Mestre em Farmacologia**.


Aprovado em 25 de março de 2020:



Gabriela Trevisan dos Santos, Dra. (UFSM)
(Presidente/Orientadora)



Eunice Andre, Dra. (UFPR)



Mauro Schneider Oliveira, Dr. (UFSM)

Santa Maria, RS
2020

*Ao meu porto seguro...
Meus pais, Vilmar Camilo e Alzira, e aos meus irmãos Fábio Henrique e João Vitor,
por todo amor, apoio, dedicação e força que me deram durante essa jornada.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a conclusão desta dissertação. De uma forma especial, agradeço:

À minha família por todo apoio e amor que me dedicam.

À minha orientadora Prof^a Dr^a. Gabriela Trevisan dos Santos, pela oportunidade de poder fazer parte do seu grupo de pesquisa, pela confiança, disponibilidade, empenho, e conhecimentos compartilhados nestes dois anos de convivência.

Ao Marco Antônio F. Echeverria, por ser meu namorado, companheiro e amigo em uma pessoa só, por estar sempre ao meu lado me incentivando em todas as horas.

Aos meus amigos/irmãos que a Biomedicina nos apresentou, Gerson F. de Brum, Brenda Moreira dos Santos e Cristiane Antunes Teixeira, por sempre estarem presentes em todos os momentos e sempre me incentivarem a nunca desistir.

Às amigas que o mestrado me deu, Amanda Spring de Almeida, Gabriele Cheiran Pereira e Jocelene Filippin Cossetin, pela partilha de conhecimentos, companheirismo e pelos momentos felizes que vivemos nessa jornada.

Aos colegas e parceiros do NeuronLAB, por me abrirem as portas do grupo, pela ajuda nos experimentos, e conhecimentos que foram importantes para o desenvolvimento desse trabalho.

À Universidade Federal de Santa Maria e ao PPG de Farmacologia pela oportunidade de poder fazer parte de uma pós-graduação.

À CAPES, pela bolsa de estudos concedida.

Muito obrigada!

RESUMO

PARTICIPAÇÃO DO RECEPTOR TRPA1 NA NOCICEPÇÃO OBSERVADA EM UM MODELO DE ESCLEROSE MÚLTIPLA PROGRESSIVA EM CAMUNDONGOS

AUTOR: Camila dos Santos Ritter

ORIENTADOR: Prof^a Dr^a. Gabriela Trevisan dos Santos

A dor neuropática central (DNC) é um sintoma comum na esclerose múltipla progressiva (EMP) e e por ainda ser de difícil tratamento está associada a baixa qualidade de vida dos pacientes. O processo da neuroinflamação e disfunção mitocondrial nas lesões de EMP geram espécies reativas. O receptor de potencial transitório anquirina 1 (TRPA1) é identificado como um dos principais mecanismos que contribuem para a sinalização da dor neuropática e pode ser ativado por produtos do estresse oxidativo. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o papel do receptor TRPA1 na medula espinhal em um modelo de EMP em camundongos. Camundongos fêmeas C57BL/6 (20-30g) foram utilizados e o modelo EMP foi induzido pela encefalomielite autoimune experimental (EAE) usando o antígeno MOG₃₅₋₅₅ e ACF (adjuvante completo de Freund). Os camundongos desenvolveram escore clínico progressivo, com comprometimento motor observado após 15 dias de indução. Este modelo induziu alodínia mecânica e ao frio e hiperalgesia ao calor que foram medidas até 14 dias após a indução. A hipersensibilidade observada foi reduzida pela administração de antagonistas seletivos do TRPA1 (HC-030031 e A967079, via intratecal e intragástrica), antioxidantes (ácido α -lipóico e apocinina, via intratecal e intragástrica) e oligonucleotídeo antisentido do TRPA1 (via intratecal). Também foi observado um aumento nos níveis de mRNA do TRPA1, atividade de NADPH oxidase e níveis de 4-hidroxinonenal (um agonista de TRPA1) em amostra da medula espinhal de animais induzidos por EMP. Em conclusão, esses resultados corroboram a hipótese do envolvimento do receptor TRPA1 na nocicepção observada em um modelo de EMP em camundongos.

PALAVRAS-CHAVE: Dor neuropática central. 4-HNE. NADPH oxidase. EAE. apocinina. Ácido α -lipóico.

ABSTRACT

PARTICIPATION OF THE TRPA1 RECEPTOR IN THE NOCICEPTION OBSERVED IN A PROGRESSIVE MULTIPLE SCLEROSIS MODEL IN MICE

AUTHOR: Camila dos Santos Ritter

ADVISOR: Prof^a Dr^a. Gabriela Trevisan dos Santos

Central neuropathic pain (CNP) is a common untreated symptom in progressive multiple sclerosis (PMS) and is associated with poor quality of life and interference with patients' daily activities. The neuroinflammation process and mitochondrial dysfunction in the PPMS lesions generate reactive species. The transient potential receptor ankyrin 1 (TRPA1) has been identified as one of the major mechanisms that contribute to neuropathic pain signaling and can be activated by products of oxidative stress. Thus, the goal of our study was to evaluate the role of spinal cord TRPA1 in a PPMS mice model. C57BL/6 female mice (20-30g) were used and the PMS model was induced by the experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) using MOG35-55 antigen and CFA (complete Freund's adjuvant). Mice developed progressive clinical score, with motor impairment observed after 15 days of induction. This model induced progressive mechanical and cold allodynia, and heat hyperalgesia which were measured up to 14 days after induction. The hypersensitivity observed was reduced by the administration of selective TRPA1 antagonists (HC-030031 and A967079, via intrathecal and intragastric), antioxidants (α -lipoic acid and apocynin, via intrathecal and intragastric), and TRPA1 antisense oligonucleotide (via intrathecal). We also observed an increase in TRPA1 mRNA levels, NADPH oxidase activity, and 4-hydroxynonenal (a TRPA1 agonist) levels in spinal cord sample of PMS-induced animals. In conclusion, these results support the hypothesis of the TRPA1 receptor involvement in nociception observed in a PMS model in mice.

KEYWORDS: Central neuropathic pain. 4-HNE. NADPH oxidase. EAE. Apocynin. α -lipoic acid.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

REFERENCIAL TEÓRICO

- Figura 1.** Representação da via de transmissão do estímulo nociceptivo, que é transformado em um potencial de ação e conduzido até o SNC.....20
- Figura 2.** Representação da estrutura das diferentes famílias de receptores TRP...24

MANUSCRITO

- Figure 1.** The induction of a PMS-EAE model in mice led to clinical signs of disease, locomotor and plantar grip strength changes. 49
- Figure 2.** A PMS-EAE model in mice caused mechanical and cold allodynia, and heat hyperalgesia and pregabalin administration reduced the hypersensitivity in this model 50
- Figure 3.** The administration of different TRPA1 antagonists reduced nociception caused by a PMS-EAE model in mice..... 52
- Figure 4.** The spinal cord TRPA1 receptor mRNA levels were increased, and intrathecal blockage of TRPA1 reduced nociception in a model of PMS-EAE. 54
- Figure 5.** Induction of PMS-EAE model in mice led to changes in oxidative parameters. 56

LISTA DE TABELAS

MANUSCRITO

Table 1: List of forward and reverse primers used in RT-qPCR assays and their respective sequences (5'-3').....	47
--	----

LISTA DE ABREVEATURAS E SIGLAS

4-HNE	4-hidroxinonenal
ACF	Adjuvante Completo de Freund
AITC	Isotiocianato de alila
CGRP	Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina
DC	Dor crônica
DN	Dor neuropática
DNC	Dor neuropática central
DNP	Dor neuropática periférica
EAE	Encefalomielite autoimune experimental
EM	Esclerose múltipla
EMP	Esclerose múltipla progressiva
EMPP	Esclerose múltipla progressiva primária
EMPS	Esclerose múltipla progressiva secundária
EMRR	Esclerose múltipla recorrente-remitente
ERCs	Espécies reativas de carbono
ERNs	Espécies reativas de nitrogênio
EROs	Espécies reativas de oxigênio
GN	Gânglio nodoso
GRD	Gânglio da raiz dorsal
GT	Gânglio trigeminal
H₂O₂	Peróxido de hidrogênio
i.g.	Intragástrica
i.t.	Intratecal
IASP	Associação Internacional para o Estudo da Dor
I_{max}	Inibição máxima
LCR	Líquido cefalorraquidiano
MOG	Peptídeo de mielina
NPIQ	Neuropatia periférica induzida por quimioterapia
NT	Neuralgia do trigêmeo
PGE₂	Prostaglandina E2
RM	Ressonância magnética

SN	Sistema nervoso
SNC	Sistema nervoso central
SNP	Sistema nervoso periférico
SP	Substância P
TRP	Receptor de potencial transitório
TRPA	Receptor de potencial transitório anquirina
TRPA1	Receptor de potencial transitório anquirina 1
TRPC	Receptor de potencial transitório canônico
TRPM8	Receptor de potencial transitório melastatina 8
TRPV	Receptor de potencial transitório vaniloide
TRPV1	Receptor de potencial transitório vaniloide 1

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	11
1 INTRODUÇÃO	12
1.1 HIPÓTESE	15
1.2 OBJETIVOS	15
1.2.1 Objetivo geral	15
1.2.2 Objetivos específicos	15
1.3 JUSTIFICATIVA	16
2 REFERENCIAL TEÓRICO	18
2.1 DOR	18
2.2 RECEPTORES DE POTENCIAL TRANSITÓRIO (TRP).....	23
2.2.1 Receptor de potencial transitório anquirina 1 (TRPA1)	25
2.3 ESCLEROSE MÚLTIPLA (EM)	31
3 MANUSCRITO CIENTÍFICO	39
4 DISCUSSÃO	71
5 CONCLUSÃO	77
6 CONCLUSÃO GERAL	77
7 PERSPECTIVAS	78
REFERÊNCIAS	80
REFERÊNCIAS DE IMAGEM	115
ANEXO A-	116

APRESENTAÇÃO

Esta dissertação está estruturada em seções dispostas em: Introdução, Referencial teórico, Hipótese, Objetivos, Justificativa, Manuscrito Científico, Discussão, Conclusões, Perspectivas e Referências.

Os itens Materiais e Métodos, Resultados, Discussão dos resultados e suas Referências encontram-se inseridos na seção Manuscrito Científico, representando a íntegra deste estudo.

As Referências (Item 7) referem-se somente às citações que aparecem na seção Introdução, Referencial teórico e Discussão desta dissertação.

1 INTRODUÇÃO

A esclerose múltipla (EM) é uma doença autoimune crônica que afeta principalmente o sistema nervoso central (SNC) levando a diferentes sintomas incapacitantes nos pacientes. Esta patologia tem como características patológicas a presença de células inflamatórias no SNC, desmilenização de axônios e apoptose de oligodendrócitos, causando a formação do tecido cicatricial (gliose). A maior parte das lesões na EM se desenvolve na substância branca, mas também pode ocorrer em áreas de substância cinzenta. Os pacientes com EM apresentam uma ampla gama de sintomas neurológicos que podem ter origem a partir da lesão de diferentes áreas do SNC, levando a um curso clínico da EM variável, com vários subtipos descritos (LUBLIN; REINGOLD, 1996; NOSEWORTHY et al., 2000; THOMPSON et al., 2018).

O curso da doença é geralmente episódico, com fases recorrentes-remitentes (EMRR), mas a EM pode se apresentar em uma variante denominada EM progressiva (EMP). Cerca de 15% dos pacientes podem desenvolver o tipo progressivo desde o início da doença, denominado EM progressiva primária (EMPP). No entanto, cerca de 70% dos pacientes, 10 a 15 anos após um curso inicial do tipo EMRR, desenvolvem progressão a chamada EM progressiva secundária (EMPS). Assim, os dados mostram que pelo menos 1,3 milhão de pessoas têm EMP no mundo. O início da progressão ocorre com mais frequência em adultos jovens entre os 40 e os 50 anos de idade (ONTANEDA et al., 2017). A prevalência e a incidência desse distúrbio são duas a três vezes mais altas em mulheres do que em homens (DISANTO; RAMAGOPALAN, 2013).

Pacientes com EMP geralmente apresentam déficits visuais, motores (espasmos musculares e fraqueza muscular) e sensoriais (parestesia), além de fadiga, problemas de continência (incontinência urinária e constipação), sintomas neuropsicológicos (perda de memória, ataraxia da cognição e depressão). Além disso, os pacientes apresentam dor neuropática central (DNC), e todos estes sintomas levam a uma redução na qualidade de vida desses indivíduos (NOSEWORTHY et al., 2000; YOUSUF et al., 2019). É descrito que a dor neuropática (DN) está presente em 29 a 80% dos diagnósticos de pacientes com EMP. Este tipo de dor tem origem tanto da própria doença quanto do tratamento realizado, um exemplo é o fármaco interferon beta que causa sintomas semelhantes aos da gripe, mialgias e dor de cabeça, ou ainda o uso crônico de corticosteroides que pode causar osteoporose e dores

secundárias. Além disso, a DNC é composta por uma variedade de síndromes dolorosas com manifestação de hipersensibilidade dolorosa principalmente nas extremidades (FOLEY et al., 2013; HADJIMICHAEL et al., 2007; ÖSTERBERG; BOIVIE; THUOMAS, 2005; TRUINI et al., 2013; WATSON; SANDRONI, 2016). Os principais sintomas encontrados em pacientes com DNC são alodinia mecânica (BERNARDES; OLIVEIRA, 2017; MOTL; GOLDMAN; BENEDICT, 2010) e ao frio (FU; TAYLOR, 2015) e hiperalgesia ao calor (OSTERBERG; BOIVIE, 2010).

Dessa maneira, quase 30% dos medicamentos usados para aliviar os sintomas da EMP estão focados no controle da dor, porém estes tratamentos mostram eficácia reduzida e muitos efeitos adversos (BRICHETTO et al., 2003; SOLARO; MESSMER UCCELLI, 2010). O manejo da DN na EMP é realizado através do uso de anticonvulsivantes, como a pregabalina e a gabapentina, antidepressivos como a duloxetina, entre outros (GILRON; BARON; JENSEN, 2015; GRAY et al., 2008). Assim, estudos experimentais que buscam novas terapias para o controle da DNC na EMP são importantes. Também, a investigação dos mecanismos envolvidos no desenvolvimento da DNC na EMP é de grande importância, pois poderão indicar novas formas de tratamento.

Para investigar novos mecanismos envolvidos no desenvolvimento de dor neuropática na EMP é necessário o uso de modelos animais em roedores (KIPP et al., 2017). O modelo animal experimental mais usado para reproduzir e estudar as características da EMP é a encefalomielite autoimune experimental (EAE). Este método foi descrito pela primeira vez em 1933 por Rivers e colaboradores, onde apresenta características semelhantes às da patologia humana, como dano neural, neuroinflamação e desmielinização, induzida em camundongos da linhagem C57BL/6 por imunização utilizando a um peptídeo de mielina (MOG₃₅₋₅₅), emulsionada com adjuvante completo de Freund (ACF) (CONSTANTINESCU et al., 2011; DUFFY; LEES; MOALEM-TAYLOR, 2014; RIVERS; SPRUNT; BERRY, 1933). Além disso, os animais de experimentação após a indução do modelo EAE desenvolvem hipersensibilidade, como alodinia mecânica e ao frio, além de hiperalgesia ao calor (AICHER et al., 2004; SCHMITZ et al., 2013). Desta forma, os modelos de EAE que utilizam o ACF como adjuvante são utilizados como modelos de DNC na EMP (CONSTANTINESCU et al., 2011).

Hipotetiza-se que a neuroinflamação e disfunção mitocondrial nas lesões da EMP gerem espécies reativas, que podem causar a ativação dos nociceptores, que

por sua vez produzem respostas dolorosas no modelo de EAE (SU; BOURDETTE; FORTE, 2013). Além disso, o tratamento com antioxidantes mostrou efeito antinociceptivo em um modelo de EM em camundongos (HUQ et al., 2016). Um desequilíbrio entre a produção e a neutralização de substâncias oxidantes, levam ao estresse oxidativo, causado pela desregulação na modulação de proteínas intracelulares por oxidação de grupos tiol (ANDERSSON et al., 2008). Assim, são formadas espécies reativas de oxigênio (EROs), como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que também são formadas pela família NOX (NADPH oxidases) e por outras vias metabólicas ou não metabólicas. Os ácidos graxos insaturados, principalmente aqueles presentes nas membranas plasmáticas, podem reagir com os EROs, formando compostos eletrofílicos altamente reativos (alguns deles conhecidos como espécies reativas de carbono, ERCs), como o 4-hidroxinonenal (4-HNE) (NASSINI et al., 2014; TREVISANI et al., 2007). Assim, o estresse oxidativo produzido em resposta a estímulos inflamatórios têm um papel crítico no dano tecidual na EM (WEN et al., 2016).

Portanto, canais que poderiam ser ativados por compostos oxidantes poderiam estar envolvidos na nocicepção observada em modelos de EMP. Dessa forma, um canal que é amplamente estudado nos processos dolorosos da EMP é o receptor de potencial transitório anquirina 1 (TRPA1). O receptor TRPA1 é um canal de cálcio não seletivo expresso em nociceptores do SNC e periférico (SNP) (HAMILTON et al., 2016; SHIGETOMI et al., 2012; STORY et al., 2003). Estudos indicam que sua ativação pode ocorrer através de agonistas exógenos provenientes de produtos naturais, como o isotiocianato de alila (AITC, encontrado no óleo de mostarda) e o cinamaldeído (o ingrediente picante da canela) (BANDELL et al., 2004). Porém, o canal TRPA1 pode também ser ativado por compostos reativos endógenos, incluindo H_2O_2 e 4-HNE (ANDRÈ et al., 2008; BAUTISTA et al., 2006), que são compostos gerados durante o curso da EMP. Além disso, o receptor TRPA1 possui antagonistas que induzem efeitos antinociceptivos em modelos de DN, podendo ser importantes ferramentas farmacológicas a serem testadas no modelo de EMP-EAE (KWAN et al., 2009; MCNAMARA et al., 2007).

O papel do TRPA1 foi descrito em diferentes modelos de DN causada por trauma nos nervos periféricos (DE LOGU et al., 2017; PINHEIRO et al., 2015; TREVISAN et al., 2016). Além disso, em um modelo animal de cuprizona utilizando animais com deleção gênica para o receptor TRPA1, ocorreu diminuição no

desenvolvimento das características fisiopatológicas da EMP, como diminuição da desmielinização (BÖLCSKEI et al., 2018; SÁGHY et al., 2016). No entanto, esse modelo animal não reproduz as características nociceptivas da EMP e não foi estudado o papel do TRPA1 na nocicepção neste modelo de desmielinização, então se a ativação do TRPA1 está realmente envolvida na manutenção da DNC causada pela fisiopatologia da EMP ainda não está claro. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o papel do receptor TRPA1 em um modelo de EMP em camundongos através de ferramentas farmacológicas e genéticas.

1.1 HIPÓTESE

Camundongos submetidos ao modelo de EMP-EAE apresentam nocicepção espontânea, que pode ser reduzida após a administração de antagonistas do receptor TRPA1 ou de fármacos já utilizados na clínica para o tratamento de EMP. Além disso, no modelo de EMP-EAE ocorre o aumento de componentes do estresse oxidativo, indo de acordo com o efeito antinociceptivo de antioxidantes. Ainda, há aumento dos níveis de RNAm do receptor TRPA1 em amostras de medula espinal, envolvimento evidenciado também pela administração de um oligonucleotídeo antisentido para o TRPA1 que reduz o desenvolvimento de nocicepção em camundongos induzidos pelo modelo EMP-EAE.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Identificar o papel do receptor TRPA1 na nocicepção observada em um modelo de EMP em camundongos.

1.2.2 Objetivos específicos

- Investigar o desenvolvimento de nocicepção e progressão da doença em um modelo de EMP em camundongos;
- Averiguar o potencial antinociceptivo de um analgésico utilizado na clínica para tratamento da DNC da EMP num modelo de EMP-EAE em camundongos;

- Avaliar se a inibição farmacológica do receptor TRPA1 através de seus antagonistas específicos, poderia reduzir a nocicepção em um modelo de EM progressiva em camundongos;
- Testar se fármacos já usados para a dor e com capacidade de antagonizar ou dessensibilizar o receptor TRPA1 poderiam reduzir a nocicepção observada na EMP;
- Estudar a expressão do receptor TRPA1 em tecidos de medula espinal e gânglio da raiz dorsal após a indução de nocicepção em um modelo de EMP em camundongos;
- Observar o efeito antinociceptivo da administração intratecal do antagonista HC-030031 e de oligonucleotídeo anti-sentido para o receptor TRPA1 em um modelo de EMP em camundongos;
- Averiguar a atividade das enzimas NADPH oxidase e a participação de um agonista endógeno do receptor TRPA1 (4-HNE) em um modelo de EMP em camundongos;
- Verificar o efeito antinociceptivo do ácido α -lipoico e da apocinina sobre a nocicepção em um modelo de EMP em camundongos.

1.3 JUSTIFICATIVA

De acordo com estimativas da IASP, cerca de 20% da população mundial sofre de alguma forma de dor crônica (IASP, 2014). No Brasil, 40% da população é estimada a ter problemas relacionados à dor crônica segundo a Pesquisa Nacional em Saúde, apontando que este é um importante problema de saúde pública (IBGE, 2013). Confirmando estes dados, Goldberg e McGee apontam que 1 a cada 5 adultos possuem dor crônica e que a cada ano 1 entre 10 adultos são diagnosticados com dor crônica (GOLDBERG; MCGEE, 2011). Segundo a Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor, cerca de 50 a 60% dos pacientes que sofrem de algum tipo de dor crônica ficam parcial ou totalmente incapacitados, de maneira transitória ou permanente, comprometendo de modo significativo a qualidade de vida e dificultando a capacidade de trabalho, o que também é bastante prevalente em casos de dor neuropática (SBED, 2019). Na esclerose múltipla, os sintomas de dor mostram uma prevalência combinada de 63% (FOLEY et al., 2013). De acordo com o tipo de doença, a prevalência de dor é de 70%, tanto na EM progressiva primária (EMPP) ou secundária progressiva (EMPS) (FOLEY et al., 2013). Apesar do mercado mundial de fármacos analgésicos chegar aos bilhões de dólares e os analgésicos da classe dos anti-inflamatórios não esteróides estarem entre os fármacos mais vendidos em todo

mundo, o controle farmacológico efetivo de alguns tipos de dor ainda se mostra um grande desafio para a comunidade médico-científica (FIELDS, 2011; VAN DE LAAR et al., 2012). Dessa maneira, os fármacos utilizados para o tratamento da dor crônica associada a EMP apresentam limitações relacionadas principalmente à falta de eficácia e ao desenvolvimento de efeitos adversos, fator agravante ao quadro já frágil dos pacientes acometidos por esta doença (TREEDE et al., 2015). Assim, tem se dado ênfase à procura de novos alvos moleculares para o tratamento da dor na EM.

No processo de busca por novos fármacos analgésicos, a pesquisa pré-clínica (aquela feita com animais) é importante para a definição de caminhos e minimização de riscos, sendo fundamental na busca dos mecanismos envolvidos na doença e a fim de propor terapias mais eficazes e seguras.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 DOR

A dor é descrita como uma experiência desagradável resultante de diferentes estímulos nocivos, ou ainda pode ser experienciada sem o dano tecidual. Assim, segundo a Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP), a dor pode ser definida como “uma experiência sensorial e emocional desagradável associada à lesão tecidual real ou potencial, ou ainda descrita em termos que sugerem tal lesão” (IASP, 2019). Além disso, a dor é definida como uma resposta protetora, devido à sua capacidade de alerta para um indivíduo que se encontra em uma situação de lesão tecidual provável ou real, resultando em respostas de reflexo e comportamento coordenado (Woolf e Mannion 1999; Kaye et al. 2019). Dessa forma, a dor é considerada como uma experiência multidimensional onde muitos aspectos podem colaborar para a sua percepção, como aspectos emocionais, afetivos, motivacionais, sensório-discriminativos e cognitivos (AUNG et al., 2016; KAYE et al., 2019; MERSKEY, H.; BOGDUK, 1986).

Já a nocicepção, se refere aos processos neurais de codificação e processamento de estímulos nocivos, os quais podem ocorrer sem existir dor ou vice-versa (LOESER; TREEDE, 2008). No caso do desenvolvimento de lesão no tálamo percebe-se o desenvolvimento de DNC, porém sem a percepção de nocicepção. Já quando se utilizam anestésicos durante tratamento odontológico temos nocicepção sem a ocorrência de dor (LOESER; TREEDE, 2008) Assim, em animais de experimentação observa-se o desenvolvimento de nocicepção, pois em modelos de dor não é possível a detecção do componente emocional da dor (NAVRATILOVA et al., 2013). A dor pode ser classificada principalmente em três tipos: dor nociceptiva, dor inflamatória e dor patológica (dividida em disfuncional e neuropática) (WOOLF, 2010).

A dor produzida ao tocar algo muito frio ou quente, por exemplo, é decorrente de um mecanismo de proteção fisiológica. Esta forma de dor que consiste em um alerta precoce, relevante para minimizar o tempo de contato com estímulos nocivos ou prejudiciais é descrita como dor nociceptiva. Assim, a dor nociceptiva é ativada na presença de estímulos intensos chamados de estímulos de alto limiar que podem provocar dano tecidual real (BASBAUM et al., 2009; WOOLF, 2010). Dessa maneira,

a presença da dor nociceptiva protege os organismos, e no caso de canalopatias para canais de sódio, podemos perceber que a insensibilidade congênita à dor não é benéfica. Os pacientes com esta patologia genética não percebem fraturas, inflamações ou infecções, mostrando que a percepção da dor nociceptiva é vital (REILLY; SHY, 2009). Também, durante o desenvolvimento de novos analgésicos deve-se prezar pela manutenção da percepção da dor nociceptiva, pois ao não se perceber esta sensação os pacientes poderiam lesar os tecidos. Esta situação ocorreu durante ensaios clínicos usando antagonistas do receptor de potencial transitório vaniloide 1 (TRPV1), os pacientes apresentaram analgesia, porém eram incapazes de perceber o calor nocivo (GAVVA et al., 2008).

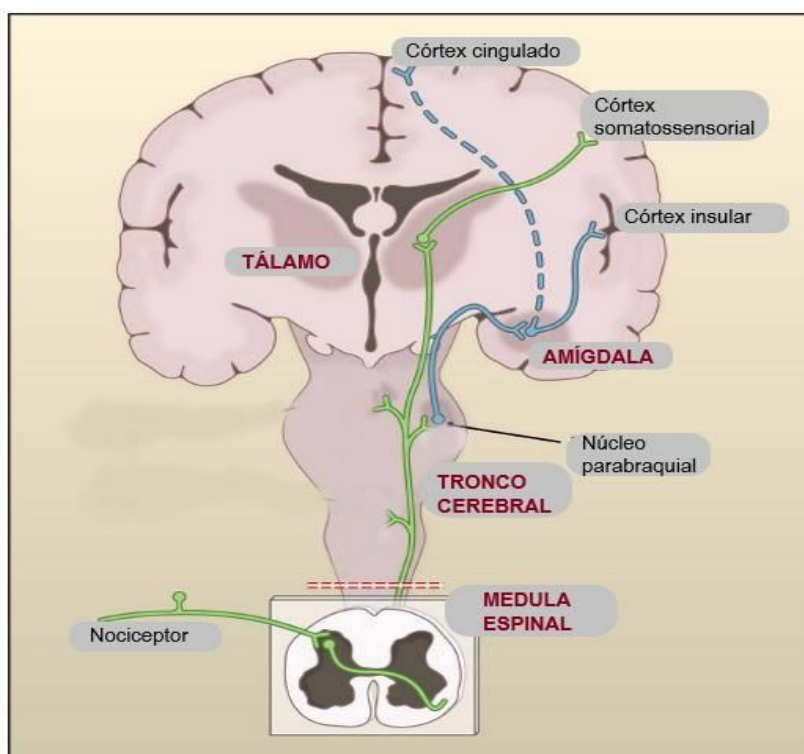
Para que exista a percepção da dor nociceptiva existem na pele e em outros tecidos, nociceptores que são sensíveis a estímulos de nocivos mecânicos, térmicos ou químicos. Estes neurônios sensoriais descritos como nociceptores possuem as suas terminações periféricas livres na derme para a pele e possuem seu corpo celular em gânglios da raiz dorsal (GRD, para o corpo), gânglio trigeminal (GT, para a face), e gânglio nodoso (GN, para as vísceras). Além disso, os nociceptores periféricos são divididos em dois tipos principais, as fibras do tipo A δ e C, que diferem entre si na velocidade de condução do estímulo, classe do estímulo doloroso conduzido e perfil de receptores expressos na membrana (BASU et al., 2019; DICKENSON, 1995; JULIUS; BASBAUM, 2001; LOESER; TREEDE, 2008). Assim, inicialmente ocorre a ativação destes terminais periféricos que estão innervando a pele e as vísceras onde ocorre a tradução do estímulo em potencial de ação e então os potenciais de ação gerados serão transmitidos para o SNC (BESSOU; PERL, 1969; JULIUS, 2013; MAATUF; GERON; PRIEL, 2019). Após, ocorre a transmissão desses sinais nociceptivos ao corno dorsal da medula espinal (MAATUF; GERON; PRIEL, 2019; MICKLE; SHEPHERD; MOHAPATRA, 2016).

Assim, após a chegada do estímulo nocivo até a medula espinal ocorre a liberação de neurotransmissores excitatórios, como o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), o glutamato e a substância P (SP). Este processo de excitação de neurotransmissores depende do influxo de cálcio via canais de cálcio dependentes de voltagem (principalmente do tipo N) e outros canais iônicos como os receptores TRPV1 e TRPA1. A partir deste fenômeno ocorrerá a ativação de neurônios nociceptivos de segunda ordem (via contralateral) que irão transmitir esse sinal a

centros supra-espinhais, onde ocorrerá o reconhecimento desse sinal como doloroso (BASBAUM et al., 2009; VIÑUELA-FERNÁNDEZ et al., 2007) (Figura 1).

Esse sinal pode ser transmitido pela via espinotalâmica, através de axônios provenientes de neurônios de projeção, com terminações no tálamo ventroposterior e ventrobasal, projetado para o córtex somatossensorial, esta via tem importância no reconhecimento do local e a intensidade do estímulo doloroso. Os estímulos provenientes do corno dorsal da medula espinal podem ser conduzidos por uma via diferente até o córtex insular e cingulado, por meio de conexões no núcleo parabraquial (tronco cerebral) e na amígdala, esta via é denominada espinoparabraquial amigdalóide e é importante para modulação das dimensões afetivas da experiência dolorosa (OSSIPOV; DUSSOR; PORRECA, 2010).

Figura 1 - Representação da via de transmissão do estímulo nociceptivo, onde ocorre ativação dos terminais nociceptivos (nociceptores) por estímulos nocivos. Após um potencial de ação é conduzido até o corno dorsal da medula espinal com a liberação de neurotransmissores e a ativação subsequente de neurônios de segunda ordem. Assim, a informação sensorial é conduzida até o tálamo e após neurônios de terceira ordem projetam-se para o córtex somatossensorial. Também, o sinal sensorial pode ser conduzido até o tronco cerebral e amígdala.



Porém esse estímulo nociceptivo inicial pode não ser suficiente para evitar um dano tecidual, então pode ser gerada a dor inflamatória que também possui característica protetora e adaptativa, uma vez que servirá de auxílio para o processo de cicatrização da região lesada (evita contanto físico ou movimento do tecido lesado). Dessa forma, a sensibilidade ou hipersensibilidade à dor gerada pela ativação do sistema imunológico após infecção ou lesão tecidual, ajuda a reduzir os riscos de novos danos, auxiliando na recuperação do tecido afetado. Assim, a dor inflamatória surge após danos como queimaduras, cortes cirúrgicos ou ainda em articulações inflamadas, onde há processamento da dor em resposta à estímulos normalmente inócuos (WOOLF, 2010; YE et al., 2018). Porém, a dor inflamatória aguda tem caráter protetor e após a recuperação do tecido a hipersensibilidade dolorosa deve desaparecer, este processo não ocorre em alguns tipos de dor inflamatória crônica. Um exemplo, seriam as artrites, nestes casos se observa a inflamação contínua de articulações sem o objetivo de recuperação tecidual, então a dor inflamatória crônica não é considerada adaptativa (KRUSTEV; RIOUX; MCDUGALL, 2015; MARCH et al., 2014).

Contudo pode haver uma disfunção no sistema nervoso (SN), e assim resultar em uma dor crônica (DC), de limiar baixo, que não tem objetivo protetor, chamada de dor patológica. Esse tipo de dor não é um sintoma de alguma disfunção, mas sim um estado patológico do SN, podendo ser gerada em condições em que não há dano ou inflamação (dor disfuncional) mas também após dano direto ao SN (DN). A dor disfuncional é aquela que ocorre em patologias como fibromialgia, cistite intersticial, cefaleia do tipo tensional, doença da articulação temporomandibular, síndrome do intestino irritável, onde apresenta dor substancial mas sem estímulo nocivo e nenhum quadro inflamatório periférico (WOOLF, 2010).

Em relação a DN, segundo a IASP, é aquela dor gerada por uma lesão primária ou por alguma alteração no SNP e/ou SNC. A DN periférica (DNP) é resultante de lesões no SNP após trauma mecânico, uso de substâncias químicas neurotóxicas, doenças metabólicas, infecção ou invasão tumoral, onde tem o envolvimento de várias alterações fisiopatológicas (DWORKIN et al., 2003; WOOLF; MANNION, 1999). Enquanto a DNC é resultado de quadros como isquemia ou hemorragia do SNC, ou lesão medular. Além disso, a dor DNC pode ser causada por doenças do SNC como a dor observada na EM (DUCREUX et al., 2006). A DN é um processo debilitante que

afeta todos os aspectos da vida do indivíduo; pois inclui aspectos físicos, mentais, sociais, ocupacionais e familiares (DUEÑAS et al., 2016). Além disso, é comum os pacientes apresentarem distúrbios psiquiátricos, como depressão, ansiedade e transtornos por uso de substâncias junto com a DN (HOOTEN, 2016).

Na DN ocorre a sensibilização central e periférica, que pode ser provocada por diferentes mecanismos como aumento da expressão de canais iônicos, liberação exacerbada de neurotransmissores excitatórios ou ainda ativação glial (JI; SUTER, 2007; YANG; CHANG, 2019). Assim, o resultado é sintomas com características neuropáticas, mesmo se essa excitabilidade for gerada longe do foco da lesão primária (BOSTOCK et al., 2005). Dessa forma, pacientes com DN, geralmente apresentam dois tipos de sintomas além de dor espontânea, a alodinia e a hiperalgesia. A alodinia é aquela dor causada através de um estímulo que em situações normais não causaria dor. Existe principalmente dois tipos de estímulos capazes de gerar alodinia: mecânico (toque) e térmico (calor ou frio). Já a hiperalgesia se caracteriza por uma sensação dolorosa intensa após um estímulo nocivo com uma resposta exacerbada, e pode ser observada em relação a um estímulo térmico de calor (BENNETT, 2006; BOUHASSIRA; ATTAL, 2011; RAZMJOU; WOODHOUSE; HOLTBY, 2018).

Como citado anteriormente, pacientes com EM apresentam a DNC, estando presente entre 29 a 80% dos diagnósticos, tem origem tanto da própria doença quanto do tratamento realizado. Assim, é frequente o quadro de DN, podendo ocorrer em vários locais simultaneamente e é encontrada em pacientes com a forma progressiva da doença (ÖSTERBERG; BOIVIE; THUOMAS, 2005; WATSON; SANDRONI, 2016).

Dessa forma, entender melhor os mecanismos de transmissão nociceptiva e sua regulação nos nociceptores, poderia auxiliar na busca por novos alvos terapêuticos para o tratamento da DN resultante da EMP. Um exemplo de transdutores sensoriais em nociceptores são os Receptores de Potencial Transitório (TRP), por conta de sua capacidade de resposta à estímulos químicos, térmicos e mecânicos (MONTELL, 2003). Ainda, vários modelos de DN apresentam características de alodínia mecânica e ao frio, sugerindo assim o envolvimento de canais TRP, principalmente o receptor TRPA1, uma vez que se trata de um canal importante de transdução em nociceptores sensoriais a estímulos mecânicos e frios (GIORGI et al., 2019).

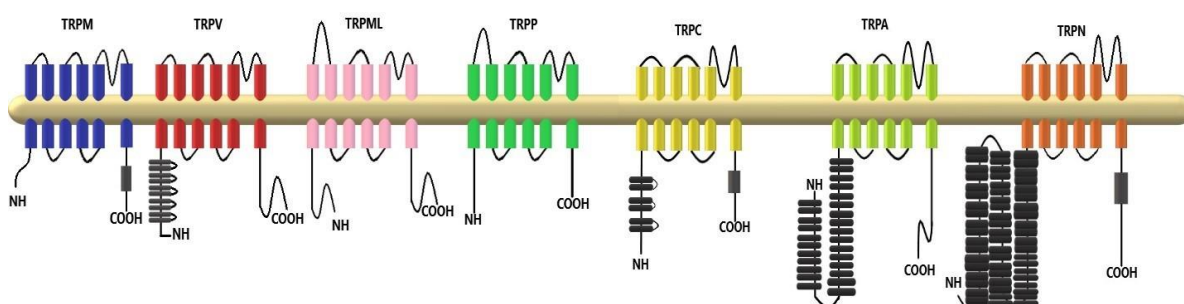
2.2 RECEPTORES DE POTENCIAL TRANSITÓRIO (TRP)

O termo receptor de potencial transitório surgiu pela primeira vez em um estudo com *Drosophila* mutante, em 1969, que possuíam fotorreceptores portadores de mutações no gene *trp* e apresentavam uma resposta transiente quando expostas à luz intensa, diferente da resposta contínua apresentada pelo tipo *Drosophila* selvagem (EZEANI, 2019; MINKE, 1977; MONTELL et al., 1985). Posteriormente em 1985, Craig Montell e Gerald Rubin isolaram pela primeira vez o gene *trp*, evento que permitiu seu sequenciamento e clonagem levando a sua caracterização. Assim, surgiu a hipótese de que a proteína gerada a partir desse gene seria semelhante à de um canal iônico (MONTELL; RUBIN, 1989). Em 1992, Craig Montell e Gerald Rubin confirmaram essa hipótese, mostrando que a proteína TRP de *Drosophila* é um canal permeável a cálcio nos neurônios fotorreceptores e é ativada pela luz (HARDIE; MINKE, 1992).

Até então havia resultados demonstrando a presença do gene *trp* apenas em *Drosophila*. Porém em 1995, Petersen e colaboradores realizaram um estudo que evidenciou através da clonagem do gene a existência de proteínas homologas em outra espécie de mosca (*Calliphora*), em oócitos de *Xenopus* (espécie de rã) e no cérebro de camundongos (PETERSEN et al., 1995). No mesmo ano, dois grupos de pesquisa conseguiram identificar a primeira sequência de uma proteína homóloga ao TRP em humanos, que foi denominada como TRPC1 (WES et al., 1995; ZHU et al., 1995).

Posteriormente, muitos grupos de pesquisa identificaram outras subfamílias de canais iônicos TRP agrupados de acordo com suas similaridades de sequências de aminoácidos. Então, atualmente os TRP constituem uma superfamília, com 28 membros de canais não seletivos em mamíferos, classificadas em seis subfamílias principais: receptores de potencial transitório vanilóide (TRPV), receptores de potencial transitório canônico (TRPC), receptores de potencial transitório melastatina (TRPM), receptores de potencial transitório mucolipina, receptores de potencial transitório policistina e receptores de potencial transitório anquirina (TRPA) (BERNARDINI et al., 2019; CLAPHAM, 2003). Existe uma sétima família, a TRPN (também denominado de receptores C sem potencial mecanorreceptor ou NompC), porém essa não é encontrada em mamíferos (MINKE, 2010) (Figura 2).

Figura 2 - Representação da estrutura das seis subfamílias de receptores TRP encontradas em mamíferos, receptores de potencial transitório melastatina (TRPM), receptores de potencial transitório vanilóide (TRPV), receptores de potencial transitório mucolipina (TRPML), receptores de potencial transitório policistina (TRPP), receptores de potencial transitório canônico (TRPC), e receptores de potencial transitório anquirina (TRPA), e uma sétima subfamília que não é encontrada em mamíferos denominada receptores C sem potencial mecanorreceptor ou NompC (TRPN).



Fonte: da autora.

Apesar de cada canal possuir suas particularidades, esses receptores possuem estrutura semelhante, com seis domínios transmembranas (S1-S6), um poro permeável a cátions entre os domínios S5 e S6 e com os terminais citoplasmáticos amino e carboxi de tamanhos e sequências de aminoácidos variáveis (DHAKAL; LEE, 2019; MONTELL; RUBIN, 1989; RAMSEY; DELLING; CLAPHAM, 2006). Esses canais são amplamente expressos em diversos lugares do corpo humano, como músculo esquelético, tecido adiposo, SN, rins, fígado e pâncreas (DHAKAL; LEE, 2019; YU et al., 2016; ZHU et al., 2011). Por conta dessa ampla expressão estão envolvidos em diversos processos, como na termossensibilidade, mecanossensibilidade, transmissão de sinais sensoriais, gustação, visão, olfato, nocicepção e osmorregulação (CLAPHAM, 2003; KANEKO; SZALLASI, 2014; PATAPOUTIAN; TATE; WOOLF, 2009).

Dessa maneira, estes canais são ativados por diferentes estímulos externos e internos, incluindo substâncias químicas, fatores físicos, temperatura, luz, som e processos infecciosos. Também, os canais TRP que promovem a transdução da dor tem tornado esses canais potenciais alvos para o estudo de novos fármacos para tratamento de patologias dolorosas (MATSUMOTO et al., 2019; NILIUS; SZALLASI,

2014). A compreensão dos mecanismos da neurotransmissão na região do corno dorsal da medula espinal, tem contribuído para elucidar os processos envolvidos na transmissão dolorosa (FÜRST, 1999; MILLAN, 1999). Na década de 90, pesquisas mostram que os canais iônicos TRPs eram capazes de perceber estímulos nocivos, além de converter em potenciais de ação nos nociceptores somatossensoriais os estímulos físicos e químicos (NILIUS et al., 2007).

Em 1997, a descoberta de que o TRPV1 poderia ser ativado tanto pelo calor nocivo ($\geq 43^{\circ}\text{C}$) quanto por um composto pungente da pimenta (capsaicina), começou a reforçar o papel dos canais TRP na dor e na sensibilidade à estímulos térmicos (CATERINA et al., 1997). Estudos mostram que o TRPV1 é expresso GRD, GT e GN e é encontrado em fibras sensoriais peptidérgicas. Além disso, resultados com camundongos com deleção gênica para o TRPV1 confirmaram a contribuição desse canal para a percepção de estímulos químicos e térmicos (CATERINA et al., 2000; TOMINAGA et al., 1998).

Em 2002, o receptor TRP do tipo melastatina 8 (TRPM8) foi o próximo a ser clonado, localizado em neurônios sensoriais presentes em GT e GRD. Desde então, principalmente três estudos com camundongos que não expressam o receptor TRPM8, demonstraram um possível envolvimento desse canal em respostas ao frio nocivo ($\leq 17^{\circ}\text{C}$) (BAUTISTA et al., 2007; DHAKA et al., 2007; MCKEMY; NEUHAUSSER; JULIUS, 2002; PEIER et al., 2002; STUCKY; LEWIN, 1999). Posteriormente surgiram estudos demonstrando que outros TRPs poderiam também ser ativados por distintas temperaturas, como o TRPV2-4 e o TRPA1, sendo esses importantes sensores de mudanças de temperatura corporal (DHAKA; VISWANATH; PATAPOUTIAN, 2006; FLOCKERZI, 2014).

Atualmente a subfamília TRPA possui apenas um membro em mamíferos, o TRPA1, e este começou a ser investigado por existir evidências de seu papel na detecção do frio nocivo (STORY et al., 2003; TAKAYAMA et al., 2019). Além disso, o receptor TRPA1 é co-expresso com o receptor TRPV1 em nociceptores peptidérgicos (ILIE et al., 2019; KOBAYASHI et al., 2005; MANDADI; ROUFOGALIS, 2008). Dessa forma o canal TRPA1 é um alvo em potencial para a descoberta de novas terapias para o tratamento da DC (ZYGMENT; HÖGESÄTTT, 2014).

2.2.1 Receptor de potencial transitório anquirina 1 (TRPA1)

O TRPA1 possui estrutura única por conter muitas repetições do tipo anquirina no domínio amino terminal, diferentemente dos outros TRPs, fato que deu nome ao canal (CLAPHAM, 2003). Denominado primeiramente como p120 (JAQUEMAR; SCHENKER; TRUEB, 1999) e ANKTM1 (STORY et al., 2003), o TRPA1 foi isolado pela primeira vez em culturas de fibroblastos humanos (JAQUEMAR; SCHENKER; TRUEB, 1999). A partir disso, foi demonstrado ser amplamente expresso em mamíferos, em tecidos como vasos sanguíneos, coração, próstata, bexiga, pâncreas, pele, cérebro, articulação, vias aéreas e pulmões (BENEMEI et al., 2013). Porém são nos neurônios sensoriais dos DRGs e dos GTs que sua expressão tem grande envolvimento na geração da dor aguda e crônica (BANDELL et al., 2004; BAUTISTA et al., 2006; KATSURA et al., 2006; KWAN et al., 2006; MACPHERSON et al., 2005; OBATA, 2005; STORY et al., 2003).

Em 2004, um estudo realizado por Bandell e colaboradores demonstrou que o receptor TRPA1 poderia ser ativado por diversos componentes exógenos presentes em produtos naturais. Alguns dos agonistas descritos neste estudo foram o cinamaldeído (presente na canela), o AITC (encontrado no óleo de mostarda), o eugenol (presente no cravo) e o gingerol (encontrado no gengibre), a administração de todos estes compostos causam sensação nociceptiva em camundongos (BANDELL et al., 2004). A partir deste estudo diferentes agonistas foram identificados de fontes naturais, como a alicina e o dialildissulfeto (encontrados no alho) (BAUTISTA et al., 2005). O AITC e o cinamaldeído exercem sua função agonista modificando covalentemente resíduos de cisteína no domínio amino-terminal intracelular do receptor TRPA1 (HINMAN et al., 2006; MACPHERSON et al., 2007b).

Além dos produtos exógenos provenientes de compostos naturais, também foi visto que o receptor TRPA1 pode ser ativado por compostos irritantes do ambiente e resíduos poluentes de indústrias, como o acetaldeído (BANG et al., 2007), a formalina (MCNAMARA et al., 2007), o hipoclorito (BESSAC et al., 2008), os isocianatos, a acroleína (presente no gás lacrimogêneo, fumaça de cigarro e de queima de vegetação) (BESSAC et al., 2009), o dióxido de carbono (WANG; CHANG; LIMAN, 2010) e ozônio (TAYLOR-CLARK; UNDEM, 2010). Então, estes poluentes ambientais poderiam estar envolvidos em doenças pulmonares através da ativação do canal TRPA1. Já foi demonstrado, que a ativação destes receptores em fibras sensoriais peptidérgicas que inervam os pulmões ou em células epiteliais pulmonares produz irritação local, ativação de respostas reflexas protetoras (tosse) e inflamação

neurogênica no local. Dessa forma, antagonistas deste receptor tem sido estudados como forma de controle da inflamação pulmonar e tosse em pacientes asmáticos (GEPPETTI; PATACCHINI; NASSINI, 2014).

Ainda, os produtos gerados durante o estresse oxidativo através das reações em cadeia dos radicais livres podem ativar diretamente o TRPA1, devido as propriedades eletrofílicas desses compostos. Esses produtos são gerados através da respiração celular por meio da cadeia de transporte de elétrons mitocondrial, que geram EROs, que também são formadas pelas enzimas da família NOX (NADPH oxidases) e por outras vias metabólicas ou não metabólicas. Os EROs incluem o H₂O₂, oxigênio singlete, ozônio, ácidos hipohalogenados e peróxidos orgânicos. Espécies reativas de nitrogênio (ERNs), que incluem o óxido nítrico, são produzidos pela atividade de óxido nítrico sintase em circunstâncias fisiológicas e patológicas. Níveis elevados de EROs e ERNs são encontrados em locais de inflamação e lesão tecidual, como em processos após exposição à radiação ionizante, drogas citotóxicas e agentes infecciosos.

Os ácidos graxos insaturados, principalmente aqueles presentes nas membranas plasmáticas, podem reagir com os EROs e ERNs, formando compostos eletrofílicos altamente reativos (alguns deles conhecidos como ERCs), como o 4-HNE, o 4-hidroxi-hexenal (HHE), 4-oxononenal (4-ONE), acroleína e o ácido nitrooleico (9-OA-NO₂). Quando a capacidade do sistema de defesa antioxidante endógena das células é insuficiente e sobrecarregada gera o processo de estresse oxidativo e nitrativo, resultando em danos oxidativos do DNA, lipídios e proteínas (NASSINI et al., 2014). Portanto, compostos como o 4-HNE e o H₂O₂ possuem a capacidade de ativar o TRPA1 diretamente (ANDERSSON et al., 2008; AUBDOOL et al., 2016; BESSAC et al., 2008; FERNANDES et al., 2011; KOZAI; OGAWA; MORI, 2014; SAWADA et al., 2008; TAYLOR-CLARK et al., 2008, 2009; TREVISANI et al., 2007). O 4-HNE tem sido considerado um mediador importante em muitos dos efeitos tóxicos produzidos pelas EROs *in vivo*, que junto a sua característica físico-química de ser altamente difusível, pode contribuir para a formação de radicais livres longe do local da lesão inicial (ESTERBAUER; SCHAUR; ZOLLNER, 1991; UCHIDA; STADTMAN, 1993).

Um estudo realizado por Andersson e colaboradores, mostrou que EROs, produzidas durante o processo de estresse oxidativo, ativam o TRPA1 nos neurônios sensoriais, e as EROs levaram a um aumento de Ca²⁺ intracelular em cerca de 50% dos neurônios. Uma resposta contrária foi vista em neurônios de camundongos com

deleção gênica para o receptor, e confirmada em experimentos *in vivo* com camundongos com deleção gênica para o TRPA1, demonstrando que o TRPA1 tem um papel importante nas respostas comportamentais relacionadas à dor evocadas por EROs, como o H₂O₂ (ANDERSSON et al., 2008). Estudos mostram que existe um mecanismo diferenciado pelo qual esses compostos irritantes ativam o TRPA1, onde está envolvido a modificação covalente de resíduos de cisteína e lisina no domínio citoplasmático amino terminal da proteína do receptor (ANDERSSON et al., 2008; HINMAN et al., 2006; MACPHERSON et al., 2007a; SCHENK et al., 2019; TREVISANI et al., 2007). A enzima NADPH oxidase está envolvida na geração de espécies reativas e, em seguida, está relacionada à fisiopatologia da EM. Além disso, em modelos de EAE, foi descrito que amostras de cérebro e medula espinal mostraram um aumento da atividade da NADPH oxidase (MA et al., 2017). Então a NADPH oxidase poderia ter envolvimento na ativação do receptor TRPA1 na dor apresentada na EMP.

Inicialmente, foi visto que estímulos como o frio nocivo (< 17°C) eram capazes de ativar o TRPA1 (COREY et al., 2004; STORY et al., 2003). Porém, atualmente este canal é principalmente estudado para o desenvolvimento de hipersensibilidade ao frio. Assim, em estudos utilizando animais com deleção gênica para o receptor TRPA1 foi descrito uma diminuição da hipersensibilidade ao frio (KATSURA et al., 2006). Também, em um modelo de lesão e inflamação, o aumento na expressão desse receptor em neurônios sensoriais levou a um quadro de hipersensibilidade ao frio (OBATA, 2005). Corroborando com esses estudos, quando administrado antagonistas específicos do receptor TRPA1, foi evidenciado o envolvimento desse receptor na hipersensibilidade mecânica e ao frio geradas em um quadro de inflamação ou lesão de nervo periférico (DA COSTA et al., 2010; PETRUS et al., 2007). Assim, resultados mostram o envolvimento do receptor TRPA1 na dor inflamatória e neuropática (DA COSTA et al., 2010; DAI et al., 2007; FERNANDES et al., 2011; GARRISON; STUCKY, 2014).

O dano tecidual e a inflamação levam a alterações nos neurônios sensoriais, reduzindo o limiar de dor e aumentando a responsividade, processo denominado de sensibilização periférica. Ao ocorrer a liberação de mediadores inflamatórios como bradicinina e prostaglandina E₂ (PGE₂), ATP, leucotrienos, histamina, fator de necrose tumoral- α , interleucina-1 β , proteases e glutamato, estes induzem a sensibilização, resultando em sintomas como hiperalgesia e alodinia (BANDELL et al.,

2004; HUCHO; LEVINE, 2007; SCHNIZLER et al., 2008). Baseado nisso, foram descobertas vias de sinalização que levam à sensibilização do TRPA1, sugerindo a sensibilização no comportamento nociceptivo mediado pelo TRPA1 após injeção de bradicinina (TAKAYAMA et al., 2019; WANG et al., 2008). Camundongos com deleção gênica para o receptor TRPA1 tiveram uma resposta de nocicepção diminuída para estímulos térmicos e mecânicos após injeção intraplantar de bradicinina (BAUTISTA et al., 2006). Além disso, um estudo demonstrou efeitos nociceptivos mediados por PGE2, efeito que foi revertido após administração de um antagonista do receptor TRPA1 (DALL'ACQUA et al., 2014). Estudos também mostram que o receptor TRPA1 está envolvido tanto na transdução da dor quanto na inflamação em modelos de dor inflamatória como artrite em camundongos (HORVÁTH et al., 2016; MOILANEN et al., 2015; TREVISAN et al., 2013c).

Finalmente, estudos mostram que os neurônios que expressam o TRPA1, além de expressar outros TRP ainda contêm neuropeptídeos inflamatórios como a SP e o CGRP. A indução da liberação desses neuropeptídeos pelas terminações periféricas dos nociceptores gerada pela ativação do TRPA1, leva a uma cascata de respostas que são chamadas em conjunto de inflamação neurogênica (NASSINI et al., 2010). A inflamação neurogênica é o mecanismo de contribuição dos nervos sensoriais para a inflamação, onde geram vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular através do estímulo dos neuropeptídeos inflamatórios (CHEN; LYGA, 2014; PETERS, 2012). Além disso, quando expostos a agonistas do receptor TRPA1, ocorre liberação dependente de cálcio de SP e CGRP, demonstrando assim que a ativação do TRPA1 leva a um aumento da liberação desses neuropeptídios sensoriais de estruturas como bexiga, esôfago, meninges e medula espinal dorsal (ANDRÈ et al., 2008; NASSINI et al., 2012).

Compostos inflamatórios são utilizados frequentemente na indução de dor inflamatória em modelos animais, e já foi observado que a administração intraplantar de ACF (modelo de artrite) leva a um aumento da expressão do receptor TRPA1 no GRD (KOBAYASHI et al., 2005). Também, tem sido atribuído ao receptor TRPA1 o envolvimento na DN de pacientes com diabetes, devido ao desequilíbrio metabólico que causa e a produção contínua de compostos reativos, como o metilglioxal, um agonista TRPA1. Em modelos de roedores, foi visto que os antagonistas do receptor TRPA1 tiveram uma resposta protetiva da degeneração periférica nos nervos e reduziram as respostas nociceptivas geradas (KOIVISTO et al., 2012; WEI et al.,

2009). O metilglioxal pode contribuir para o aumento da atividade crônica desse receptor, resultando no aumento da sensação dolorosa, sobrecarga de Ca^{2+} e como consequência a degeneração periférica (ANDERSSON et al., 2013; OHKAWARA et al., 2012).

Além disso, os antagonistas do TRPA1 podem bloquear a indução de DNP produzidas por compostos quimioterápicos (NATIVI et al., 2013; TREVISAN et al., 2013a). A neuropatia periférica induzida por quimioterapia (NPIQ) é caracterizada por parestesias, dor espontânea e principalmente hipersensibilidade mecânica e ao frio, o que leva a uma redução na qualidade de vida do paciente resultando em abandono da terapia em muitos casos (CAVALETTI; MARMIROLI, 2010). Assim, em um modelo de NPIQ em camundongos, a oxaliplatina, paclitaxel ou bortezomibe geraram hipersensibilidade mecânica e ao frio prolongada (MATERAZZI et al., 2012; NASSINI et al., 2011; TREVISAN et al., 2013a). No entanto, após a administração de bortezomibe ou oxaliplatina, animais que receberam previamente antagonistas do receptor não apresentaram desenvolvimento de hipersensibilidade permanentemente. Além disso, foi evidenciado um aumento de um marcador de estresse oxidativo no plasma dos camundongos após a administração de bortezomibe. Dessa forma, agentes quimioterápicos podem contribuir para a manutenção da hipersensibilidade prolongada através na sensibilização do receptor TRPA1 através do estresse oxidativo (TREVISAN et al., 2013a).

Porém, foi visto que quimioterápicos inibidores da aromatase como o letrozol, o exemestano e anastrozol possuem a capacidade de ativar o receptor TRPA1 diretamente levando a geração de inflamação neurogênica, com nocicepção aguda e alodínia mecânica e ao frio (FUSI et al., 2014). Além disso, é observado em pacientes a hipersensibilidade muscular e articular após a administração dos inibidores da aromatase, o que poderia ser através da ativação do receptor TRPA1 por um substrato da aromatase, a androstenediona (DE LOGU et al., 2016). O mesmo foi observado recentemente para a dacarbazina, um composto que causa a ativação direta do TRPA1 levando ao desenvolvimento de nocicepção (BRUSCO et al., 2019).

Lesões nervosas periféricas induzem dor e hipersensibilidade, o que foi atenuado após administração de antagonista do receptor TRPA1 (EID et al., 2008; HOEIJMAKERS et al., 2012; OBATA, 2005). O TRPA1 espinal amplifica a transmissão do sinal relacionado à dor, o que contribui para a hipersensibilidade neuropática, observada quando mesmo uma baixa dose intratecal de um antagonista do TRPA1 foi

capaz de reduzir efetivamente a hipersensibilidade em roedores com indução de neuropatia através da ligação do nervo espinal (WEI et al., 2011). Em estudo com o mesmo modelo de neuropatia através da ligação do nervo espinal, camundongos com deleção gênica para o receptor apresentaram alodinia mecânica diminuída (KATSURA et al., 2006). Nesse modelo ocorreu o aumento dos níveis de mRNA do Trpa1 (FREDERICK et al., 2007; JI; ZHOU; CARLTON, 2008; OBATA, 2005).

A contribuição do TRPA1 espinal para a hiperalgisia central pode ser resultado do dano tecidual que induz a produção de compostos reativos no corno dorsal da medula espinal. Estes agonistas ativam o receptor TRPA1 nas terminações centrais das fibras nervosas aferentes primárias nociceptivas, amplificando a transmissão mediada por glutamato para os neurônios da coluna vertebral (ANDERSSON et al., 2008; KOSUGI et al., 2007; PARK et al., 2006). Ainda, os astrócitos estão entre as células que expressam o TRPA1, e foi evidenciado que a ativação induzida por lesão de astrócitos espinais contribui para a hipersensibilidade à dor devido ao acoplamento a astrócitos ou neurônios adjacentes, o que pode promover a disseminação da excitação e, assim, facilitar a dor (HANSSON, 2010; SHIGETOMI et al., 2012).

Em um modelo animal de desmielinização causada por cuprizona, foi visto que o receptor TRPA1 aumenta a concentração intracelular de Ca^{2+} , modula as funções dos astrócitos e influencia as vias pró ou anti-apoptóticas nos oligodendrócitos. Em camundongos com deleção gênica do TRPA1 foi observado uma diminuição no processo de desmielinização nesse modelo de cuprizona, tornando o TRPA1 um potencial alvo terapêutico para limitar os danos no SNC gerado por doenças desmielinizantes, porém nesse modelo não foi realizada a investigação de comportamentos nociceptivos (BÖLCSKEI et al., 2018; SÁGHY et al., 2016).

Dessa forma, o TRPA1 é descrito como um importante mediador da nocicepção em modelos de neuropatia, porém a participação deste canal na hipersensibilidade observada em um modelo de EMP ainda não foi elucidado.

2.3 ESCLEROSE MÚLTIPLA (EM)

A EM é uma doença crônica, autoimune que atinge o SNC, levando à desmielinização e neurodegeneração (CORREALE et al., 2017). Possui lesões ou placas em áreas de desmielinização focais que são associadas a perda axonal e inflamação, afetando principalmente a substância branca da medula espinal, nervos

ópticos e cérebro, porém pode atingir também o córtex cerebral (GARG; SMITH, 2015; MCFARLAND; MARTIN, 2007; POPESCU; LUCCHINETTI, 2012). Além disso na forma progressiva ocorre desmielinização da substância cinza, que pode ser uma extensão da lesão na substância branca (HARRISON et al., 2015; KUTZELNIGG et al., 2005; NIELSEN et al., 2013). Em termos epidemiológicos, a EM é uma das doenças neurológicas mais estudadas, por se tratar da principal causa de incapacidade não traumática em adultos jovens, atingindo cerca de 2,3 milhões de pessoas em todo o mundo (THOMPSON; BANEKE, 2013).

A EM é comum na Europa, Estados Unidos, Canadá, Nova Zelândia e sul da Austrália. É rara na Ásia e, durante muito tempo, foi considerada uma doença neurológica rara na América Latina. No entanto, nos últimos anos, houve um aumento na frequência de casos de pacientes diagnosticados com EM na América Latina (ASCHERIO; MUNGER, 2016; CRISTIANO et al., 2013; FLORES et al., 2012). No Brasil existem poucos dados epidemiológicos publicados sobre a EM, mas os estudos que foram feitos demonstram que a maior incidência ocorre na região sul, na cidade de Santa Maria, localizada na maior latitude entre as demais cidades que já foram estudadas (DA GAMA PEREIRA et al., 2015).

Desde a década de 1950, tem aumentado a prevalência de EM, principalmente em mulheres. Esse dado pode representar um aumento na incidência da doença, como pode ser representativo do aumento do diagnóstico obtido com o advento da ressonância magnética (RM), o aumento do número de neurologistas, a melhoria da educação médica moderna, o aumento da expectativa de vida do paciente por conta da melhora no manejo dos sintomas (KOCH-HENRIKSEN; SØRENSEN, 2010). Porém, esses aspectos não justificam o aumento da doença em mulheres quando comparado ao número de homens atingidos pela EM. Em 1950 a proporção de mulheres e homens com EM era de 2:1, enquanto em 2010 a proporção foi de 3:1. Em 2008, foi realizada uma revisão sistemática onde se estimou uma incidência geral de 3,6 por 100.000 habitantes por ano para mulheres e 2,0 por 100.000 habitantes por ano em homens no mundo (ALONSO; HERNÁN, 2008; FILIPPI et al., 2018; KOCH-HENRIKSEN; SØRENSEN, 2010; ORTON et al., 2006).

A EM é considerada uma doença poligênica, porém existem fatores genéticos, os alelos do haplótipo DR2 e imunológicos, como o antígeno leucocitário humano de classe II, que são frequentemente associados a maior suscetibilidade à doença (VASCONCELOS et al., 2016). Também existem hipóteses multifatoriais como:

exposição a fatores estressores, baixa exposição à luz solar (levando a baixos níveis de vitamina D que possui um papel protetor reduzindo o risco de desenvolver EM) e o tabagismo (ASCHERIO, 2013; DOBSON; GIOVANNONI, 2019; MUNGER et al., 2004). Além disso, patógenos como pneumonia por clamídia, o vírus do herpes humano-6 e o vírus Epstein-Barr estão sendo associados a possíveis causas (SERAFINI et al., 2007; SOLDAN et al., 1997; SRIRAM; MITCHELL; STRATTON, 1998). Apesar disso a causa ainda não foi elucidada levando a EMP ser uma doença sem cura e crônica (RAMAGOPALAN et al., 2010)

As manifestações clínicas e o curso da EM inicialmente duram entre cinco dias a uma semana, assim o paciente costuma não dar importância a essas manifestações, por conta dos sintomas serem transitórios, característicos da EMRR, que acomete cerca de 85% dos pacientes. A EMRR afeta principalmente adultos jovens (idade média de início de 30 anos), além de afetar três vezes mais as mulheres do que os homens (BROWNLEE et al., 2017; PATZOLD; POCKLINGTON, 1982).

Com o tempo, o desenvolvimento das deficiências neurológicas se torna permanente, com incapacidade clínica visível e progressiva, quadro conhecido como EMPS. Assim, aproximadamente 2–3% dos pacientes com EMRR acabam desenvolvendo EMPS por ano, que tem como característica a incapacidade progressiva e irreversível que ocorre independentemente da presença de recidivas (LUBLIN; REINGOLD, 1996). Porém, aproximadamente 10 a 15% dos pacientes apresentam a forma de EMPP, onde ocorre progressão da doença desde o início, resultando em lesões neurológicas graduais, progressivas e permanentes com duração acima de um ano sem recidivas. A EMPP geralmente se apresenta em uma idade mais avançada do que a EMRR, com idade média de início aos 40 anos (BROWNLEE et al., 2017; POLMAN et al., 2011).

As lesões encontradas na EM são resultantes de uma resposta imune dirigida aos componentes da bainha de mielina dos neurônios, como consequência há uma alteração na condução motora, tornando essa doença a patologia desmielinizante mais comum do SNC. É uma doença autoimune, por ter o envolvimento de células T ativadas que atravessam a barreira hematoencefálica e iniciam uma resposta inflamatória, levando à desmielinização, lesão axonal, gliose e ocorre remielinização incompleta. Por isso achados de células inflamatórias crônicas dentro ou próximas das placas da EM associados com fatores genéticos e a destruição da mielina são foco de investigações. Alguns estudos mostram que a EM tem início através de células

T CD4+, TH1 e TH17 que quando ativadas reagem contra antígenos da própria mielina e liberam citocinas, as células TH1 secretam interferon, que ativam os macrófagos, já as células TH17 fazem o recrutamento de leucócitos. Então, esses leucócitos ativados e as substâncias liberadas por eles provocam a desmielinização. Porém, o mecanismo que ativa essa reação imune não está claro, existe uma hipótese de que seja através de uma infecção viral que ocorre a ativação de células T, mas essa suposição deve ainda ser confirmada com mais estudos (COMPSTON; COLES, 2008; MARÍN et al., 2014).

A inflamação crônica leva à destruição da bainha de mielina e à perda progressiva das funções neurológicas no cérebro e medula espinal (RASMUSSEN et al., 2007). Ainda, os oligodendrócitos fazem a síntese das bainhas de mielina no SNC, e a perda dos oligodendrócitos mielinizantes nas lesões da substância branca poderia ser a origem da patogênese (CHANG et al., 2002; FRANKLIN, 2002; KHWAJA; VOLPE, 2008; WOODWARD et al., 2006). Esses danos levam a uma variedade de sintomas e sinais devido ao comprometimento dos sistemas motor, sensorial, visual e autonômico, como o fenômeno de Uhthoff (flutuação transitória ou agravamento dos sintomas da EM associado ao aumento da temperatura corporal), neurite óptica (inflamação do nervo óptico), e fenômeno de Lhermitte (choque elétrico anormal como sensação na espinha ou membros na flexão do pescoço) (DOSHI; CHATAWAY, 2016). Uma vez que a EM atinge a fase progressiva, os pacientes desenvolvem uma piora gradual da incapacidade neurológica, o que leva a alterações de visão, caminhada, incontinência, equilíbrio, alterações cognitivas e fadiga (GIBSON; FRANK, 2002)

Porém, os tipos de sintomas não resultam apenas do local da lesão, mas também da variedade de condução dos axônios afetados, assim a causa principal de surtos é a incapacidade de condução axonal no local da lesão, relacionada tanto com o processo inflamatório quanto com a desmielinização (SÁ, 2012). Além disso, os pacientes apresentam DN, e todos estes sintomas levam a uma redução na qualidade de vida desses indivíduos (ARCHIBALD et al., 1994; O'CONNOR et al., 2008; POZZILLI et al., 2002; SOLARO; UCCELLI, 2011).

O diagnóstico da EM é baseado nos critérios de McDonald's, onde fazem associação das manifestações clínicas com as lesões características observadas na RM, análise do líquido cefalorraquidiano (LCR) e potenciais evocados visuais (KAMIŃSKA et al., 2017). Desde 2000, a RM é o principal teste diagnóstico quando

os pacientes apresentam sintomas sugestivos de EM, é observada a desmielinização, como também as alterações da barreira hematoencefálica que ocorrem desde o início da doença (CSÉPÁNY, 2018; SOLOMON et al., 2016). O LCR apresenta um achado característico de bandas oligoclonais específicas resultantes da expansão clonal de células B secretoras de imunoglobulina e células plasmáticas no SNC. Porém, é baixa a especificidade das bandas oligoclonais para a EM e diversas infecções podem resultar no mesmo padrão. Além disso, não existe marcador imune sanguíneo validado com sensibilidade e especificidade adequadas para o diagnóstico da EM, provavelmente resultado da ampla variedade genética e ambiental da EM (HOUSLEY; PITT; HAFLER, 2015).

A DN é um sintoma incapacitante da EM, dados mostram que a prevalência varia de 29 a 86% dependendo da definição de dor aplicada e dos protocolos de avaliação (O'CONNOR et al., 2008; SOLARO; UCCELLI, 2011). A incidência de DN na EM não possui relação com a gravidade da doença, então os pacientes podem sentir dor nociceptiva, como câibras musculares (espasmos flexores), espasmos nas pernas, dores de cabeça e enxaqueca associados com a DN que é persistente, e é um dos sintomas mais debilitantes enfrentados pelos pacientes, que podem apresentar esse quadro já nos estágios iniciais da doença (KALIA; O'CONNOR, 2005; O'CONNOR et al., 2008; THOMPSON; TOOSY; CICCARELLI, 2010).

A DN induzida pela EM é resultado direto ou indireto das lesões desmielinizantes no SNC, sendo assim denominada DNC (O'CONNOR et al., 2008; OSTERBERG; BOIVIE, 2010). A DNC pode ser categorizada por sua apresentação clínica como independente ou dependente de estímulo. Onde o primeiro inclui dor persistente ou paroxística, enquanto a dor evocada por estímulo é caracterizada por hiperalgesia e alodinia (ÖSTERBERG; BOIVIE; THUOMAS, 2005; SVENDSEN et al., 2005). Os sintoma da DN mais comuns relacionadas à EM, incluem dor contínua nas extremidades, bem como dor paroxística (neuralgia do trigêmeo) e fenômeno de L'hermitte (O'CONNOR et al., 2008; TRUINI et al., 2013).

A DN nas extremidades tem prevalência ao longo da vida de 12 a 28%, é caracterizada por ser uma dor predominantemente nas pernas podendo ser unilateral ou bilateral, com presença de queimação e formigamento, que geralmente tem uma piora durante a noite e é muito difícil de tratar. Além disso, afeta principalmente pacientes com EMPP ou EMPS, enquanto que pacientes com EMRR são menos

afetados (MARTINELLI BONESCHI et al., 2008; NURMIKKO; GUPTA; MACLVER, 2010; O'CONNOR et al., 2008; TRUINI; GALEOTTI; CRUCCU, 2011).

Enquanto isso, a neuralgia do trigêmeo (NT) é definida pela IASP como "episódios recorrentes de dor repentinos, geralmente unilaterais, graves, breves e pontiagudos na distribuição de um ou mais ramos do nervo trigêmeo" (KHAN; SMITH, 2014). Segundo a Sociedade Internacional de dor de cabeça, a NT pode ser dividida em dois tipos, clássica e sintomática (OLESEN; STEINER, 2004). A NT clássica é decorrente apenas do contato neurovascular entre a raiz do nervo trigêmeo e um vaso sanguíneo, enquanto o tipo sintomático pode ser decorrente da EM ou de um tumor (benigno/maligno) ou devido a anormalidades estruturais, como malformações arteriovenosas. Em pacientes com EM a prevalência da NT varia de 2 a 6,3% (ÖSTERBERG; BOIVIE; THUOMAS, 2005; PUTZKI et al., 2009; SOLARO et al., 2004; ZAKRZEWSKA; MCMILLAN, 2011).

Já o fenômeno de L'hermitte é descrito como uma descarga paroxística transitória, semelhante a um choque elétrico, evocada geralmente pela flexão do pescoço, que vai ser sentida na parte de trás do pescoço e se espalhar para os membros inferiores. Esse sintoma é um fenômeno que não ocorre apenas na EM, porém é relatado com frequência pelos pacientes portadores de EM, com uma prevalência que varia de 9 a 41%. Pode ser um sintoma problemático entre alguns pacientes, apesar de ser considerado autolimitado com resolução espontânea após algumas semanas (AL-ARAJI; OGER, 2005; NURMIKKO; GUPTA; MACLVER, 2010; SOLARO et al., 2004).

Assim, existem recomendações da IASP, para o tratamento para DNC induzida pela EM baseadas em evidências sobre o manejo farmacológico da DN (DWORKIN et al., 2010). Os medicamentos de primeira linha recomendados incluem antidepressivos tricíclicos (nortriptilina e amitriptilina), inibidores da recaptção de noradrenalina e serotonina (duloxetina e venlafaxina), anticonvulsivantes ligantes da subunidade $\alpha 2-\delta$ do canal de cálcio dependente de voltagem (gabapentina e pregabalina) e o bloqueador de canal de cálcio dependente de voltagem (lidocaína tópica). Ainda, considerados como tratamentos de segunda linha são recomendados analgésicos opioides fortes (morfina, oxicodona, metadona, fentanil) e tramadol (isoladamente ou em combinação com um agente de primeira linha). E por último, os agentes de terceira linha que podem ser usados como tratamentos de segunda linha em alguns casos, incluem outras drogas antiepilépticas (carbamazepina, lamotrigina,

oxcarbazepina, topiramato e ácido valpróico), mexiletina (análogo de lidocaína ativo oralmente), *N*-metil-*D*-aspartato antagonistas de receptores (cetamina, memantina) e capsaicina tópica (DWORKIN et al., 2007, 2010).

Porém os agentes de primeira linha, possuem diversos efeitos adversos como constipação, retenção urinária, sonolência, boca seca e hipotensão (KHAN; SMITH, 2014). Além disso, um ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo, com administração de duloxetina, em pacientes com DNC induzida por lesão medular, mostrou que a duloxetina melhorou significativamente a alodinia mecânica e ao frio quando comparado com o placebo, porém a intensidade da dor não foi significativamente menor do que a do placebo (VRANKEN et al., 2011). Portanto, não está clara a eficácia dos inibidores da recaptação de noradrenalina e serotonina no alívio da DNC induzida pela EM (KHAN; SMITH, 2014)

O efeito da gabapentina foi analisado em 25 pacientes com DN associada à EM, onde foi visto que embora os pacientes relatassem alívio da dor de moderado à excelente, cinco pacientes fizeram a interrupção do tratamento devido a efeitos adversos sentidos, como sonolência, insônia e dispepsia (HOUTCHENS, 1997). Um estudo de Vranken et al. mostrou que os efeitos adversos mais frequentes foram aqueles relacionados ao SNC, como tontura, diminuição do desempenho intelectual, sonolência e náusea. Eles também indicaram que os efeitos foram de intensidade leve a moderada (VRANKEN et al., 2008).

Siddall et al. relataram que quando testada gabapentina ou pregabalina os efeitos colaterais foram geralmente leves ou moderados em intensidade e que os efeitos adversos mais comuns foram sonolência e tontura, mas também foi relatado edema e ganho de peso clinicamente significativo. O efeito adverso da sonolência resultou na retirada de alguns pacientes que receberam pregabalina. Além disso efeitos colaterais mais graves estavam presentes e relatados no grupo que recebeu pregabalina (SIDDALL et al., 2006). Esses resultados foram comprovados por diversos outros estudos de DN (DWORKIN et al., 2010; KHAN; WOODRUFF; SMITH, 2014; MORAN; SZALLASI, 2018; SCHMIDT et al., 2013; TZELLOS et al., 2008).

Ainda, a eficácia de anticonvulsivantes, incluindo lamotrigina (BREUER et al., 2007; CIANCHETTI et al., 1999; SILVER et al., 2007), levetiracetam (FALAH et al., 2012; ROSSI et al., 2009) e topiramato (D'ALEO et al., 2001) para o alívio da DN persistente ou paroxística (não trigeminal) associada à EM foi avaliada em vários

pequenos estudos clínicos. Em cada um desses ensaios clínicos, ocorreu alívio da dor incompleto ou tolerabilidade limitada.

Desde a descoberta do sistema canabinoide endógeno e a identificação dos receptores CB1 e CB2 que são expressos predominantemente no SNC e nas células imunes periféricas, respectivamente, os canabinoides têm sido investigados quanto à eficácia na DN (RICE, 2008). Embora tenha sido demonstrada a eficácia do canabinoide no alívio relacionado à EM (PETERS et al., 2007; ROG et al., 2005; ROG; NURMIKKO; YOUNG, 2007; SVENDSEN; JENSEN; BACH, 2004, 2005), houve muitos efeitos adversos relacionados ao tratamento, incluindo tontura, boca seca, dor de cabeça, cansaço ou fraqueza muscular (ROG; NURMIKKO; YOUNG, 2007; SVENDSEN; JENSEN; BACH, 2004). Além disso, a preocupação com os riscos de psicose aguda e uso indevido de cannabis associados ao seu uso terapêutico (RICE, 2008) restringiu esses agentes a medicamentos de segunda ou terceira linha para o tratamento da DN associada à EM (ATTAL et al., 2010; DWORKIN et al., 2007, 2010).

Dessa forma, existe a necessidade de busca por novas terapias para o gerenciamento da DNC. E uma forma de desenvolver novos fármacos é usar modelos de EM para a investigação dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos no curso da doença clínica da EM (GOLD; LININGTON; LASSMANN, 2006). A EAE pode ser induzida em uma variedade de espécies, incluindo ratos, porquinhos-da-índia, macacos e camundongos por imunização através de diversas proteínas de mielina ou seus componentes encefalitogênicos sintéticos, como a MOG, a proteína básica de mielina (PBM) e o proteolípido (PLP) (BAXTER, 2007). As características histopatológicas e o fenótipo da doença reproduzidas por cada modelo de EAE dependem do protocolo de imunização utilizado, da espécie animal e do tipo de antígeno de mielina específico (CONSTANTINESCU et al., 2011; GOLD; LININGTON; LASSMANN, 2006). As características distintas da EM reproduzidas por vários modelos de EAE em roedores são importantes para a investigação de novos tratamentos direcionados a um fenótipo específico da EM (GOLD; LININGTON; LASSMANN, 2006; SIMMONS et al., 2013).

Dessa forma, a EAE do tipo progressiva (EMP-EAE) é induzida em camundongos da linhagem C57BL/6 por imunização utilizando a MOG₃₅₋₅₅, emulsionada com adjuvante completo de Freund (ACF) (CONSTANTINESCU et al., 2011). Assim, neste modelo EMP-EAE é reproduzido características apresentadas por pacientes com EMP como padrão do curso clínico da doença, lesões

histopatológicas no SNC com infiltração de células mononucleares, gliose, desmielinização e dano axonal (SCHREINER; HEPPNER; BECHER, 2009). Além disso, são reproduzidos comportamentos nociceptivos nas extremidades inferiores, cauda e patas traseiras, reproduzindo a dor predominantemente nos membros inferiores como relatado por pacientes com EM, com a presença de hiperalgesia térmica, alodinia ao frio e mecânica (OLECHOWSKI; TRUONG; KERR, 2009a; SVENDSEN et al., 2005). Dessa forma, é possível identificar potenciais alvos para a descoberta de novos analgésicos a fim de melhorar o alívio da DCN usando este modelo de EMP-EAE em camundongos (KHAN; SMITH, 2014).

Hipotetiza-se que a neuroinflamação nas lesões da EMP geram espécies reativas que poderiam ativar o TRPA1 levando a produção de respostas dolorosas no modelo de EMP-EAE.

3 MANUSCRITO CIENTÍFICO

Nociception in a progressive multiple sclerosis model in mice is dependent on spinal TRPA1 channel activation

Camila Ritter^a, Diéssica Padilha Dalenogare^a, Amanda Spring de Almeida^a, Vitória Loreto Pereira^a, Gabriele Cheiran Pereira^a, Maria Fernanda Pessano Fialho^b, Débora Denardin Lückemeyer^c, Caren Tatiane Antoniazzi^a, Sabrina Qader Kudsia^a, Juliano Ferreira^c, Sara Marchesan Oliveira^b, Gabriela Trevisan^{a,*}.

^aGraduated Program in Pharmacology, Federal University of Santa Maria (UFSM), 97105-900 Santa Maria (RS), Brazil.

^bGraduated Program in Biological Sciences: Toxicological Biochemistry, Federal University of Santa Maria (UFSM), 97105-900 Santa Maria (RS), Brazil.

^cGraduated Program in Pharmacology, Federal University of Santa Catarina (UFSC), 88040-900 Florianópolis (SC), Brazil.

*Corresponding author: Gabriela Trevisan, Graduate Program in Pharmacology, Federal University of Santa Maria (UFSM), Avenida Roraima, 1000, building 21, room 5207, Zip code: 97105-900 Santa Maria (RS), Brazil, Phone: +55 55 32208976, Email: gabrielatrevisansantos@gmail.com.

ABSTRACT

Central neuropathic pain is a common untreated symptom in progressive multiple sclerosis (PMS) and is associated with poor quality of life and interference with patients' daily activities. The neuroinflammation process and mitochondrial dysfunction in the PMS lesions generate reactive species. The transient potential receptor ankyrin 1 (TRPA1) has been identified as one of the major mechanisms that contribute to neuropathic pain signaling and can be activated by reactive compounds. Thus, the goal of our study was to evaluate the role of spinal TRPA1 in the central neuropathic pain observed in a PMS model in mice. We used C57BL/6 female mice (20-30 g) and the PMS model was induced by the experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) using mouse myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG₃₅₋₅₅) antigen and CFA (complete Freund's adjuvant). Mice developed progressive clinical score, with motor impairment observed after 15 days of induction. This model induced mechanical and cold allodynia, and heat hyperalgesia which were measured up to 14 days after induction. The hypersensitivity observed was reduced by the administration of selective TRPA1 antagonists (HC-030031 and A-967079, via intrathecal and intragastric), antioxidants (α -lipoic acid and apocynin, via intrathecal and intragastric), and TRPA1 antisense oligonucleotide (via intrathecal). We also observed an increase in TRPA1 mRNA levels, NADPH oxidase activity, and 4-hydroxynonenal (a TRPA1 agonist) levels in spinal cord samples of PMS-EAE induced animals. In conclusion, these results support the hypothesis of the TRPA1 receptor involvement in nociception observed in a PMS-EAE model in mice.

KEYWORDS: Central neuropathic pain; 4-HNE; NADPH oxidase; EAE; HC 030031; A-967079.

1. Introduction

Multiple sclerosis (MS) is a chronic autoimmune disease affecting the central nervous system (CNS), characterized by demyelination, axonal degeneration, and gray matter damage [1]. The disease course is usually episodic, with relapsing-remitting phases (RRMS), but MS may present in a variant called progressive MS (PMS), where about 15% of patients develop the progressive type since the onset of the disease, called primary PMS. Besides that, about 70% of MS patients, after 10 to 15 years for the initial RRMS course, develop PMS. Thus, it is known that at least 1.3 million people has PMS worldwide [2]. In addition, studies show that MS is found to be more prevalent in women than in men [3].

Patients with MS usually present visual, motor and sensory deficits, and central neuropathic pain (CNP), which lead to a reduction in the quality of life of these individuals [4, 5]. Pain is the main clinical symptom of MS affecting more than a half of patients and it is composed of a variety of pain syndromes [6]. Thus, almost 30% of the medications used to relieve MS symptoms are focused on pain control; but patient satisfaction with pain management is generally reduced or patients report intolerable adverse effects [7, 8]. Therefore, experimental studies that seek new therapies to control CNP in MS are important. The PMS experimental animal model most commonly used is experimental autoimmune encephalomyelitis (PMS-EAE), which presents similar features to those of human pathology (neural damage, neuroinflammation, and demyelination) [9–11].

Also, after induction of the PMS-EAE model, mice develop hypersensitivity, such as mechanical and cold allodynia, or heat hyperalgesia [12–14]. This is in accordance with other studies that have shown that patients with MS present mechanical and cold allodynia [15], and heat hyperalgesia as relevant symptoms of CNP [15–18]. The neuroinflammation and mitochondrial dysfunction in the PMS lesions was able to produce reactive species, which can activate nociceptors and cause painful responses [19]. Also, the treatment using antioxidants showed antinociceptive effect in a MS mouse model [20]. Thus, probably ion channels could be activated by reactive compounds causing nociception, but the exact mechanism that leads to hypersensitivity was not evaluated so far.

The transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) is a non-selective ion channel expressed in nociceptors in the peripheral or in the CNS [21, 22]. Some studies indicate that TRPA1 activation occurs by exogenous agonists, such as allyl

isothiocyanate (AITC, found in mustard oil) and cinnamaldehyde (the pungent ingredient in cinnamon) [23], or by endogenous reactive compounds, including hydrogen peroxide and 4-hydroxynonenal (4-HNE) [24, 25]. The role of TRPA1 has been described in different models of neuropathic pain (NP) caused by trauma in peripheral nerves, diabetic neuropathy, and peripheral neuropathy following chemotherapy [26–32]. Also, the involvement of TRPA1 activation has been related to neuroinflammation in a model of demyelination induced by cuprizone in mice, but these studies did not investigate the role of TRPA1 in nociception [33, 34]. However, it is still unclear if TRPA1 activation is involved in the maintenance of CNP caused by PMS. In this sense, the goal of our study was to evaluate the role of spinal TRPA1 in the CNP observed in a PMS-EAE model in mice.

2. Methods

2.1 Animals

The experiments were carried out using adult C57BL/6 female mice (20-30 g, 10-12-week-old). Animals were bred in our animal house and housed 5-10 per cage, with wood shaving bedding and nesting material. Mice had free access to standard animal food (Puro Lab 22 PB pelleted form, Puro Trato, Santo Augusto, RS, Brazil) and tap water. The room temperature (22 ± 1 °C) and humidity level (55–65 %) were controlled, and the illumination maintained on a 12-h light/dark cycle (lights on from 7:00 A.M. to 7:00 P.M.). The experimental procedures were approved by the Ethics Committee on Animal Use of UFSM and were carried out in accordance with Brazilian Animal Welfare Standards (protocol #7218010817/2017). The experimental protocols followed the guidelines of Animal Research Reporting In Vivo Experiments (ARRIVE) [35]. Also, experiments were performed using the current ethical guidelines for the investigation of experimental pain in conscious animals, and the minimum necessary number of animals and the intensity of noxious stimuli were used to demonstrate the consistent effects of the treatments [36]. All measurements were always performed by the same experimenter and blinded to drug administration or the group (control or PMS-EAE) to be tested. In addition, control animals were used for sampling, all animals were euthanized using thiopental (200 mg/kg, intraperitoneal, i.p.). No animals or samples needed to be excluded from the study.

2.2 Reagents

Pertussis toxin, pregabalin, HC-030031, A-967079, metamizole, propyphenazone were obtained from Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). *Mycobacterium tuberculosis* extract H37Ra was acquired from Difco Laboratories (Detroit, MI, USA). Mouse myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG₃₅₋₅₅) was synthesized by EZBiolab (Carmel, CA, USA). TRPA1 antisense oligonucleotide (TRPA1 AS ODN; 5' TCTATGCGGTTATGTTGG 3') and its mismatch (TRPA1 MM ODN; 5' ACTACTACACTAGACTAC 3') were acquired from Síntese Biotecnologia (Ribeirão Preto, SP, Brazil). Thiopental was acquired from Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos (São Paulo, SP, Brazil).

2.3 PMS-EAE model induction

The PMS-EAE model was induced according to previously described [37, 38]. For this, the mice were immunized through the subcutaneous route on both flanks with 200 µg of MOG₃₅₋₅₅ dissolved in phosphate-buffered saline and emulsified with an equal volume of complete Freund's adjuvant oil supplemented with 400 µg of *Mycobacterium tuberculosis* extract H37Ra. After induction, all animals received 300 ng of pertussis toxin (i.p.) and a booster 48 h after. Non-immunized animals (controls) did not receive the solution containing MOG₃₅₋₅₅.

Mice were weighed to determinate body weight (animals with a loss of 20% of the initial weight were euthanized), this measure was used as a parameter of general health as described before [39]. The body weight was assessed before or on different days (3, 5, 7, 9, 11, 13, 14, 15, and 17) post-induction (p.i.) of PMS-EAE model or in control animals. However, all induced animals did not have significant weight loss, then we do not need to exclude any animals.

2.4 Assessment of clinical signs of PMS-EAE model

The clinical signs of PMS-EAE model were measured using a clinical scale that evaluated the neurological impairment using scores [13]. Then, animals were assessed using this scale: grade 0, normal mouse; grade 1, flaccid tail (disease onset); grade 2, mild hindlimb weakness with quick righting reflex; grade 3; severe hindlimb weakness with slow righting reflex; grade 4, hindlimb paralysis in one hindlimb or both. Mice were monitored on different days after PMS-EAE model p.i. (3-17 days) for the assessment of the clinical signs.

2.5 Grip strength test

The purpose of this essay is to quantify the strength of the animal's front and hind paws, which may be compromised by the neurological deficits caused by PMS-EAE model. Then, the grip strength test was performed with a pre-tension force gauge (Bonther, Ribeirão Preto, SP, Brazil), as previously described [40, 41]. The test is performed by holding the tail of the mouse to position its four legs in a grid of the device itself. After the animal has had this task, it must be pulled gently until all the legs are released. Then a reading of the grip strength of the mouse was obtained. The measurement was repeated 3 times per animal, taking about 10 min to be performed, as the animal should rest between each repetition. The strength of the mean was described for each mouse. The animals were trained for two days before induction, the test was performed on different days after PMS-EAE model p.i. (3-17 days) or in control animals.

2.6 Rotarod testing

To confirm the absence of motor impairment in PMS-EAE model mice at nociceptive peak day (day 14) the rotarod test (Insight, Ribeirão Preto, SP, Brazil) was performed. Animals were trained for two days prior to induction, the test was performed on days 3, 5, 7, 9, 11, 13, 14, 15, and 17 after PMS-EAE model p.i. or in control animals, animals were placed on the spinning cylinder for 180 s in a fixed speed of 16 rpm [42].

Animal exclusion criteria were established where animals with a clinical grade ≥ 2 or who did not remain 180 s on the rotarod would be removed from the study [44]. In addition, animals that did not develop score 1 on the day of nociceptive testing (day 14 after the PMS-EAE p.i. model) would not be used in this study [37]. However, all induced animals developed clinical scores 1 (not exceeding this value) and did not achieve a fall in the rotarod test. Therefore, we do not need to exclude any animals from the study.

2.7 Nociceptive tests

All nociceptive measurements were performed on the same animal, where the first test performed was the Von Frey test, followed by the acetone test and later the hot plate test, in order to reduce the number of animals used in the study.

2.7.1 Von Frey test

To assess the development of mechanical allodynia, the mice were individually placed in transparent boxes on elevated wire mesh platforms allowing easy access to the right hind paw bottom. Filaments of different stiffness were applied to the plantar surface of the hind paw, ranging from 0.07 to 2.0 g (0.07, 0.16, 0.40, 0.60, 1.0, 1.4 and 2.0 g). The mechanical threshold was obtained according to the up-and-down paradigm [45, 46]. This paradigm continued for a total of six measurements, or until four consecutive positive or four consecutive negative responses occurrence. Thus, the mechanical paw withdrawal threshold (in g) response was calculated from the resulting response [47]. The animals were acclimatized for 60 min prior to the test and, to determine the baseline thresholds, all animals were evaluated prior to induction of PMS-EAE model (baseline values). Also, the mechanical threshold was evaluated on days 3, 5, 7, 9, 11, 13, and 14 PMS-EAE model p.i. or in control animals. Moreover, mechanical threshold was measured before induction, 14 days after (time 0) PMS-EAE model p.i. or 1 to 3 h after treatments for intragastric (i.g) administrations, and 0.5 to 2 h after intrathecal (i.t.) injection.

2.7.2 Cold allodynia

The acetone test was used to evaluate cold allodynia. The mice were placed in transparent boxes on an elevated wire mesh platform and acclimatized for 60 min. To determine the baseline threshold, the animals were tested prior to immunization. The technique consisted of applying 20 μ l of acetone to the plantar surface of the right hind paw. The time the animal spent lifting, licking or wagging the paw for 60 s was counted [27, 31, 48]. Cold thermal allodynia was evaluated before PMS-EAE model p.i. and at days 3, 5, 7, 9, 11, 13, 14 p.i. Nociceptive time to acetone was also measured 14 days after (time 0) PMS-EAE model p.i. or 1 to 3 h after treatments for i.g. administrations and 0.5 to 2 h after i.t. injection.

2.7.3 Hot-plate test

The hypersensitivity to heat stimuli was detected by the latency to remove paws from a heated platform. Each mouse was placed on the heated metal plate with temperature fixed at 50 °C (\pm 0.1 °C) within the retaining acrylic cylinder. The cut-off time was 30 s to prevent any injury to the paw tissues [49]. Latency to noxious heat stimuli was evaluated before PMS-EAE model induction and at days 3, 5, 7, 9, 11, 13,

and 14 PMS-EAE model p.i. Moreover, the nociceptive time to noxious heat was measured after 14 days (time 0) of PMS-EAE model p.i. or 1 to 3 h after treatments for i.g. administrations and 0.5 to 2 h after i.t. injection.

2.8 Treatment protocols

To determine if a drug widely used clinically in the treatment of pain in patients with PMS has antinociceptive effect in an animal model of the disease, pregabalin (60 mg/kg/10 mL) was administered orally by i.g. administration [50]. The specific TRPA1 antagonists HC-030031 and A-967079 (300 mg/kg/10 mL and 100 mg/kg/10 mL, respectively, i.g.) were also used [51]. In addition, animals were i.g. treated with metamizole (100 mg/kg/10 mL) or propyphenazone (100 mg/kg/10 mL), because these compounds are clinical analgesic that can antagonize the TRPA1 channel [52]. Also, animals receive a systemic treatment with α -lipoic acid (sequestrant of reactive species, 100 mg/kg/10 mL, i.g.) or apocynin (100 mg/kg/10 mL, i.g., an NADPH oxidase inhibitor) [27]. Animals were also administered with vehicle (dimethyl sulfoxide, DMSO, 1% in isotonic saline 0.9%, i.g.). Thus, all administrations i.g. were performed in a volume of 10 mL/kg.

In a different set of experiments, the animals were given i.t. (5 μ L) administration of TRPA1 antisense oligonucleotide (TRPA1 AS ODN; 5' TCTATGCGGTTATGTTGG 3'; 2.5 nmol/site) or its mismatch (TRPA1 MM ODN; 5' ACTACTACACTAGACTAC 3'; 2.5 nmol/site), every 12 h for 3 consecutive days before nociceptive peak day (day 14) [53]. In addition, the animals were treated with HC-030031 (10 μ g/site, i.t.) [54]. Mice were also injected i.t. with α -lipoic acid (10 μ g/site) or apocynin (10 μ g/site), the doses were selected based on previous results of our research group. For all administrations i.t. the intervertebral space between L5 and L6 was punctured using a 28 gauge needle attached to a Hamilton micro syringe, and a total volume of 5 μ L was injected into an unaesthetized mouse [55, 56].

2.9 Assessment of the activity of NADPH oxidase

The NADPH oxidase activity in the spinal cord (L4-L6) samples was evaluated 14 days after PMS-EAE model p.i. or in control animals. The NADPH oxidase activity was observed in samples using an appropriate assay kit (CY0100, cytochrome c reductase, NADPH Sigma-Aldrich, Milan, Italy). Briefly, spinal cord samples were homogenized in 50 mM phosphate buffer (pH 7.4) and centrifuged at 3,000xg for 10

min at 4 ° C. The final supernatant was used to determine NADPH activity. The activity of NADPH oxidase was expressed in U/mL/mg of protein.

2.10 Detection of 4-HNE level

The concentration of 4-HNE was analyzed in the spinal cord (L4-L6) samples, 14 days after PMS-EAE model p.i. or its control. The 4-HNE content was analyzed using OxiSelect™ HNE adduct Competitive Elisa kit, in the same samples that were homogenized according to kit specifications and measured by spectrophotometry [27]. The levels of 4-HNE are expressed as 4-HNE per mg of protein.

2.11. Reverse Transcription-Quantitative Real Time PCR (RT-qPCR)

Total tissue RNA was isolated with Trizol (Life Technologies) based on the manufacturer's protocol and quantified using a Nanodrop ND-1000. CDNA was synthesized from 300 ng dorsal root ganglion (DRG) and 500 ng spinal cord (L4-L6), of RNA treated with DNase (RNase-free, Invitrogen) using High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems). Quantification of specific products was done using Power SYBR™ Green PCR Master Mix (Applied Biosystems), and double-stranded products were amplified using specific primers for TRPA1 (Table 1) in a StepOne™ equipment (Applied Biosystems) with the following protocol: 10 min 95 °C, (15 s 95 °C, 1 min 60 °C)x40 cycles. A final step was included to obtain the dissociation curve (15 s at 95 °C, 1 min at 60 °C, 15 s at 95 °C). The Cq values were normalized using the average of two reference genes, hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase (Hprt) and β -actin (Actb). Relative amounts were calculated using the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. Primer specificity in all samples was confirmed by single peak performances of PCR products in melt curve analysis [57].

Table 1: List of forward and reverse primers used in RT-qPCR assays and their respective sequences (5'–3').

Gene	Sequence Forward (5'→3')	Sequence Reverse (5'→3')
<i>Trpa1</i>	GCTTTTGGCCTCAGCTTT	CTCGATAATTGATGTCTCCTA GCA

<i>Hprt</i>	GCAAACCTTTGCTTTCCCTGG	CAACAACAAACTTGTCTGGA
<i>Actb</i>	CATTGCTGACAGGATGCAGA AGG	TGCTGGAAGGTGGACAGTGA GG

2.12 Statistical analyzes

Data were expressed as mean \pm standard error mean (S.E.M) of the mean and analyzed statistically by Student's t-test, one-way or two-way ANOVA according to the experimental protocol, followed by Bonferroni post-test when appropriate. The I_{max} was calculated using the following formula: $100 \times (\text{h post treatment} - \text{mean of basal post induction}) / (\text{basal post induction mean} - \text{basal post induction mean})$. The individual values were inserted as column statistic in Prisma GraphPad® and calculate the mean of these values. To meet parametric assumptions, data of mechanical threshold scores were log transformed before analyses. Differences among groups were considered significant when P values were less than 0.05 ($P < 0.05$), using the GraphPad Prism 6.0 software.

3. Results

3.1 The induction of the PMS-EAE model in mice caused clinical signs of disease, locomotor and plantar grip strength alterations

Animals induced with PMS-EAE showed increased clinical signs of disease on days 13, 14, 15 and 17 p.i. of PMS-EAE model (Figure 1A). The locomotor deficit was found on days 15 and 17 p.i. of PMS-EAE model on the rotarod test (Figure 1B). While the grip strength of the paw was reduced on days 9, 11, 13, 14, 15, and 17 p.i. of PMS-EAE model (Figure 1C). Regarding the body weight measurement, assessed between days 3 and 17 p.i., a significant reduction was observed between the PMS-EAE group and the control group only on day 17 p.i. (Figure 1D).

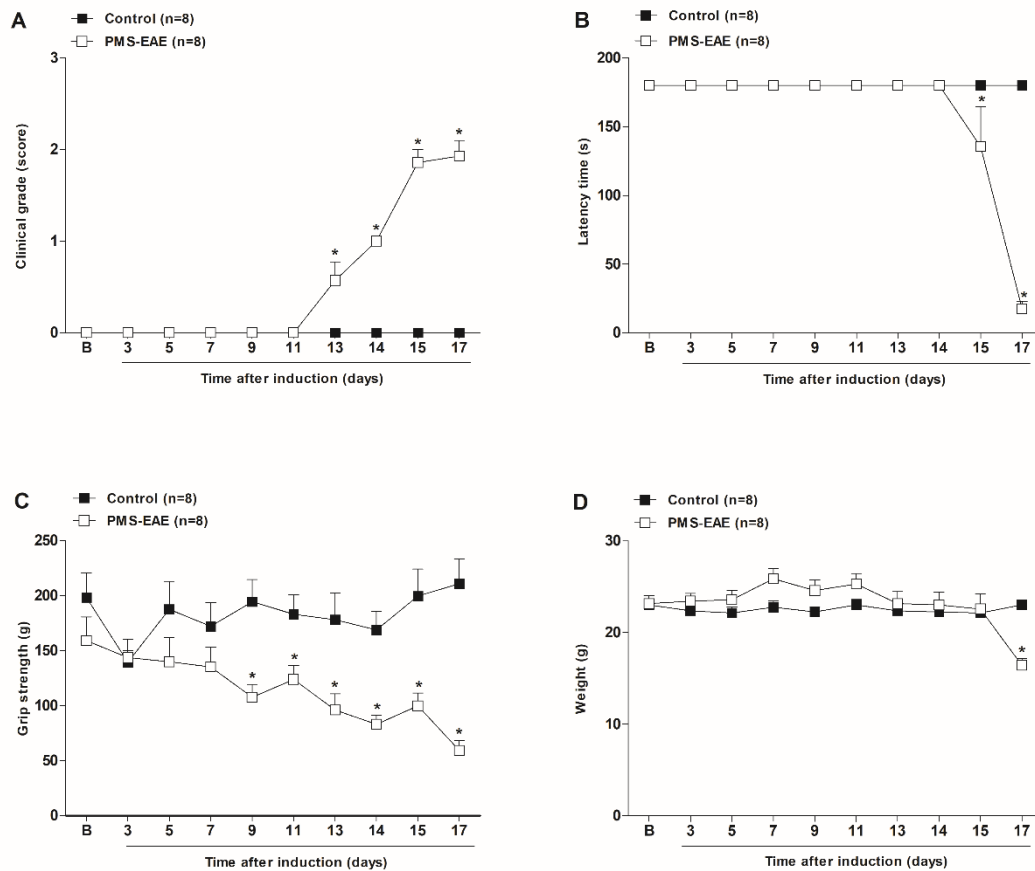


Fig. 1. The induction of a PMS-EAE (progressive multiple sclerosis model induced by experimental autoimmune encephalomyelitis) model in mice led to clinical signs of disease, locomotor and plantar grip strength changes. (A) Measurement of clinical score, (B) latency time for fall measured by rotarod test, (C) grip strength plantar test, (D) weight of the animals after the PMS-EAE model induction or control animals. Baseline measurements (described as B in the graph) were taken before PMS-EAE model induction. Data are expressed as mean + S.E.M. (n = 8) in the graphs. * P < 0.05, when compared to the control group or baseline values [Two-way ANOVA, followed by Bonferroni's post hoc test].

3.2 Mice showed mechanical/cold allodynia and heat hyperalgesia after PMS-EAE model induction

PMS-EAE model caused mechanical allodynia from day 5 to 14 p.i. (Figure 2A). Also, on days 9, 11, 13 and 14 p.i. animals presented cold allodynia (Figure 2B).

Moreover, there was a significant increase in the latency to noxious heat at days 3, 7, 9, 11, 13 and 14 p.i. of PMS-EAE model (Figure 2C). The animals presented a maximal nociceptive response with no motor alteration at day 14 p.i. of PMS-EAE model, then this was the day chosen to measure the antinociceptive effect of treatments.

Systemic administration of pregabalin (60 mg/kg/10 mL) caused an antiallodynic and antihyperalgesic effect. Pregabalin i.g. administration reduced mechanical and cold allodynia induced by PMS-EAE model at 1 and 2 h post-dose, with maximal inhibition (I_{max}) of 100% for both measurements at 1 h after its administration (Figure 2D and 2E). A similar effect was detected for thermal hyperalgesia, which was reduced by this compound, presenting effect at 1 and 2 h after treatment, with an I_{max} of $77 \pm 7\%$ at 2 h after its administration (Figure 2F).

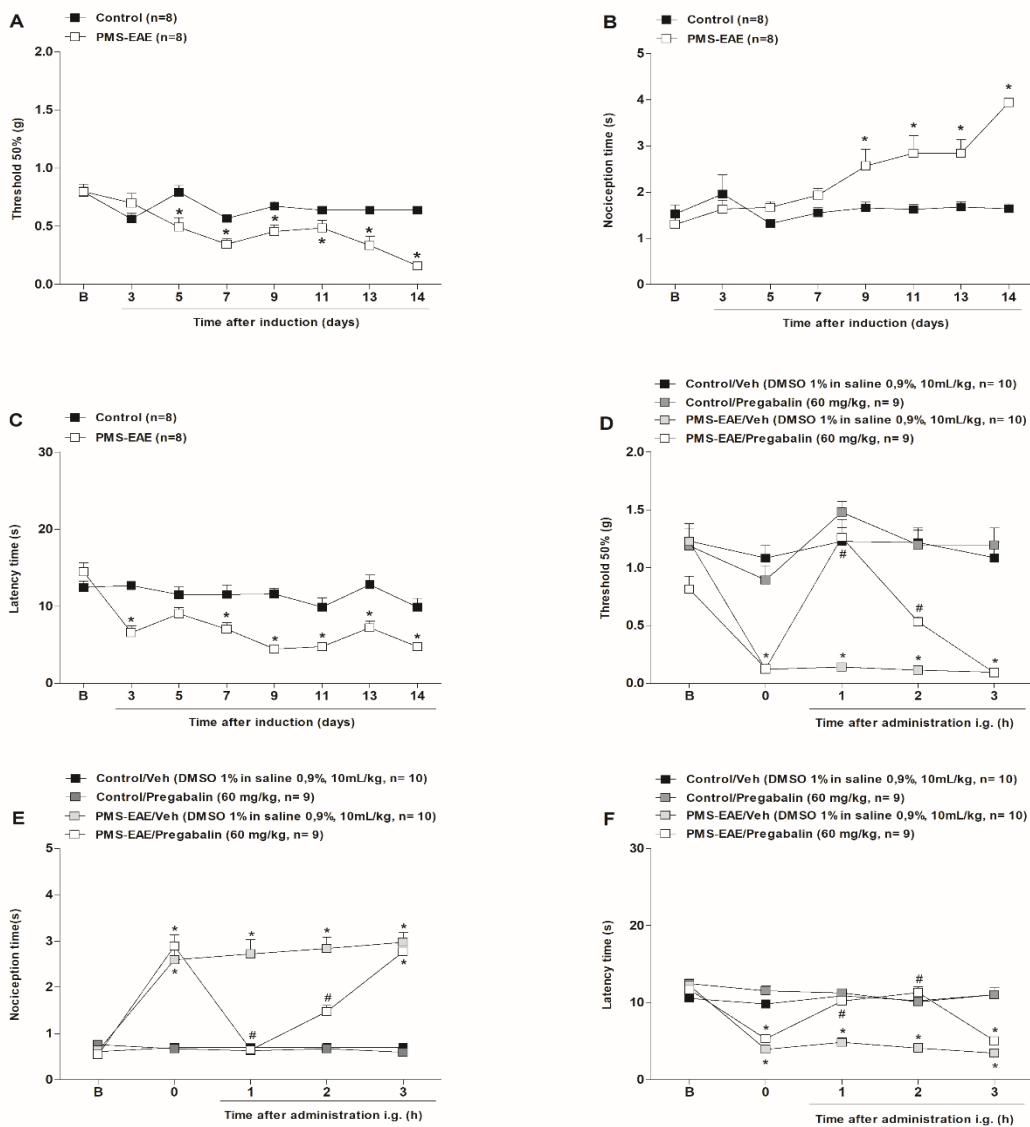


Fig 2. A PMS-EAE (progressive multiple sclerosis model induced by is experimental autoimmune encephalomyelitis) model in mice caused mechanical and cold allodynia, and heat hyperalgesia and pregabalin administration reduced the hypersensitivity in this model. (A) mechanical and (B) cold and (C) heat hypersensitivity were detected from day 3 to 14 after PMS-EAE model induction, and baseline measurements (described as B in the graph) were assessed before induction. The administration intragastric (i.g.) of pregabalin (60 mg/kg/10 mL), at day 14 post-induction (p.i.) reduced the (D) mechanical and (E) cold allodynia, and (F) heat hyperalgesia generated by the PMS-EAE model. (A, D) Change in mechanical threshold determined using von Frey filaments (B, E) nociceptive time reaction to the acetone test. (C, F) nociceptive time reaction to the hot plate test. Data are expressed as mean + S.E.M. (n = 8-10) in the graphs. * P <0.05, when compared to the control group or baseline values; and # P <0.05 when compared to PMS-EAE vehicle-treated group [Two-way ANOVA, followed by Bonferroni's post hoc test].

3.3 TRPA1 antagonists showed antinociceptive effect in a model of PMS-EAE in mice

Systemic administration of different TRPA1 receptor antagonists, HC-030031 (300 mg/kg/10 mL, i.g.), A-967079 (100 mg/kg/10 mL, i.g.), propyphenazone (100 mg/kg/10 mL, i.g.) or metamizole (100 mg/kg/10 mL, i.g.) induced an antinociceptive effect (Figure 3). All drugs presented antiallodynic effect on mechanical and cold allodynia and antihyperalgesic effect to noxious heat.

HC-030031 and A-967079 reduced mechanical allodynia, cold and heat hyperalgesia from 1 to 2 h after i.g. administration. The calculated I_{max} values were 71 ± 15 and $39 \pm 19\%$ for the mechanical threshold reduction at 1 h (Figure 3A), for HC-030031 and A-967079 respectively. Moreover, both compounds showed a 100% I_{max} for cold allodynia at 1 h (Figure 3B). Also, the I_{max} effect for heat hyperalgesia was 67 ± 16 and $93 \pm 21\%$ at 1 h (Figure 3C), respectively. The effect of propyphenazone and metamizole on mechanical allodynia, cold allodynia and heat hyperalgesia occurred from 1 to 2 h after administration. On mechanical allodynia the I_{max} was $87 \pm 4\%$ and 100% at 1h for propyphenazone and metamizole respectively (Figure 3D), while the cold allodynia I_{max} of 100% was obtained at 1 h for both drugs (Figure 3E). Thermal

hyperalgesia I_{max} was $93 \pm 15\%$ and $56 \pm 11\%$ (Figure 3F), 1 h after administration, respectively.

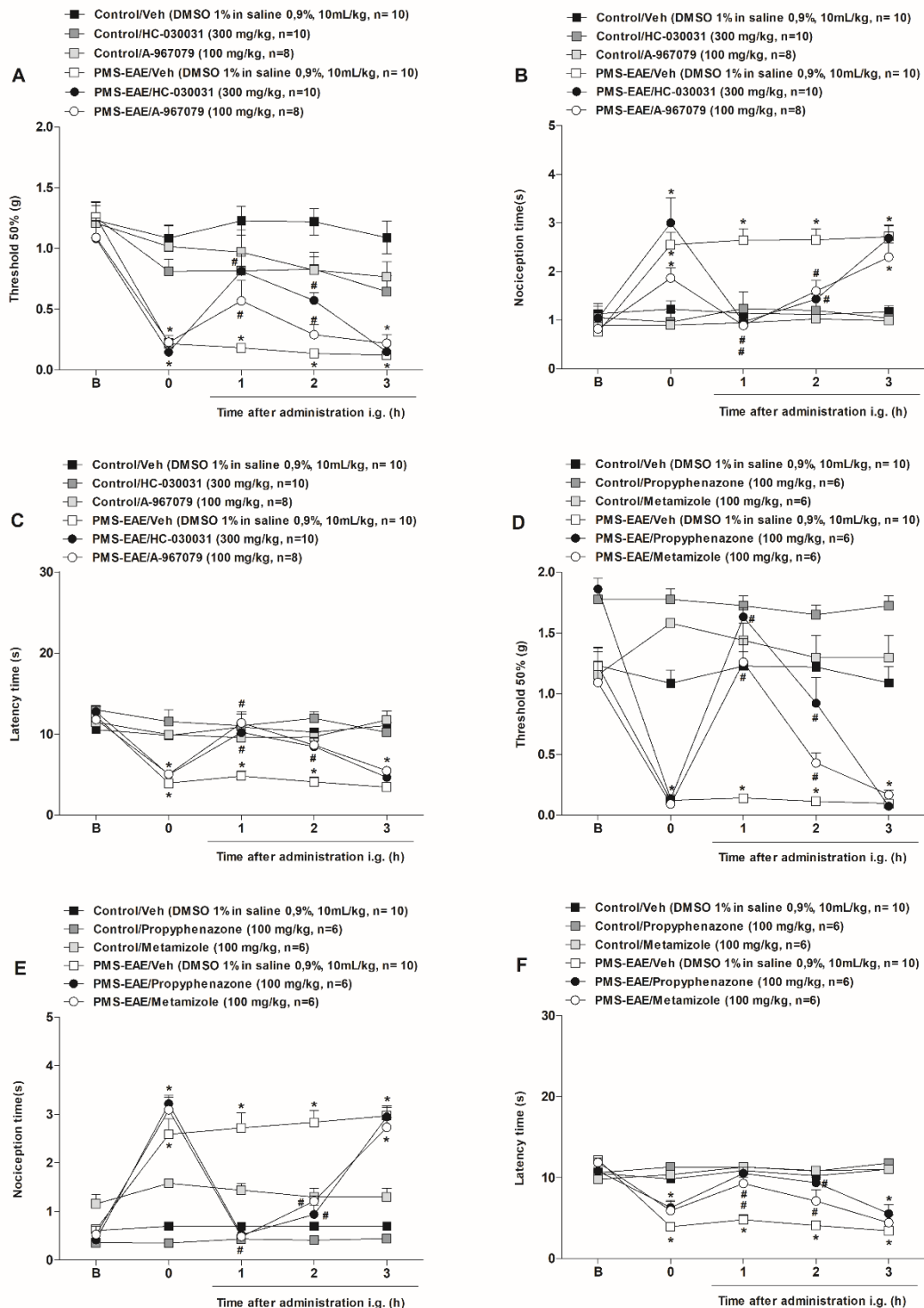


Fig 3. The administration of different TRPA1 antagonists reduced nociception caused by a PMS-EAE (progressive multiple sclerosis model induced by is experimental autoimmune encephalomyelitis) model in mice. (A, D) Mechanical and (B, E) cold

allodynia, and (C, F) heat hyperalgesia measurements. Drugs were administered on day 14 post-induction (p.i.), and the antinociceptive effects were observed from 1 to 3 h after intragastric (i.g.) treatment with TRPA1 antagonists (HC-030031, 300 mg/kg/10 mL; A-967079, 100 mg/kg/10 mL; propyphenazone, 100 mg/kg/10 mL; and metamizole, 100 mg/kg/10 mL). Data are expressed as mean + S.E.M. (n = 6-10) in the graphs. * P <0.05, when compared to the control group or baseline values; # P <0.05, when compared to the PMS-EAE vehicle-treated group [Two-way ANOVA, followed by Bonferroni's post hoc test].

3.4 The spinal cord TRPA1 receptor mRNA levels were increased, and i.t. blockage of TRPA1 reduced nociception

RT-qPCR was used to evaluate TRPA1 receptor mRNA levels in spinal and DRG, as shown in Figure 4A, mRNA levels were higher in animals induced with the PSM model compared to the control group in the spinal cord samples. However, we have not observed an increase in mRNA levels to TRPA1 in DRG samples.

Mechanical allodynia, cold allodynia and heat hyperalgesia were reduced at 0.5 and 1 h after HC-030031 administration i.t. In mechanical allodynia, the I_{max} was $94 \pm 5\%$ at 0.5 h (Figure 4B), while a 100% I_{max} was obtained in cold allodynia at 0.5 h (Figure 4C). Also, the heat hyperalgesia I_{max} was $62 \pm 5\%$ (Figure 4D) 0.5 h after HC-030031 administration i.t. Confirming the above results, i.t. administration of TRPA1 AS ODN significantly reduced nociception induced by the PMS-EAE model, showing antiallodynic effect in both mechanical and cold allodynia (Figure 4E and F), and anti-hyperalgesic effect in relation to thermal hyperalgesia (Figure 4G), while i.t. administration of TRPA1 MM ODN had no effect on the nociception induced by the model.

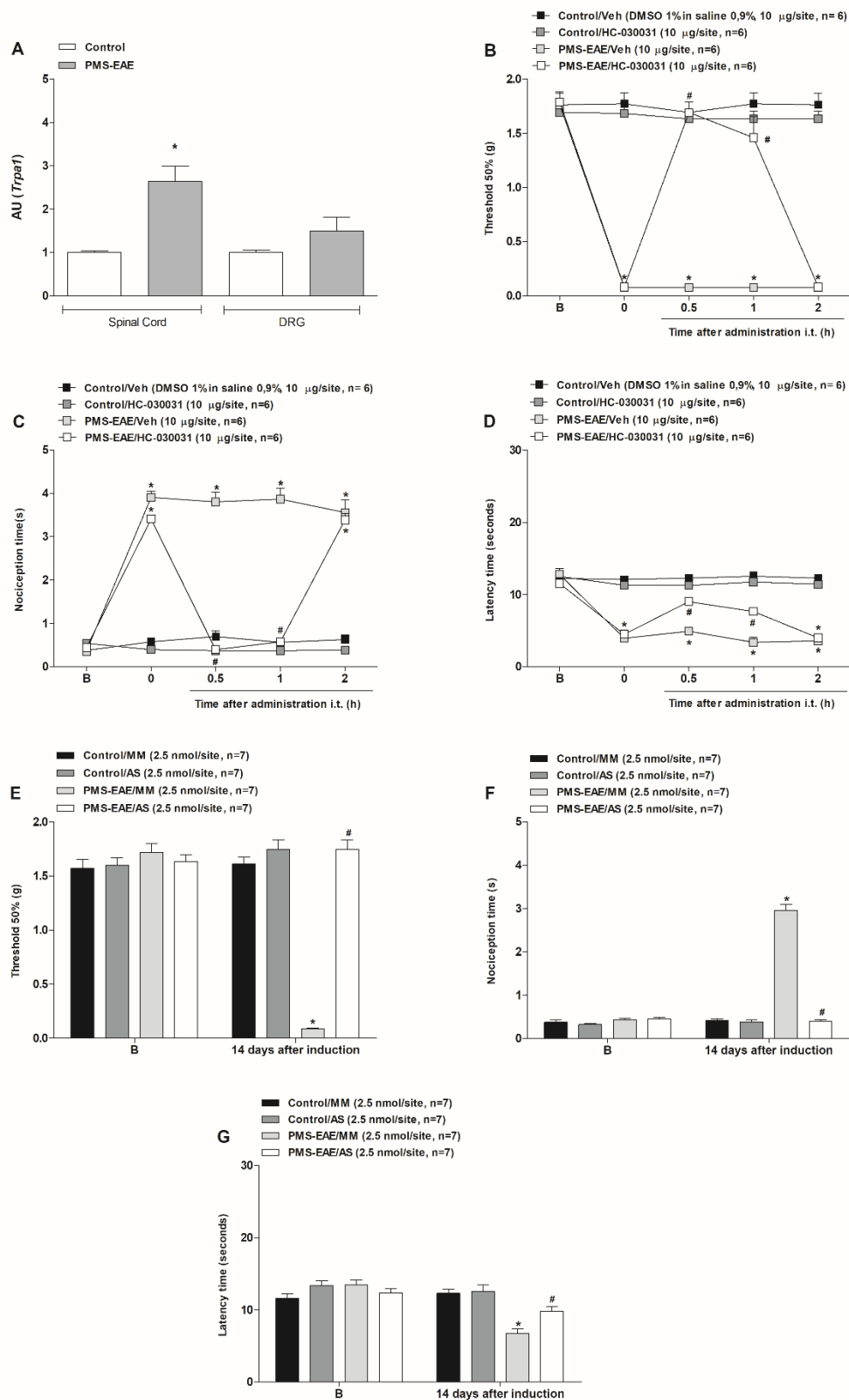


Fig 4. The spinal cord TRPA1 receptor mRNA levels were increased, and intrathecal blockage of TRPA1 reduced nociception in a model of PMS-EAE (progressive multiple sclerosis model induced by is experimental autoimmune encephalomyelitis) in mice.

(A) mRNA levels to TRPA1 in spinal and DRG by RT-qPCR (N=4). * $P < 0.05$ Student "t" test. (B) Mechanical and (C) cold allodynia, or (D) heat hyperalgesia detection after HC-030031 (TRPA1 antagonist, 10 $\mu\text{g}/\text{site}$) intrathecal (i.t.) treatment, it was administered on day 14 post-induction (p.i.) and antinociceptive effects were observed from 0.5 h to 2 h. I.t. administration of AS ODN (antisense oligonucleotide) significantly reduced (E) mechanical and (F) cold allodynia and (G) heat hyperalgesia. Data are expressed as mean + S.E.M. (N = 6-7) in the graphs. * $P < 0.05$ when compared to the control/vehicle group or MM-control; # $P < 0.05$, when compared to the PMS-EAE vehicle-treated group or MM-PMS-EAE group [Two-way ANOVA, followed by Bonferroni post hoc test].

3.5 The induction of experimental autoimmune encephalomyelitis increased the oxidative stress parameters and the antinociceptive effect of α -lipoic acid and apocynin

The NADPH-oxidase activity (Figure 5A) was significantly increased in the spinal cord in PMS-EAE induced animals compared to control mice. Similar results were detected for 4-HNE levels (Figure 5B), where an increase was observed in spinal cord samples on day 14 p.i. of PMS-EAE compared to control mice.

I.g. administration of α -lipoic acid (100 mg/kg/10 mL) and apocynin (100 mg/kg/10 mL) induced an antinociceptive effect in the PMS-EAE model from 1 to 2 h after administration (Figure 5C). The calculated I_{max} values were 77 ± 15 and $73 \pm 14\%$ for mechanical allodynia at 1 h (Figure 5D), for α -lipoic acid and apocynin, respectively. However, for cold allodynia, both compounds presented a 100% I_{max} at 1 h (Figure 5E) and a reduction of heat hyperalgesia was also observed with the I_{max} of 60 ± 7 and $44 \pm 19\%$ at 1 h (Figure 5F), respectively.

Similar effects were observed after i.t. administration of these antioxidant compounds, α -lipoic acid and apocynin, where the animals showed a reduction in nociception observed in the PMS-EAE mouse model. Mechanical allodynia, cold allodynia and heat hyperalgesia were assessed at 0.5, 1 and 2 h after compounds administration, and the best inhibition time was 1 h for α -lipoic and 0.5 h for apocynin in all tests. In mechanical allodynia, I_{max} was $91 \pm 14\%$ and 51 ± 9 , for α -lipoic acid and apocynin, respectively (Figure 5F), in cold allodynia 100% I_{max} was obtained for both drugs (Figure 5G), while in thermal hyperalgesia I_{max} was $86 \pm 19\%$ and $87 \pm 19\%$, respectively (Figure 5H).

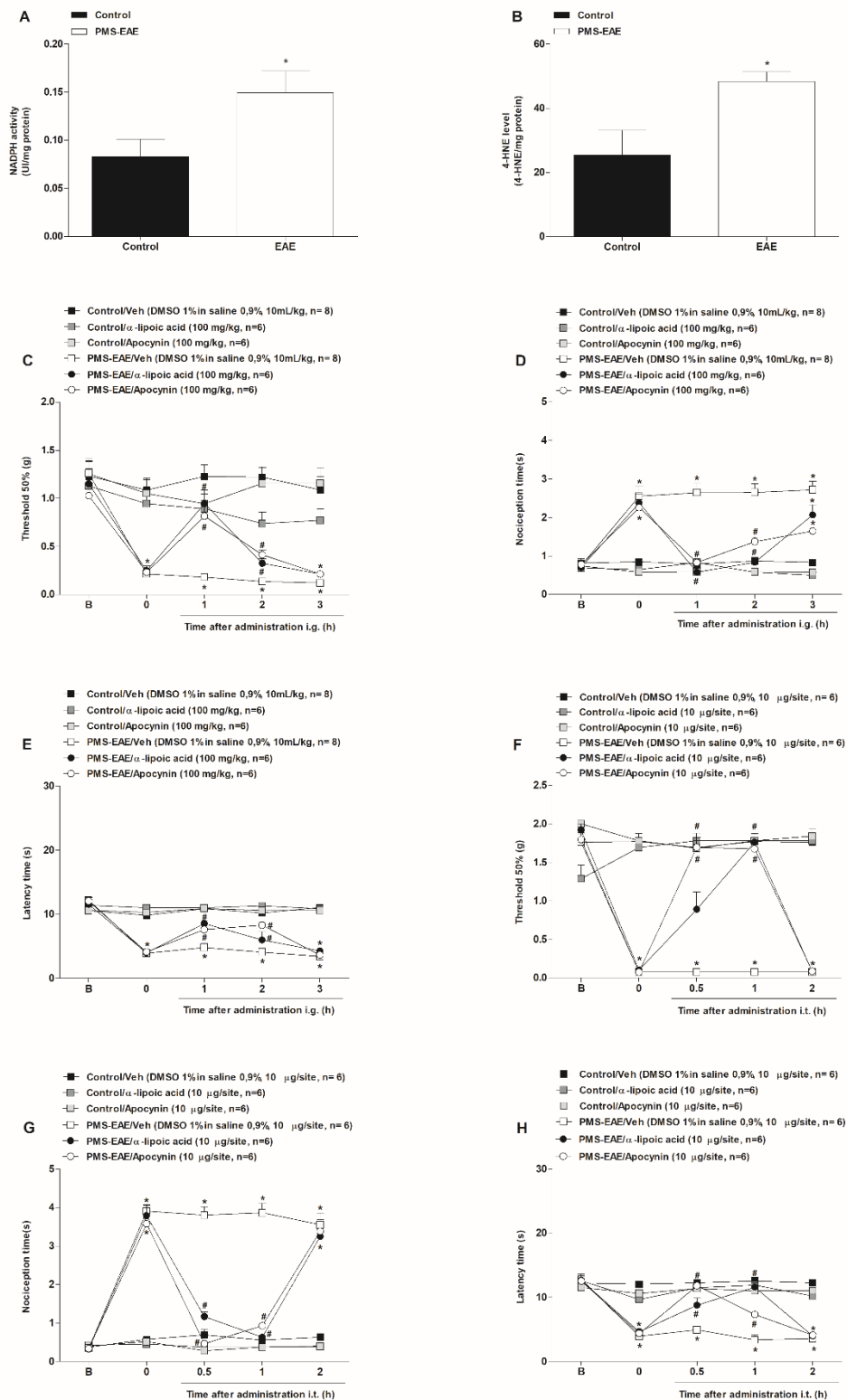


Fig 5. Induction of PMS-EAE (progressive multiple sclerosis model induced by is experimental autoimmune encephalomyelitis) model in mice led to changes in oxidative parameters. (A) NADPH oxidase activity, (B) 4-HNE levels, observed in spinal cord samples on day 14 after PMS-EAE model induction or in control animals. *

$P < 0.05$ Student "t" test ($N=6$). The intragastric (i.g.) or intrathecal (i.t.) administration of antioxidants reduced nociception caused by a progressive model of multiple sclerosis in mice. (C, F) Mechanical and (D, G) cold allodynia, and (E, H) thermal hyperalgesia. The drugs were given on day 14 post-induction (p.i). and the antinociceptive effects were observed from 1 to 3 h after i.g. treatment (α -lipoic acid, 100 mg/kg/10 mL; apocynin, 100 mg/kg/10 mL) and from 0.5 to 2 h after i.t treatment with antioxidants (α -lipoic acid, 10 μ g/site; apocynin, 10 μ g/site). Data are expressed as mean + S.E.M. ($N = 6-8$) in the graphs. * $P < 0.05$ when compared to the control group or basal values; # $P < 0.05$ when compared to the PMS-EAE group treated with the vehicle (veh) [Two-way ANOVA followed by Bonferroni post hoc test].

4. Discussion

CNP is a severe and debilitating symptom in PMS, however, there is few concrete evidence regarding the underlying mechanisms [6]. Also, most of the treatments used to control PMS-induced CNP presents low efficacy or induces adverse effects [7, 8]. In order to elucidate this issue, it is interesting to studied novel targets involved in PMS-induced CNP, such as the TRPA1 channel. The TRPA1 activation is related to the maintenance of NP and neuroinflammation, and this channel is usually activated by oxidative compounds produced in the neuronal lesion site [28, 33]. However, the involvement of TRPA1 in the nociception induced by a model of PMS-EAE was not investigated until now.

Thus, in the current study, we studied the TRPA1 role in the nociception induced by a PMS-EAE model in mice. First, we demonstrated that this model could induce progressive clinical signs of disease, accompanied by motor impairment. Also, 14 days after PMS-EAE model induction we observed the development of mechanical and cold allodynia and heat hyperalgesia. These nociceptive behaviors were decreased by the administration of TRPA1 antagonists (HC-030031 and A-967079), TRPA1 AS ODN, and antioxidants (α -lipoic acid and apocynin) after i.g. or i.t. administration. Moreover, there was an increase in TRPA1 RNA levels in spinal cord samples, followed by the augment of NADPH oxidase activity and 4-HNE levels in spinal cord tissue. Therefore, we detected that TRPA1 spinal activation is necessary to maintain the nociception in this model.

The experimental model of EAE is widely used to study PMS-EAE induced CNP in mice as described before in the literature [37, 38]. This animal model using MOG₃₅-

55 and complete Freund's adjuvant administration has the ability to reproduce similarities of human pathology as clinical scores of disease, motor alterations, and nociception. These characteristics make PMS-EAE a great animal model of demyelination and chronic neuroinflammation, like the characteristics observed in clinical PMS. In addition, several studies have used the EAE model to develop new drugs and to understand the pathogenesis of PMS [11, 58].

In PMS, patients develop advanced motor and sensory deficits, which significantly reduce their quality of life [4, 5]. Consequently, in the EAE model used in this study, we need to observe a progressive impairment of locomotor activity and clinical scores of disease [9, 10]. Here we detected that after 15 days of PMS-EAE model induction mice showed a significant reduction in the latency time to fall from the rotarod apparatus and developed a progressive loss of the grip force. The clinical signs of disease were also increased after 13 p.i. days in mice. These results were similar to those obtained in previous studies showing an increase in the clinical score after 15 days of PMS-EAE model induction, and a reduction in rotarod test latency after 15 days [42]. Thus, we established that for this model of PMS-EAE it would be better to detect the nociception until day 14 p.i. considering that after this period mice develop motor impairment and clinical scores that would abrogate the measurement of nociception.

In PMS patients, the NP is characterized by several symptoms, such as mechanical and cold allodynia [15], in addition to heat hyperalgesia [15–18]. In this study, we showed that the PMS-EAE model induced mechanical allodynia (using the von Frey test), cold allodynia (measured by the acetone test) and heat hyperalgesia (detected by the hot plate test), with the nociceptive peak at 14 days p.i. These results are similar to other studies reporting the development of mechanical and cold allodynia, as well as heat hyperalgesia in mice after PMS-EAE model induction [12, 59].

After confirming that the PMS-EAE model was reproducing the expected NP which characterizes PMS, we tested the antinociceptive effect of a positive control (pregabalin) in this model. Pregabalin is commonly used in clinical practice for NP symptoms treatment in MS, but it is not very effective and can induce severe adverse effects [50, 60]. Here, i.g. pregabalin administration in mice induced an antinociceptive effect for all the nociceptive measures assessed (mechanical and cold allodynia, or heat hyperalgesia). In this view, we showed the predicted validity of this PMS-EAE model in mice. Previously, it was described that pregabalin treatment reduced the

mechanical allodynia in a similar EAE model in mice, but cold allodynia and heat hyperalgesia were not evaluated [61]. As described before, this antiepileptic drug acts reducing nociception by calcium influx inhibition, generating a consequent release of excitatory neurotransmitters in the spinal cord level, by impeding the $\alpha 2\delta$ subunit of voltage-dependent calcium channel trafficking [62]. Given that, calcium influx seems to be an important feature to cause nociception in this model of NP.

The TRPA1 channel is expressed in the sensory nerve terminals in the skin and spinal cord, and it can induce calcium influx and release of glutamate in the spinal cord [63]. Previously, a study using computational drug discovery and data mining methods identified 10 molecules as potent TRPA1 antagonists that could be used for the treatment of multiple sclerosis [64]. However, the possibility of this receptor to be involved in PMS-EAE model induced nociception was not evaluated before. Initially, we described that the i.g. administration of selective TRPA1 antagonists transiently reduced the mechanical and cold allodynia and heat hyperalgesia in this NP model. When comparing the I_{max} of pregabalin with the I_{max} of TRPA1 receptor antagonists (HC-030031 and A-967079), we found that pregabalin had a higher I_{max} than antagonists for mechanical allodynia reduction. However, for cold allodynia measurement the three drugs had the maximum antinociceptive effect (I_{max} of 100%). For the heat hyperalgesia detection only the antagonist A-967079 induced a higher inhibition than pregabalin. However, studies have shown that although pregabalin has an effect on NP, pregabalin generates a variety of adverse effects [65–69], whereas TRPA1 antagonists do not yet have data on the description of adverse effects [69], which, combined with the effects demonstrated in this study, make the TRPA1 a possible target option for the treatment of NP in PMS.

The TRPA1 antagonism reduced the mechanical and cold allodynia development in different models of NP, induced by peripheral nerve trauma or chemotherapeutic-induced peripheral neuropathy [27, 28, 48]. Here, we also detected that this channel antagonism could reduce the heat hyperalgesia detection, and it was already described that TRPA1 spinal or peripheral activation mediates heat hypersensitivity in mice or humans [63, 70–74]. The analgesic effect of metamizole and propyphenazone are probably caused by the reduction of prostaglandin synthesis through inhibition of cyclooxygenase, but this effect is weak when compared to other cyclooxygenase inhibitors and these compounds usually did not induced anti-inflammatory effect [52, 75–77]. Thus, as metamizole and propyphenazone are also

able to function as TRPA1 antagonists [52], we postulated that this mechanism may also be involved in the antinociception effect of these compounds in this model of PMS-EAE, but we could not imply that is the only mechanism involved in the antinociceptive effects of these compounds.

Following this evidence that TRPA1 could be involved in PMS-EAE caused nociception, we detected that TRPA1 gene expression is increased in spinal cord samples 14 days after PMS-EAE model induction. Previously, the administration of TRPA1 AS ODN reduced nociception in different models of pain [28, 51]. Also, i.t. treatment with TRPA1 antagonist reduced mechanical and cold allodynia or heat hyperalgesia in mice and rats [63, 78]. Previously, we showed that the i.t. administration of TRPA1 AS ODN in mice reduce the TRPA1 mRNA expression and induced antinociception in a model of dacarbazine-induced chronic nociception [79]. Also, the injection TRPA1 AS ODN reduced AITC induced eye wiping response in mice, because of discriminatory alteration of TRPA1-mediated nociception [51]. Moreover, in this study we described that the i.t. administration of a TRPA1 selective antagonist (HC-030031) or a TRPA1 AS ODN reduced the mechanical and cold allodynia or heat hyperalgesia in mice in this PMS-EAE model. Thus, TRPA1 spinal activation and increase expression could be involved in the hypersensitivity observed after PMS-EAE model induction.

As described earlier, oxidative compounds produce the activation of TRPA1 receptor, including 4-HNE [25], so we decided to test whether the administration of antioxidants (lipoic acid and apocynin) could reverse the nociception observed in the PMS-EAE model in mice. First, we detected that NADPH oxidase activity and 4-HNE levels were increased after PMS-EAE model induction when compared to control animals. Previously, it was described that 4-HNE levels could be enhanced in NP models that involved TRPA1 activation [28, 80], and this compound is also involved with MS neuroinflammation [81]. The enzyme NADPH oxidase is involved in the generation of reactive species and then it is related to MS pathophysiology [82]. Also, in PMS models it was described that brain and spinal cord samples showed an enhancement of NADPH oxidase activity [82].

As observed in Fig. 5 there was an increase in oxidizing compounds in animals induced with the PMS-EAE model, and the same has been seen in studies that have detected various components of oxidative stress [37, 83]. Thus, we suggest that antioxidant compounds could have antinociceptive effect in these animals, since the

contribution of oxidative stress to the development of neuropathic pain in this model has already been demonstrated [84]. Also, α -lipoic acid has already had its neuroprotective effect demonstrated in EAE models [85–87]. In addition, several studies have tested antioxidant compounds in neuropathic pain models [27, 46, 51, 88]. Recently, the antinociceptive effect of α -lipoic acid was described in an optimized relapsing-remitting experimental autoimmune encephalomyelitis (RR-EAE) in mice [20].

Consequently, the administration of antioxidant compounds by i.g. or i.t. treatment induced a reduction in mechanical/cold allodynia, and heat hyperalgesia. Apocynin is an NADPH oxidase inhibitor that reduced mechanical hypersensitivity in models of diabetic NP [89] and spinal cord injury [90] in rats, or NP in mice [27]. The antioxidant compound (α -lipoic acid) also reduced nociception in pain models [51, 91], and RRMS model in mice [20]. Also, this compound has been studied to reduce the motor deficit and neuroinflammation in patients with PMS [92, 93]; and possess anti-inflammatory and immunomodulatory effect in EAE models [86, 87]. These results may suggest that without the production of endogenous agonists there is no TRPA1 receptor activation and therefore no nociceptive processes are generated in this PMS-EAE model in mice.

Patients with PMS report disturbances such as cold and mechanical allodynia, and heat hyperalgesia. Thus, research on the pain mechanisms involved during PMS is needed to discover new treatment protocols. Thus, in the present study, we evidenced the development of the induction of the PMS-EAE model with the development of mechanical and cold allodynia, and heat hyperalgesia before motor impairment. As in PMS, we show the presence of inflammatory processes and oxidative stress byproducts. In addition, the antinociceptive effect of TRPA1 antagonists, TRPA1 AS ODN and antioxidants has been demonstrated. Our study suggests a relationship between the TRPA1 receptor and the development of mechanical and cold allodynia, and heat hyperalgesia in a mouse model with PMS-induced central CNP. These results demonstrated that TRPA1 is an appropriate potential therapeutic target for the development of new drugs in the treatment of pain symptoms in patients with PMS.

Disclosure

The authors declare no conflict of interest.

Role of the funding source

The funding source was not involved in the study design; in the collection, analysis, and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication.

Author contributions

All the authors discussed the results, commented on the manuscript, and approved this final version.

1) Substantial contributions to conception and design, data acquisition, analysis, and interpretation: Camila Ritter, Diéssica Padilha Dalenogare, Amanda Spring de Almeida, Vitória Loreto Pereira, Gabriele Cheiran Pereira, Maria Fernanda Pessano Fialho, Débora Denardin Lückemeyer, Caren Tatiane Antoniazzi, Sabrina Qader Kudsi, Juliano Ferreira, Sara Marchesan Oliveira, Gabriela Trevisan.

2) Drafting and critically revising the article important intellectual content: Camila Ritter, Diéssica Padilha Dalenogare, Amanda Spring de Almeida, Vitória Loreto Pereira, Gabriele Cheiran Pereira, Maria Fernanda Pessano Fialho, Débora Denardin Lückemeyer, Caren Tatiane Antoniazzi, Sabrina Qader Kudsi, Juliano Ferreira, Sara Marchesan Oliveira, Gabriela Trevisan.

3) Final article approval: Camila Ritter, Diéssica Padilha Dalenogare, Amanda Spring de Almeida, Vitória Loreto Pereira, Gabriele Cheiran Pereira, Maria Fernanda Pessano Fialho, Débora Denardin Lückemeyer, Caren Tatiane Antoniazzi, Sabrina Qader Kudsi, Juliano Ferreira, Sara Marchesan Oliveira, Gabriela Trevisan.

4) Acquisition of funding and general supervision of the research group: Juliano Ferreira, Sara Marchesan Oliveira, Gabriela Trevisan.

Acknowledgements

Fellowships from the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico (CNPq) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) are also acknowledged. Fellowship from the Camila Ritter from the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) [process #88882.427871/2019-01]. Gabriela Trevisan is recipient of a fellowship from CNPq

[process #306576/2017-1], L'ORÉAL - ABC - UNESCO Para Mulheres na Ciência, 2016 and Prêmio Capes de Teses - Ciências Biológicas II, CAPES, 2014 [process #23038.006930/2014/59].

References

1. Thompson AJ, Baranzini SE, Geurts J, et al (2018) Multiple sclerosis. *Lancet* 391:1622–1636. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)30481-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)30481-1)
2. Ontaneda D, Thompson AJ, Fox RJ, Cohen JA (2017) Progressive multiple sclerosis: prospects for disease therapy, repair, and restoration of function. *Lancet* 389:1357–1366. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31320-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31320-4)
3. Harbo HF, Gold R, Tintora M (2013) Sex and gender issues in multiple sclerosis. *Ther Adv Neurol Disord* 6:237–248. <https://doi.org/10.1177/1756285613488434>
4. Benson C, Kerr BJ (2014) Pain and cognition in multiple sclerosis. *Curr Top Behav Neurosci* 20:201–15. https://doi.org/10.1007/7854_2014_309
5. Yousuf MS, Noh M, Friedman TN, et al (2019) Sensory Neurons of the Dorsal Root Ganglia Become Hyperexcitable in a T-Cell-Mediated MOG-EAE Model of Multiple Sclerosis. *eneuro* 6:ENEURO.0024-19.2019. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0024-19.2019>
6. Drulovic J, Basic-Kes V, Grgic S, et al (2015) The Prevalence of Pain in Adults with Multiple Sclerosis: A Multicenter Cross-Sectional Survey. *Pain Med* 16:1597–1602. <https://doi.org/10.1111/pme.12731>
7. Bricchetto G, Uccelli MM, Mancardi GL, Solaro C (2003) Symptomatic medication use in multiple sclerosis. *Mult Scler J* 9:458–460. <https://doi.org/10.1191/1352458503ms957oa>
8. Solaro C, Messmer Uccelli M (2010) Pharmacological Management of Pain in Patients with Multiple Sclerosis. *Drugs* 70:1. <https://doi.org/10.2165/11537930-000000000-00000>
9. Duffy SS, Lees JG, Moalem-Taylor G (2014) The contribution of immune and glial cell types in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis. *Mult Scler Int* 2014:285245. <https://doi.org/10.1155/2014/285245>
10. Baxter AG (2007) The origin and application of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Nat Rev Immunol* 7:904–912. <https://doi.org/10.1038/nri2190>
11. Constantinescu CS, Farooqi N, O'Brien K, Gran B (2011) Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) as a model for multiple sclerosis (MS). *Br J Pharmacol* 164:1079–1106. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01302.x>
12. Aicher SA, Silverman MB, Winkler CW, Bebo BF (2004) Hyperalgesia in an animal model of multiple sclerosis. *Pain* 110:560–570. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2004.03.025>
13. Olechowski CJ, Truong JJ, Kerr BJ (2009) Neuropathic pain behaviours in a chronic-relapsing model of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). *Pain* 141:156–164. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2008.11.002>
14. Duffy SS, Keating BA, Perera CJ, et al (2019) Regulatory T Cells and Their Derived Cytokine, Interleukin-35, Reduce Pain in Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *J Neurosci* 39:2326. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1815-18.2019>
15. Fu W, Taylor BK (2015) Activation of cannabinoid CB2 receptors reduces hyperalgesia in an experimental autoimmune encephalomyelitis mouse model of multiple sclerosis. *Neurosci Lett* 595:1–6. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2015.04.002>
16. Bernardes D, Oliveira ALR (2017) Comprehensive catwalk gait analysis in a chronic model of multiple sclerosis subjected to treadmill exercise training.

- BMC Neurol 17:160. <https://doi.org/10.1186/s12883-017-0941-z>
17. Österberg A, Boivie J, Thuomas K-Å (2005) Central pain in multiple sclerosis - prevalence and clinical characteristics. *Eur J Pain* 9:531–531. <https://doi.org/10.1016/j.ejpain.2004.11.005>
 18. Osterberg A, Boivie J (2010) Central pain in multiple sclerosis - sensory abnormalities. *Eur J Pain* 14:104–10. <https://doi.org/10.1016/j.ejpain.2009.03.003>
 19. Su K, Bourdette D, Forte M (2013) Mitochondrial dysfunction and neurodegeneration in multiple sclerosis. *Front. Physiol.* 4 JUL
 20. Khan N, Gordon R, Woodruff TM, Smith MT (2015) Antiallodynic effects of alpha lipoic acid in an optimized RR-EAE mouse model of MS-neuropathic pain are accompanied by attenuation of upregulated BDNF-TrkB-ERK signaling in the dorsal horn of the spinal cord. *Pharmacol Res Perspect* 3:. <https://doi.org/10.1002/prp2.137>
 21. Story GM, Peier AM, Reeve AJ, et al (2003) ANKTM1, a TRP-like Channel Expressed in Nociceptive Neurons, Is Activated by Cold Temperatures. *Cell* 112:819–829. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00158-2](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00158-2)
 22. Sahoo SS, Majhi RK, Tiwari A, et al (2019) Transient receptor potential ankyrin1 channel is endogenously expressed in T cells and is involved in immune functions. *Biosci Rep* 39:. <https://doi.org/10.1042/BSR20191437>
 23. Benemei S, De Cesaris F, Fusi C, et al (2013) TRPA1 and other TRP channels in migraine. *J Headache Pain* 14:71. <https://doi.org/10.1186/1129-2377-14-71>
 24. Sawada Y, Hosokawa H, Matsumura K, Kobayashi S (2008) Activation of transient receptor potential ankyrin 1 by hydrogen peroxide. *Eur J Neurosci* 27:1131–1142. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06093.x>
 25. Trevisani M, Siemens J, Materazzi S, et al (2007) 4-Hydroxynonenal, an endogenous aldehyde, causes pain and neurogenic inflammation through activation of the irritant receptor TRPA1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:13519–24. <https://doi.org/10.1073/pnas.0705923104>
 26. Pinheiro FDV, Villarinho JG, Silva CR, et al (2015) The involvement of the TRPA1 receptor in a mouse model of sympathetically maintained neuropathic pain. *Eur J Pharmacol* 747:105–113. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.11.039>
 27. Trevisan G, Benemei S, Materazzi S, et al (2016) TRPA1 mediates trigeminal neuropathic pain in mice downstream of monocytes/macrophages and oxidative stress. *Brain* 139:1361–1377. <https://doi.org/10.1093/brain/aww038>
 28. De Logu F, Nassini R, Materazzi S, et al (2017) Schwann cell TRPA1 mediates neuroinflammation that sustains macrophage-dependent neuropathic pain in mice. *Nat Commun* 8:1887. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01739-2>
 29. Eberhardt MJ, Filipovic MR, Leffler A, et al (2012) Methylglyoxal activates nociceptors through transient receptor potential channel A1 (TRPA1): a possible mechanism of metabolic neuropathies. *J Biol Chem* 287:28291–306. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.328674>
 30. Andersson DA, Gentry C, Light E, et al (2013) Methylglyoxal Evokes Pain by Stimulating TRPA1. *PLoS One* 8:. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077986>
 31. Nassini R, Gees M, Harrison S, et al (2011) Oxaliplatin elicits mechanical and cold allodynia in rodents via TRPA1 receptor stimulation. *Pain* 152:1621–1631. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2011.02.051>
 32. Meents JE, Ciotu CI, Fischer MJM (2019) Trpa1: A molecular view. *J.*

- Neurophysiol. 121:427–443
33. Bölcskei K, Kriszta G, SÁghy É, et al (2018) Behavioural alterations and morphological changes are attenuated by the lack of TRPA1 receptors in the cuprizone-induced demyelination model in mice. *J Neuroimmunol* 320:1–10. <https://doi.org/10.1016/J.JNEUROIM.2018.03.020>
 34. SÁghy É, Sipos É, Ács P, et al (2016) TRPA1 deficiency is protective in cuprizone-induced demyelination-A new target against oligodendrocyte apoptosis. *Glia* 64:2166–2180. <https://doi.org/10.1002/glia.23051>
 35. McGrath JC, Lilley E (2015) Implementing guidelines on reporting research using animals (ARRIVE etc.): new requirements for publication in *BJP*. *Br J Pharmacol* 172:3189–3193. <https://doi.org/10.1111/bph.12955>
 36. Zimmermann M (1983) Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 16:109–110. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(83\)90201-4](https://doi.org/10.1016/0304-3959(83)90201-4)
 37. Souza PS, Gonçalves ED, Pedrosa GS, et al (2017) Physical Exercise Attenuates Experimental Autoimmune Encephalomyelitis by Inhibiting Peripheral Immune Response and Blood-Brain Barrier Disruption. *Mol Neurobiol* 54:4723–4737. <https://doi.org/10.1007/s12035-016-0014-0>
 38. Dutra RC, Bento AF, Leite DFP, et al (2013) The role of kinin B1 and B2 receptors in the persistent pain induced by experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) in mice: Evidence for the involvement of astrocytes. *Neurobiol Dis* 54:82–93. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2013.02.007>
 39. Stromnes IM, Goverman JM (2006) Active induction of experimental allergic encephalomyelitis. *Nat Protoc* 2006 14 1:1810. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.285>
 40. Meyer OA, Tilson HA, Byrd WC RM (1979) A method for the routine assessment of fore- and hindlimb grip strength of rats and mice. *Neurobehav Toxicol* 1:233–236
 41. Ahmed RU, Alam M, Zheng YP (2019) Experimental spinal cord injury and behavioral tests in laboratory rats. *Heliyon* 5
 42. Olechowski CJ, Tenorio G, Sauve Y, Kerr BJ (2013) Changes in nociceptive sensitivity and object recognition in experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). *Exp Neurol* 241:113–121. <https://doi.org/10.1016/J.EXPNEUROL.2012.12.012>
 43. Trevisan G, Rossato MF, Walker CIB, et al (2012) Identification of the plant steroid α -spinasterol as a novel transient receptor potential vanilloid 1 antagonist with antinociceptive properties. *J Pharmacol Exp Ther* 343:258–69. <https://doi.org/10.1124/jpet.112.195909>
 44. Vadakkan KI, Jia YH, Zhuo M (2005) A behavioral model of neuropathic pain induced by ligation of the common peroneal nerve in mice. *J Pain* 6:747–56. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2005.07.005>
 45. Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, et al (1994) Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *J Neurosci Methods* 53:55–63. [https://doi.org/10.1016/0165-0270\(94\)90144-9](https://doi.org/10.1016/0165-0270(94)90144-9)
 46. de Almeida AS, Rigo FK, De Prá SD-T, et al (2019) Characterization of Cancer-Induced Nociception in a Murine Model of Breast Carcinoma. *Cell Mol Neurobiol* 39:605–617. <https://doi.org/10.1007/s10571-019-00666-8>
 47. Dixon WJ (1980) Efficient Analysis of Experimental Observations. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 20:441–462. <https://doi.org/10.1146/annurev.pa.20.040180.002301>

48. Trevisan G, Materazzi S, Fusi C, et al (2013) Novel Therapeutic Strategy to Prevent Chemotherapy-Induced Persistent Sensory Neuropathy By TRPA1 Blockade. *Cancer Res* 73:3120–3131. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-4370>
49. Veiga-Júnior VF, Rosas EC, Carvalho M V., et al (2007) Chemical composition and anti-inflammatory activity of copaiba oils from *Copaifera cearensis* Huber ex Ducke, *Copaifera reticulata* Ducke and *Copaifera multijuga* Hayne-A comparative study. *J Ethnopharmacol* 112:248–254. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.03.005>
50. Hewitt E, Pitcher T, Rzoska B, et al (2016) Selective Cathepsin S Inhibition with MIV-247 Attenuates Mechanical Allodynia and Enhances the Antiallodynic Effects of Gabapentin and Pregabalin in a Mouse Model of Neuropathic Pain. *J Pharmacol Exp Ther* 358:387–96. <https://doi.org/10.1124/jpet.116.232926>
51. Antoniazzi CTDD, Nassini R, Rigo FK, et al (2018) Transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) plays a critical role in a mouse model of cancer pain. *Int J Cancer*. <https://doi.org/10.1002/ijc.31911>
52. Nassini R, Fusi C, Materazzi S, et al (2015) The TRPA1 channel mediates the analgesic action of dipyrrone and pyrazolone derivatives. *Br J Pharmacol* 172:3397–3411. <https://doi.org/10.1111/bph.13129>
53. Andrade EL, Luiz AP, Ferreira J, Calixto JB (2008) PRONOCICEPTIVE RESPONSE ELICITED BY TRPA1 RECEPTOR ACTIVATION IN MICE. *Neuroscience* 152:511–520. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2007.12.039>
54. da Costa DSM, Meotti FC, Andrade EL, et al (2010) The involvement of the transient receptor potential A1 (TRPA1) in the maintenance of mechanical and cold hyperalgesia in persistent inflammation. *Pain* 148:431–437. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2009.12.002>
55. Hylden JLK, Wilcox GL (1980) Intrathecal morphine in mice: A new technique. *Eur J Pharmacol* 67:313–316. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(80\)90515-4](https://doi.org/10.1016/0014-2999(80)90515-4)
56. Trevisan G, Rossato MF, Walker CIB, et al (2013) A novel, potent, oral active and safe antinociceptive pyrazole targeting kappa opioid receptors. *Neuropharmacology* 73:261–273. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.06.011>
57. Livak KJ, Schmittgen TD (2001) Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT Method. *Methods* 25:402–408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
58. Bannerman PG, Hahn A, Ramirez S, et al (2005) Motor neuron pathology in experimental autoimmune encephalomyelitis: Studies in THY1-YFP transgenic mice. *Brain* 128:1877–1886. <https://doi.org/10.1093/brain/awh550>
59. Schmitz K, Pickert G, Wijnvoord N, et al (2013) Dichotomy of CCL21 and CXCR3 in nerve injury-evoked and autoimmunity-evoked hyperalgesia. *Brain Behav Immun* 32:186–200. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2013.04.011>
60. Solaro C, Bricchetto G, Battaglia MA, et al (2005) Antiepileptic medications in multiple sclerosis: adverse effects in a three-year follow-up study. *Neurol Sci* 25:307–310. <https://doi.org/10.1007/s10072-004-0362-9>
61. Wang I-C, Chung C-Y, Liao F, et al (2017) Peripheral sensory neuron injury contributes to neuropathic pain in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Sci Rep* 7:1–14. <https://doi.org/10.1038/srep42304>
62. Taylor CP (2009) Mechanisms of analgesia by gabapentin and pregabalin - Calcium channel α 2- δ [Cav α 2- δ] ligands. *Pain* 142:13–16

63. Klafke JZ, da Silva MA, Trevisan G, et al (2012) Involvement of the glutamatergic system in the nociception induced intrathecally for a TRPA1 agonist in rats. *Neuroscience* 222:136–146. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.07.022>
64. Mihai DP, Nitulescu GM, Ion GND, et al (2019) Computational Drug Repurposing Algorithm Targeting TRPA1 Calcium Channel as a Potential Therapeutic Solution for Multiple Sclerosis. *Pharmaceutics* 11:. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11090446>
65. Dworkin RH, O'Connor AB, Audette J, et al (2010) Recommendations for the pharmacological management of neuropathic pain: an overview and literature update. *Mayo Clin Proc* 85:S3-14. <https://doi.org/10.4065/mcp.2009.0649>
66. Khan N, Smith MT (2014) Multiple sclerosis-induced neuropathic pain: pharmacological management and pathophysiological insights from rodent EAE models. *Inflammopharmacology* 22:1–22. <https://doi.org/10.1007/s10787-013-0195-3>
67. Tzellos TG, Papazisis G, Amaniti E, Kouvelas D (2008) Efficacy of pregabalin and gabapentin for neuropathic pain in spinal-cord injury: An evidence-based evaluation of the literature. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 64:851–858
68. Schmidt PC, Ruchelli G, Mackey SC, Carroll IR (2013) Perioperative gabapentinoids choice of agent, dose, timing, and effects on chronic postsurgical pain. *Anesthesiology* 119:1215–1221
69. Moran MM, Szallasi A (2018) Targeting nociceptive transient receptor potential channels to treat chronic pain: current state of the field. *Br. J. Pharmacol.* 175:2185–2203
70. Griggs RB, Santos DF, Laird DE, et al (2019) Methylglyoxal and a spinal TRPA1-AC1-Epac cascade facilitate pain in the db/db mouse model of type 2 diabetes. *Neurobiol Dis* 127:76–86. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2019.02.019>
71. Düll MM, Riegel K, Tappenbeck J, et al (2019) Methylglyoxal causes pain and hyperalgesia in human through C-fiber activation. *Pain* 1. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001644>
72. Weyer-Menkhoff I, Lötsch J (2019) TRPA1 Sensitization Produces Hyperalgesia to Heat but not to Cold Stimuli in Human Volunteers. *Clin J Pain* 35:321–327. <https://doi.org/10.1097/AJP.0000000000000677>
73. de David Antoniazzi CT, De Prá SD-T, Ferro PR, et al (2018) Topical treatment with a transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) antagonist reduced nociception and inflammation in a thermal lesion model in rats. *Eur J Pharm Sci* 125:28–38. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2018.09.012>
74. Vriens J, Voets T (2019) Heat sensing involves a TRiPlet of ion channels. *Br J Pharmacol* 176:3893–3898. <https://doi.org/10.1111/bph.14812>
75. Simmons DL, Botting RM, Hla T (2004) Cyclooxygenase isozymes: The biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacol. Rev.* 56:387–437
76. Hinz B, Cheremina O, Bachmakov J, et al (2007) Dipyron e licits substantial inhibition of peripheral cyclooxygenases in humans: New insights into the pharmacology of an old analgesic. *FASEB J* 21:2343–2351. <https://doi.org/10.1096/fj.06-8061com>
77. Malvar DDC, Soares DM, Fabrício ASC, et al (2011) The antipyretic effect of dipyron e is unrelated to inhibition of PGE 2 synthesis in the hypothalamus. *Br J Pharmacol* 162:1401–1409. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2010.01150.x>
78. Tonello R, Fusi C, Materazzi S, et al (2016) Phalpha1beta acts as a TRPA1 antagonist with antinociceptive effects in mice. *Br J Pharmacol* 57–69.

- <https://doi.org/10.1111/bph.13652>
79. Brusco I, Li Puma S, Chiepe KB, et al (2019) Dacarbazine alone or associated with melanoma-bearing cancer pain model induces painful hypersensitivity by TRPA1 activation in mice. *Int J Cancer*. <https://doi.org/10.1002/ijc.32648>
 80. De Logu F, Li Puma S, Landini L, et al (2019) Schwann cells expressing nociceptive channel TRPA1 orchestrate ethanol-evoked neuropathic pain in mice. *J Clin Invest*. <https://doi.org/10.1172/JCI128022>
 81. Newcombe J, Li H, Cuzner ML (1994) Low density lipoprotein uptake by macrophages in multiple sclerosis plaques: implications for pathogenesis. *Neuropathol Appl Neurobiol* 20:152–62. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2990.1994.tb01174.x>
 82. Ma MW, Wang J, Zhang Q, et al (2017) NADPH oxidase in brain injury and neurodegenerative disorders. *Mol Neurodegener* 12:1–28. <https://doi.org/10.1186/s13024-017-0150-7>
 83. Kamisli S, Ciftci O, Taslidere A, et al (2018) The beneficial effects of 18 β -glycyrrhetic acid on the experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) in C57BL/6 mouse model. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 40:344–352. <https://doi.org/10.1080/08923973.2018.1490318>
 84. Benson C, Paylor JW, Tenorio G, et al (2015) Voluntary wheel running delays disease onset and reduces pain hypersensitivity in early experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). *Exp Neurol* 271:279–290. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2015.05.017>
 85. Chaudhary P, Marracci G, Yu X, et al (2011) Lipoic acid decreases inflammation and confers neuroprotection in experimental autoimmune optic neuritis. *J Neuroimmunol* 233:90–96. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2010.12.002>
 86. Chaudhary P, Marracci G, Galipeau D, et al (2015) Lipoic acid reduces inflammation in a mouse focal cortical experimental autoimmune encephalomyelitis model. *J Neuroimmunol* 289:68–74. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2015.10.011>
 87. Li B, Tan G-J, Lin H-Q, et al (2018) Neuroprotective effects of α -lipoic acid on long-term experimental autoimmune encephalomyelitis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 22:6517–6528. https://doi.org/10.26355/eurrev_201810_16066
 88. Agathos E, Tentolouris A, Eleftheriadou I, et al (2018) Effect of α -lipoic acid on symptoms and quality of life in patients with painful diabetic neuropathy. *J Int Med Res* 46:1779–1790. <https://doi.org/10.1177/0300060518756540>
 89. Olukman M, Önal A, Çelenk F, et al (2018) Treatment with NADPH oxidase inhibitor apocynin alleviates diabetic neuropathic pain in rats. *Neural Regen Res* 13:1657. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.232530>
 90. Hassler SN, Ahmad FB, Burgos-Vega CC, et al (2019) Protease activated receptor 2 (PAR2) activation causes migraine-like pain behaviors in mice. *Cephalalgia* 39:111–122. <https://doi.org/10.1177/0333102418779548>
 91. Trevisan G, Hoffmeister C, Rossato MF, et al (2013) Transient Receptor Potential Ankyrin 1 Receptor Stimulation by Hydrogen Peroxide Is Critical to Trigger Pain During Monosodium Urate-Induced Inflammation in Rodents. *Arthritis Rheum* 65:2984–2995. <https://doi.org/10.1002/art.38112>
 92. Waslo C, Bourdette D, Gray N, et al (2019) Lipoic Acid and Other Antioxidants as Therapies for Multiple Sclerosis. *Curr Treat Options Neurol* 21:26. <https://doi.org/10.1007/s11940-019-0566-1>
 93. Loy BD, Fling BW, Horak FB, et al (2018) Effects of lipoic acid on walking

performance, gait, and balance in secondary progressive multiple sclerosis.
Complement Ther Med 41:169–174. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2018.09.006>

4 DISCUSSÃO

A DNC é um sintoma grave e debilitante na EMP, no entanto, existem poucas evidências concretas sobre os mecanismos subjacentes (DRULOVIC et al., 2015). Além disso, a maioria dos tratamentos utilizados para controlar a DN da EPM apresenta baixa eficácia ou induz efeitos adversos (BRICHETTO et al., 2003; SOLARO; MESSMER UCCELLI, 2010). Para resolver esse problema, é interessante estudar novos alvos envolvidos na DNC induzida pela EMP, como o canal TRPA1. A ativação do TRPA1 está relacionada à manutenção da DN e da neuroinflamação, e esse canal geralmente é ativado por compostos oxidativos produzidos no local da lesão neuronal (BÖLCSKEI et al., 2018; DE LOGU et al., 2017). No entanto, o envolvimento do TRPA1 na nocicepção induzida por um modelo de EMP não foi investigado até agora. Em um modelo animal de desmielinização usando cuprizona em animais com deleção gênica para o receptor TRPA1, ocorreu diminuição da desmielinização (BÖLCSKEI et al., 2018; SÁGHY et al., 2016). No entanto, esse modelo animal não reproduz as características nociceptivas da EMP, então se a ativação do TRPA1 está realmente envolvida na manutenção da DNC causada pela fisiopatologia da EMP ainda não está claro.

Na EMP, os pacientes desenvolvem deficiências motoras e sensoriais avançadas, além da DNC, que levam a uma redução na qualidade de vida desses indivíduos. A dor é o principal sintoma clínico da EM que afeta mais da metade dos pacientes e é composta por uma variedade de sintomas (BENSON; KERR, 2014; DRULOVIC et al., 2015; YOUSUF et al., 2019). Assim, no presente estudo, foi investigado o papel do TRPA1 na nocicepção induzida por um modelo de EMP em camundongos. Primeiro, foi descrito que esse modelo induziu sinais clínicos progressivos de doença e comprometimento motor. Além disso, 14 dias após a indução do modelo da EMP, houve desenvolvimento de alodinia mecânica e ao frio e hiperalgesia ao calor. Estes comportamentos nociceptivos foram diminuídos pela administração de antagonistas do TRPA1, oligonucleotídeo antisentido para o TRPA1 e antioxidantes (ácido α -lipóico e apocinina) após administração intragástrica (i.g.) ou intratecal (i.t.). Além disso, houve um aumento na expressão do mRNA do TRPA1 em amostras de medula espinal, acompanhado pelo aumento da atividade da NADPH oxidase e níveis de 4-HNE no tecido medular. Portanto, detectamos que a ativação espinal do TRPA1 é necessária para manter a nocicepção nesse modelo. Nossos

dados mostram a validade de face, em relação ao grau de semelhança entre o comportamento do animal analisado no modelo e as manifestações clínicas (sintomas) da psicopatologia da EMP em humanos.

O modelo experimental de EAE é amplamente utilizado para estudar a DNC induzida por EMP-EAE em camundongos, conforme descrito anteriormente na literatura (DUTRA et al., 2013; SOUZA et al., 2017). Este modelo animal utilizando MOG₃₅₋₅₅ e a administração ACF tem a capacidade de reproduzir semelhanças da patologia humana como escores clínicos da doenças, alterações motoras e nocicepção. Essas características fazem de EMP-EAE um ótimo modelo animal de desmielinização e neuroinflamação crônica, como as características observadas na EMP clínica. Além disso, vários estudos utilizaram o modelo EMP-EAE para desenvolver novos fármacos e entender a patogênese da EMP (BANNERMAN et al., 2005; CONSTANTINESCU et al., 2011).

Como citado anteriormente, na EMP, os pacientes desenvolvem deficiências motoras e sensoriais avançadas, o que reduz significativamente sua qualidade de vida (BENSON; KERR, 2014; YOUSUF et al., 2019). Consequentemente, no modelo de EMP-EAE usado neste estudo, foi observado o comprometimento progressivo da atividade locomotora e os escores clínicos da doença (BAXTER, 2007; DUFFY; LEES; MOALEM-TAYLOR, 2014). Aqui, detectou-se que os camundongos 15 dias pós indução (p.i.) de EMP-EAE mostraram uma redução significativa no tempo de latência no teste do rotarod e desenvolveram uma perda progressiva da força de preensão plantar. Os sinais clínicos da doença também aumentaram após 13 dias p.i. em camundongos. Esses resultados foram semelhantes aos obtidos em estudos anteriores, que mostraram um aumento no escore clínico 15 dias p.i. de EMP-EAE e uma redução na latência do teste de rotarod 15 dias p.i. (OLECHOWSKI et al., 2013). Assim, foi estabelecido que, para esse modelo de EPM, seria melhor detectar a nocicepção até o dia 14 p.i. considerando que após esse período, os camundongos desenvolvem comprometimento motor e escores clínicos que anulariam a medida da nocicepção.

O modelo de EAE é amplamente utilizado para o estudo da DNC induzida por EMP (DUTRA et al., 2013; SOUZA et al., 2017). Na EMP, a DN dos pacientes é caracterizada por vários sintomas, como alodinia mecânica e ao frio (FU; TAYLOR, 2015), além de hiperalgesia ao calor (BERNARDES; OLIVEIRA, 2017; FU; TAYLOR, 2015; OSTERBERG; BOIVIE, 2010; ÖSTERBERG; BOIVIE; THUOMAS, 2005). Neste

estudo, foi mostrado que alodinia mecânica induzida por EMP-EAE (utilizando o teste de von Frey), alodinia ao frio (medida pelo teste de acetona) e hiperalgesia ao calor (detectada pelo teste de placa quente), com pico nociceptivo 14 dias p.i.. Esses resultados são semelhantes a outros estudos que relatam o desenvolvimento de alodinia mecânica e ao frio, bem como hiperalgesia ao calor em camundongos p.i. de EAE (AICHER et al., 2004; SCHMITZ et al., 2013).

Depois de confirmar que o modelo EMP-EAE estava reproduzindo as características de DN esperadas que caracterizam a EMP, testamos o efeito antinociceptivo de um controle positivo (pregabalina) nesse modelo. A pregabalina é comumente usada na prática clínica para o tratamento de sintomas de DN na EM, mas não é muito eficaz e pode induzir efeitos adversos graves (HEWITT et al., 2016; SOLARO et al., 2005). Aqui, a administração i.g. de pregabalina em camundongos induziu um efeito antinociceptivo para todas as medidas nociceptivas testadas (alodinia mecânica e ao frio ou hiperalgesia ao calor). Nesta visão, mostrou-se a validade preditiva prevista desse modelo de EMP-EAE, em que se refere a semelhanças na resposta ao tratamento, ou seja, considera-se a capacidade do modelo de prever efeitos de fármacos na clínica. Anteriormente, foi descrito que o tratamento com pregabalina reduziu a alodinia mecânica em um modelo semelhante de EAE em camundongos, mas não houve avaliação da alodinia ao frio e hiperalgesia ao calor (WANG et al., 2017). Este medicamento antiepilético atua reduzindo a nocicepção por inibição do influxo de cálcio, gerando uma consequente liberação de neurotransmissores excitatórios em nível da medula espinal, impedindo a subunidade $\alpha 2\delta$ do tráfego de canais de cálcio dependente de voltagem (TAYLOR, 2009). Dado que, o influxo de cálcio parece ser uma característica importante para causar nocicepção neste modelo de DN.

O canal TRPA1 é expresso nos terminais nervosos sensoriais da pele e da medula espinal, e pode induzir o influxo de cálcio e a liberação de glutamato na medula espinal (KLAFKE et al., 2012). Anteriormente, um estudo usando métodos de descoberta computacional de drogas e mineração de dados identificou 10 moléculas como antagonistas potentes do TRPA1 que poderiam ser usados para o tratamento da EM (MIHAI et al., 2019). No entanto, a possibilidade deste receptor estar envolvido na nocicepção induzida pelo modelo de EMP-EAE não foi avaliado anteriormente. Inicialmente, descrevemos que a administração i.g. de antagonistas seletivos do TRPA1 reduziu transitoriamente a alodinia mecânica e ao frio e a hiperalgesia ao calor

nesse modelo de DN. Ao comparar a I_{max} (inibição máxima) da pregabalina com a I_{max} dos antagonistas do receptor TRPA1 (HC-030031 e A-967079), descobrimos que a pregabalina teve um I_{max} maior que os antagonistas para redução da alodinia mecânica. No entanto, para a medida da alodinia ao frio, os três fármacos obtiveram o efeito antinociceptivo máximo (I_{max} de 100%). Para a detecção de hiperalgesia ao calor, apenas o antagonista A-967079 induziu uma inibição maior que a pregabalina. No entanto, estudos mostram que, embora a pregabalina tenha um efeito sobre a DN, ela gera uma variedade de efeitos adversos (DWORKIN et al., 2010; KHAN; SMITH, 2014; MORAN; SZALLASI, 2018; SCHMIDT et al., 2013; TZELLOS et al., 2008), enquanto os antagonistas do TRPA1 ainda não possuem dados sobre a descrição dos efeitos adversos (MORAN; SZALLASI, 2018), que, combinados com os efeitos demonstrados neste estudo tornam o TRPA1 uma possível opção terapêutica para o tratamento da DN na EMP.

O antagonismo do TRPA1 reduziu o desenvolvimento da alodinia mecânica e ao frio em diferentes modelos de DN, induzida por trauma de nervo periférico ou neuropatia periférica induzida por quimioterapia (DE LOGU et al., 2017; TREVISAN et al., 2013a, 2016). Aqui, também detectamos que esse antagonismo de canal poderia reduzir a hiperalgesia ao calor, e já foi descrito que a ativação espinal ou periférica do TRPA1 medeia a hipersensibilidade ao calor em camundongos ou em humanos (DE DAVID ANTONIAZZI et al., 2018; DÜLL et al., 2019; GRIGGS et al., 2019; KLAFKE et al., 2012; VRIENS; VOETS, 2019; WEYER-MENKHOFF; LÖTSCH, 2019). O efeito analgésico do metamizol e da propifenazona é provavelmente causado pela redução da síntese de prostaglandinas através da inibição da ciclooxigenase, mas esse efeito é fraco quando comparado a outros inibidores da ciclooxigenase e esses compostos geralmente não induzem efeito anti-inflamatório (HINZ et al., 2007; MALVAR et al., 2011; NASSINI et al., 2015; SIMMONS; BOTTING; HLA, 2004). Assim, como o metamizol e a propifenazona também são capazes de funcionar como antagonistas do TRPA1 (NASSINI et al., 2015), postulamos que esse mecanismo também pode estar envolvido no efeito antinociceptivo desses compostos neste modelo de EMP-EAE, mas não podemos sugerir que esse seja o único mecanismo envolvido nos efeitos antinociceptivos desses compostos.

Após esta evidência de que o TRPA1 poderia estar envolvido na nocicepção induzida por EMP-EAE, foi observado que a expressão do mRNA do TRPA1 estava aumentada nas amostras da medula espinal 14 dias p.i. do modelo de EMP-EAE.

Anteriormente, foi descrito que a administração de oligonucleotídeo antisentido para o TRPA1 reduzia a nocicepção em diferentes modelos de dor (ANTONIAZZI et al., 2018; OSTERBERG; BOIVIE, 2010). Além disso, o tratamento i.t. com antagonista do TRPA1 reduziu a alodinia mecânica e ao frio ou a hiperalgesia ao calor em camundongos e ratos (KLAFKE et al., 2012; TONELLO et al., 2016). Também, a administração i.t. de oligonucleotídeo antisentido para o TRPA1 em camundongos reduz a expressão de mRNA do TRPA1 e a nocicepção induzida em um modelo de dacarbazina de nocicepção crônica (BRUSCO et al., 2019). Além disso, a injeção do oligonucleotídeo antisentido para o TRPA1 reduziu a resposta de limpeza ocular induzida por AITC em camundongos, devido a alteração discriminatória da nocicepção mediada por TRPA1 (ANTONIAZZI et al., 2018). Neste estudo, descrevemos que a administração i.t. de um antagonista seletivo do TRPA1 (HC-030031) ou um oligonucleotídeo antisentido para o TRPA1 reduziu a alodinia mecânica e ao frio ou a hiperalgesia ao calor em camundongos neste modelo EMP-EAE. Assim, a ativação espinal de TRPA1 e o aumento da expressão podem estar envolvidos na hipersensibilidade observada após a indução do modelo de EMP-EAE.

Como descrito anteriormente, os compostos oxidativos produzem a ativação do receptor TRPA1, incluindo o 4-HNE (TREVISANI et al., 2007), por isso foi decidido testar se a administração de antioxidantes (ácido α -lipóico e apocinina) poderia reverter a nocicepção observada no modelo EMP-EAE em camundongos. Primeiro, detectou-se que a atividade da NADPH oxidase e os níveis de 4-HNE aumentaram após a indução do modelo de EMP-EAE quando comparados aos animais controle. Anteriormente, foi descrito que os níveis de 4-HNE poderiam ser aumentados em modelos de DN que envolviam a ativação de TRPA1 (DE LOGU et al., 2017, 2019), e esse composto também está envolvido na neuroinflamação da EM (NEWCOMBE; LI; CUZNER, 1994). A enzima NADPH oxidase está envolvida na geração de espécies reativas e, em seguida, está relacionada à fisiopatologia da EM (MA et al., 2017). Além disso, em modelos de EAE, foi descrito que amostras de cérebro e medula espinal mostraram um aumento da atividade da NADPH oxidase (MA et al., 2017). Esses dados confirmam a validade de homologia, que leva em consideração a similaridade entre os mecanismos de indução e os sistemas envolvidos na psicopatologia e na medida observada no animal sendo dependente do grau de homologia entre a patologia e o comportamento avaliado.

Conseqüentemente, a administração de compostos antioxidantes por tratamento i.g. ou i.t induziu redução na alodinia mecânica e ao frio e na hiperalgesia ao calor. Assim, sugerimos que os compostos antioxidantes possam ter efeito antinociceptivo nesses animais, já que a contribuição do estresse oxidativo para o desenvolvimento da DN nesse modelo já foi demonstrada (BENSON et al., 2015). Vários estudos testaram compostos antioxidantes em modelos de dor neuropática (AGATHOS et al., 2018; ANTONIAZZI et al., 2018; DE ALMEIDA et al., 2019).

Além disso, o ácido α -lipóico já teve seu efeito neuroprotetor, anti-inflamatório e imunomodulador demonstrado nos modelos de EAE (CHAUDHARY et al., 2011, 2015; KHAN et al., 2015; LI et al., 2018). Este composto também foi estudado para reduzir a deficiência motora e a neuroinflamação em pacientes com EMP (LOY et al., 2018; WASLO et al., 2019). A apocinina é um inibidor da NADPH oxidase que reduz a hipersensibilidade mecânica em modelos de DN diabética (OLUKMAN et al., 2018) e lesão medular (HASSLER et al., 2019) em ratos ou DN em camundongos (TREVISAN et al., 2016).

Segundo estudos o 4-HNE poderia causar uma ligação irreversível (covalente) no TRPA1 (ANDERSSON et al., 2008; TREVISANI et al., 2007), e então os antioxidantes poderiam agir auxiliando a prevenir a possível ligação de novas moléculas ao receptor.

Assim, são necessárias pesquisas sobre os mecanismos de dor envolvidos durante a EMP para descobrir novos protocolos de tratamento. No presente estudo, evidenciamos o desenvolvimento da indução do modelo EMP-EAE com o desenvolvimento de alodinia mecânica e ao frio e hiperalgesia ao calor antes do comprometimento motor. Como na EMP, mostrou-se a presença de processos inflamatórios e subprodutos de estresse oxidativo. Além disso, foi demonstrado o efeito antinociceptivo dos antagonistas do TRPA1, do oligonucleotídeo antisentido para o TRPA1 e dos antioxidantes. Neste estudo sugere-se uma relação entre o receptor TRPA1 e o desenvolvimento de alodinia mecânica e ao frio e hiperalgesia ao calor em um modelo de camundongo com DNC induzida por EMP. Esses resultados demonstraram que o TRPA1 é um alvo terapêutico em potencial apropriado para o desenvolvimento de novos fármacos no tratamento de sintomas de dor em pacientes com EMP.

5 CONCLUSÃO

Assim, a partir dos resultados obtidos no estudo, podemos concluir que:

a) a indução do modelo de EMP gera alterações no escore clínico e locomoção em camundongos semelhante ao que é encontrado em pacientes com EMP. Além disso os camundongos desenvolveram nocicepção antes das alterações locomotoras, sendo que foi considerado o dia 14 p.i. o dia do pico nociceptivo;

b) a administração de um fármaco já utilizado na clínica para o tratamento da dor na EMP, a pregabalina, foi capaz de atenuar a alodinia mecânica e ao frio, e hiperalgesia ao calor induzida pelo modelo em camundongos;

c) os tratamentos com os antagonistas do receptor TRPA1 (HC-030031 e A-967079) por via oral, tiveram a capacidade de reduzir comportamentos nociceptivos no dia 14 p.i. de modelo de EMP;

d) além disso testou-se fármacos já utilizados na clínica que poderiam antagonizar o receptor TRPA1 (metamizol e propifenazona), e estes foram capazes de atenuar a alodinia mecânica e ao frio, e a hiperalgesia ao calor desenvolvidas no modelo de EMP;

e) quando foi analisado a expressão do receptor TRPA1 na medula espinal e GRD, observamos que houve um aumento significativo dos níveis de RNAm apenas na medula espinal;

f) a administração via i.t. do antagonista do receptor (HC-030031) ou de um oligonucleotídeo antisentido para o TRPA1 apresentaram efeito antinociceptivo em animais induzidos pelo modelo EMP-EAE, comprovando que poderia ter efeitos a nível de medula espinal;

g) observou-se aumento do agonista endógeno do receptor TRPA1 (4-HNE) e aumento da atividade da enzima NADPH oxidase em amostras de medula espinal retiradas no dia 14 p.i. do modelo de EMP-EAE;

h) o tratamento com os antioxidantes (ácido α -lipóico e apocinina) tanto por via oral quanto por via intratecal, foi capaz de atenuar a alodinia mecânica e ao frio, e a hiperalgesia ao calor em animais com EMP; por via i.g. e i.t.

6 CONCLUSÃO GERAL

Pacientes com EMP relatam distúrbios como alodínia mecânica e ao frio e hiperalgesia ao calor. Assim, são necessárias pesquisas sobre os mecanismos de dor envolvidos durante a EMP para descobrir novos protocolos de tratamento. Dessa forma, no presente estudo, evidenciamos o desenvolvimento da indução do modelo de EMP-EAE com o desenvolvimento de alodinia mecânica e ao frio, e hiperalgesia ao calor antes do comprometimento motor. Como na EMP, mostramos a presença de processos inflamatórios e subprodutos do estresse oxidativo. Além disso, foi demonstrado o efeito antinociceptivo dos antagonistas do TRPA1, do oligonucleotídeo antisentido do TRPA1 e dos antioxidantes. Nosso estudo sugere uma relação entre o receptor TRPA1 e o desenvolvimento de alodinia mecânica e ao frio e hiperalgesia ao calor em um modelo de camundongo com DNC induzida por EMP. Esses resultados demonstraram que o TRPA1 é um alvo terapêutico potencial apropriado para o desenvolvimento de novos medicamentos no tratamento de sintomas de dor em pacientes com EMP.

7 PERSPECTIVAS

Para continuar investigando o papel do receptor TRPA1 na EMP, pretende-se utilizar camundongos com deleção gênica do receptor, e analisar todos os parâmetros nociceptivos e de desenvolvimento do modelo já realizados com camundongos do tipo selvagem, como alodinia mecânica e ao frio, hiperalgesia ao calor, teste de locomoção, peso e escore clínico. Primeiramente, será realizada uma curva com leituras a cada dois dias. Após, no dia do pico nociceptivo, será realizada a coleta de amostras de medula espinal e gânglio da raiz dorsal para análises de marcadores de neuroinflamação e desmielinização, além de quantificação dos níveis de RNAm do receptor TRPA1, pela técnica de RT-PCR. Com esses resultados, pretendemos avaliar se a deleção do receptor TRPA1 seria capaz de reduzir os comportamentos de nocicepção e progressão da doença no modelo de EMP.

Além disso, entre os diferentes tipos de dor neuropática na esclerose múltipla, a neuralgia do trigêmeo é uma manifestação frequente e de difícil tratamento, com grande impacto na qualidade de vida dos pacientes (SOLARO; TRABUCCO; MESSMER UCCELLI, 2013). Assim, o objetivo é analisar o desenvolvimento de alodinia mecânica facial e escore clínico facial no modelo de EMP. Após, será verificado o efeito antinociceptivo de um medicamento utilizado para tratar a

nociceção em modelos de dor trigeminal, a sumatriptana (TOMIĆ et al., 2015). Em relação ao papel do TRPA1, será analisado através dos resultados obtidos após a administração dos tratamentos com os antagonistas do receptor TRPA1, os antioxidantes, e administração do oligonucleotídeo antisentido para o receptor TRPA1. Também, verificar se há alteração nos níveis do agonista endógeno do receptor TRPA1 (4-HNE), e alteração na atividade da enzima NADPH oxidase em amostras de tronco encefálico e gânglio trigeminal, além de avaliar os níveis de CGRP. Por fim, através de técnicas de RT-PCR analisar os níveis de RNAm do receptor TRPA1, e verificar os marcadores de neuroinflamação e desmielinização em amostras de tronco encefálico e gânglio trigeminal animais induzidos com o modelo de EMP e controles.

REFERÊNCIAS

- AGATHOS, E. et al. Effect of α -lipoic acid on symptoms and quality of life in patients with painful diabetic neuropathy. **Journal of International Medical Research**, v. 46, n. 5, p. 1779–1790, 1 maio 2018. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29517942>> Acesso em: 14 jan. 2020. DOI: 10.1177/0300060518756540
- AICHER, S. A. et al. Hyperalgesia in an animal model of multiple sclerosis. **Pain**, v. 110, n. 3, p. 560–570, ago. 2004. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Hyperalgesia+in+an+animal+model+of+multiple+sclerosis>> Acesso em: 10 nov. 2019. DOI: 10.1016/j.pain.2004.03.025
- AL-ARAJI, A. H.; OGER, J. Reappraisal of Lhermitte’s sign in multiple sclerosis. **Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)**, v. 11, n. 4, p. 398–402, ago. 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16042221>> Acesso em: 31 out. 2019. DOI: 10.1191/1352458505ms1177oa
- ALONSO, A.; HERNÁN, M. A. Temporal trends in the incidence of multiple sclerosis: A systematic review. **Neurology**, v. 71, n. 2, p. 129–135, 8 jul. 2008. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18606967>> Acesso em: 31 out. 2019. DOI: 10.1212/01.wnl.0000316802.35974.34
- ANDERSSON, D. A. et al. Transient receptor potential A1 is a sensory receptor for multiple products of oxidative stress. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 28, n. 10, p. 2485–94, 5 mar. 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18322093>> Acesso em: 10 out. 2019. DOI: 0.1523/JNEUROSCI.5369-07.2008
- ANDERSSON, D. A. et al. Methylglyoxal Evokes Pain by Stimulating TRPA1. **PLoS ONE**, v. 8, n. 10, 22 out. 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24167592>> Acesso em: 11 out. 2019. DOI: 10.1371/journal.pone.0077986
- ANDRÈ, E. et al. Cigarette smoke-induced neurogenic inflammation is mediated by alpha,beta-unsaturated aldehydes and the TRPA1 receptor in rodents. **The Journal of clinical investigation**, v. 118, n. 7, p. 2574–82, jul. 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18568077>> Acesso em: 13 mar. 2019. DOI: 10.1172/JCI34886
- ANTONIAZZI, C. T. D. D. et al. Transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) plays a critical role in a mouse model of cancer pain. **International Journal of Cancer**, out. 2018. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30289972>> Acesso em: 10 fev. 2020. DOI: 10.1002/ijc.31911
- ARCHIBALD, C. J. et al. Pain prevalence, severity and impact in a clinic sample of multiple sclerosis patients. **Pain**, v. 58, n. 1, p. 89–93, 1994. Disponível em: <<https://insights.ovid.com/article/00006396-199407000-00009>> Acesso em: 06 nov. 2019. DOI: 10.1016/0304-3959(94)90188-0

ASCHERIO, A. **Environmental factors in multiple sclerosis**. Expert Review of Neurotherapeutics. **Anais...**2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24289836>> Acesso em: 30 jan. 2020. DOI: 10.1586/14737175.2013.865866

ASCHERIO, A.; MUNGER, K. L. **Epidemiology of Multiple Sclerosis: From Risk Factors to Prevention--An Update Seminars in Neurology**. Thieme Medical Publishers, Inc., 1 abr. 2016. Disponível em: < <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0036-1579693>> Acesso em: 11 nov. 2019. DOI: 10.1055/s-0036-1579693

ATTAL, N. et al. EFNS guidelines on the pharmacological treatment of neuropathic pain: 2010 revision. **European Journal of Neurology**, set. 2010. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20402746>> Acesso em: 29 jan. 2020. DOI:10.1111/j.1468-1331.2010.02999.x

AUBDOOL, A. A. et al. TRPA1 activation leads to neurogenic vasodilatation: involvement of reactive oxygen nitrogen species in addition to CGRP and NO. **British journal of pharmacology**, v. 173, n. 15, p. 2419–33, 2016. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27189253>> Acesso em: 21 out. 2019. DOI: 10.1111/bph.13519

AUNG, M. S. H. et al. Leveraging Multi-Modal Sensing for Mobile Health: A Case Review in Chronic Pain. **IEEE journal of selected topics in signal processing**, v. 10, n. 5, p. 962–974, ago. 2016. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30906495>> Acesso em: 14 out. 2019. DOI: 10.1109/JSTSP.2016.2565381

BANDELL, M. et al. Noxious cold ion channel TRPA1 is activated by pungent compounds and bradykinin. **Neuron**, v. 41, n. 6, p. 849–57, 25 mar. 2004. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15046718> > Acesso em: 24 set. 2019. DOI: 10.1016/s0896-6273(04)00150-3

BANG, S. et al. Transient receptor potential A1 mediates acetaldehyde-evoked pain sensation. **European Journal of Neuroscience**, v. 26, n. 9, p. 2516–2523, nov. 2007. Disponível em: < <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1460-9568.2007.05882.x>> Acesso em: 21 out. 2019. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2007.05882.x

BANNERMAN, P. G. et al. Motor neuron pathology in experimental autoimmune encephalomyelitis: Studies in THY1-YFP transgenic mice. **Brain**, v. 128, n. 8, p. 1877–1886, ago. 2005. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15901645> > Acesso em: 09 jan. 2020. DOI: 10.1093/brain/awh550

BASBAUM, A. I. et al. Cellular and molecular mechanisms of pain. **Cell**, v. 139, n. 2, p. 267–84, out. 2009. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19837031> > Acesso em: 09 out. 2019. DOI: 10.1016/j.cell.2009.09.028

BASU, P. et al. Euphorbia bicolor (Euphorbiaceae) Latex Phytochemicals Induce Long-Lasting Non-Opioid Peripheral Analgesia in a Rat Model of Inflammatory Pain. **Frontiers in pharmacology**, v. 10, p. 958, 2019. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31551772> > Acesso em: 15 out. 2019. DOI: 10.3389/fphar.2019.00958

BAUTISTA, D. M. et al. Pungent products from garlic activate the sensory ion channel TRPA1. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, n. 34, p. 12248–12252, 23 ago. 2005. Disponível em: < <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0505356102> > Acesso em: 23 ago. 2019. DOI: 10.1073/pnas.0505356102

BAUTISTA, D. M. et al. TRPA1 Mediates the Inflammatory Actions of Environmental Irritants and Proalgesic Agents. **Cell**, v. 124, n. 6, p. 1269–1282, mar. 2006. Disponível em: < <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867406002406> > Acesso em: 25 mar. 2019. DOI: 10.1016/j.cell.2006.02.023

BAUTISTA, D. M. et al. The menthol receptor TRPM8 is the principal detector of environmental cold. **Nature**, v. 448, n. 7150, p. 204–208, 30 jul. 2007. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17538622> > Acesso em: 15 out. 2019. DOI: 10.1038/nature05910

BAXTER, A. G. The origin and application of experimental autoimmune encephalomyelitis. **Nature Reviews Immunology**, v. 7, n. 11, p. 904–912, nov. 2007. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17917672> > Acesso em: 29 set. 2019. DOI: 10.1038/nri2190

BENEMEI, S. et al. TRPA1 and other TRP channels in migraine. **The journal of headache and pain**, v. 14, n. 1, p. 71, 13 ago. 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23941062> > Acesso em: 24 set. 2019. DOI: 10.1186/1129-2377-14-71

BENNETT, M. **Neuropathic pain**. 2. ed. 3-9, 2006. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000088&pid=S0004-282X200900040003900005&lng=pt > Acesso em: 16 out. 2019.

BENSON, C. et al. Voluntary wheel running delays disease onset and reduces pain hypersensitivity in early experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). **Experimental Neurology**, v. 271, p. 279–290, 2015. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0014488615300042?via%3DiHub> > Acesso em: 24 set. 2019. DOI: 10.1016/j.expneurol.2015.05.017

BENSON, C.; KERR, B. J. Pain and cognition in multiple sclerosis. **Current topics in behavioral neurosciences**, v. 20, p. 201–15, 2014. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24850077> > Acesso em: 03 nov. 2019. DOI: 10.1007/7854_2014_309

BERNARDES, D.; OLIVEIRA, A. L. R. Comprehensive catwalk gait analysis in a chronic model of multiple sclerosis subjected to treadmill exercise training. **BMC Neurology**, v. 17, n. 1, p. 160, 22 dez. 2017. Disponível em: <

<http://bmcneurol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12883-017-0941-z> > Acesso em: 22 dez. 2019. DOI: 10.1186/s12883-017-0941-z

BERNARDINI, M. et al. Transient Receptor Potential Channel Expression Signatures in Tumor-Derived Endothelial Cells: Functional Roles in Prostate Cancer Angiogenesis. **Cancers**, v. 11, n. 7, 8 jul. 2019. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31288452> > Acesso em: 28 ago. 2019. DOI: 10.3390/cancers11070956

BESSAC, B. F. et al. TRPA1 is a major oxidant sensor in murine airway sensory neurons. **J Clin Invest.**, v. 118, 2008. Disponível em: < <https://doi.org/10.1172/JCI34192> > Acesso em: 25 ago. 2019. DOI: 10.1172/JCI34192

BESSAC, B. F. et al. Transient receptor potential ankyrin 1 antagonists block the noxious effects of toxic industrial isocyanates and tear gases. **FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 23, n. 4, p. 1102–14, abr. 2009. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19036859> > Acesso em: 28 out. 2019. DOI: 10.1096/fj.08-117812

BESSOU, P.; PERL, E. R. Response of cutaneous sensory units with unmyelinated fibers to noxious stimuli. **Journal of Neurophysiology**, v. 32, n. 6, p. 1025–1043, nov. 1969. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5347705> > Acesso em: 14 out. 2019. DOI: 10.1152/jn.1969.32.6.1025

BÖLCSKEI, K. et al. Behavioural alterations and morphological changes are attenuated by the lack of TRPA1 receptors in the cuprizone-induced demyelination model in mice. **Journal of Neuroimmunology**, v. 320, p. 1–10, 15 jul. 2018. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0165572817305325> > Acesso em: 24 abr. 2019. DOI: 10.1016/J.JNEUROIM.2018.03.020

BOSTOCK, H. et al. Temperature-dependent double spikes in C-nociceptors of neuropathic pain patients. **Brain**, v. 128, n. 9, p. 2154–2163, 1 set. 2005. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15947060> > Acesso em: 16 out. 2019. DOI: 10.1093/brain/awh552

BOUHASSIRA, D.; ATTAL, N. Diagnosis and assessment of neuropathic pain: The saga of clinical tools. **Pain**, v. 152, n. Supplement, p. S74–S83, mar. 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21185120> > Acesso em: 16 out. 2019. DOI: 10.1016/j.pain.2010.11.027

BREUER, B. et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, two-period, crossover, pilot trial of lamotrigine in patients with central pain due to multiple sclerosis. **Clinical Therapeutics**, v. 29, n. 9, p. 2022–2030, set. 2007. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1016%2Fj.clinthera.2007.09.023> > Acesso em: 29 jan. 2020. DOI: 10.1016/j.clinthera.2007.09.023

BRICHETTO, G. et al. Symptomatic medication use in multiple sclerosis. **Multiple Sclerosis Journal**, v. 9, n. 5, p. 458–460, 2 out. 2003. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14582769> > Acesso em: 29 set. 2019. DOI: 10.1191/1352458503ms957oa

BROWNLEE, W. J. et al. Diagnosis of multiple sclerosis: progress and challenges. **The Lancet Lancet Publishing Group**, 1 abr. 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27889190> > Acesso em: 29 out. 2019. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)30959-X

BRUSCO, I. et al. Dacarbazine alone or associated with melanoma-bearing cancer pain model induces painful hypersensitivity by TRPA1 activation in mice. **International Journal of Cancer**, 2019. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1002%2Fijc.32648> > Acesso em: 16 jan. 2020. DOI: 10.1002/ijc.32648

CATERINA, M. J. et al. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. **Nature**, v. 389, n. 6653, p. 816–824, out. 1997. Disponível em: < <http://www.nature.com/articles/39807> > Acesso em: 28 ago. 2019. DOI: 10.1038/39807

CATERINA, M. J. et al. Impaired nociception and pain sensation in mice lacking the capsaicin receptor. **Science (New York, N.Y.)**, v. 288, n. 5464, p. 306–13, 14 abr. 2000. Disponível em: < <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.288.5464.306> > Acesso em: 15 out. 2019. DOI: 10.1126/science.288.5464.306

CAVALETTI, G.; MARMIROLI, P. Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity. **Nature Reviews Neurology**, v. 6, n. 12, p. 657–666, 2010. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/nrneurol.2010.160> > Acesso em: 10 nov. 2019. DOI: 10.1038/nrneurol.2010.160

CHANG, A. et al. Premyelinating oligodendrocytes in chronic lesions of multiple sclerosis. **New England Journal of Medicine**, v. 346, n. 3, p. 165–173, 17 jan. 2002. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11796850> > Acesso em: 8 fev. 2020. DOI: 10.1056/NEJMoa010994

CHAUDHARY, P. et al. Lipoic acid decreases inflammation and confers neuroprotection in experimental autoimmune optic neuritis. **Journal of Neuroimmunology**, v. 233, n. 1–2, p. 90–96, abr. 2011. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1016%2Fj.jneuroim.2010.12.002> > Acesso em: 13 jan. 2020. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2010.12.002

CHAUDHARY, P. et al. Lipoic acid reduces inflammation in a mouse focal cortical experimental autoimmune encephalomyelitis model. **Journal of neuroimmunology**, v. 289, p. 68–74, 15 dez. 2015. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26616873> > Acesso em: 05 nov. 2019. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2015.10.011

CHEN, Y.; LYGA, J. Brain-skin connection: Stress, inflammation and skin aging. Inflammation and Allergy - Drug Targets. **Bentham Science Publishers B.V.**, 2014. Disponível em:

< <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.2174%2F1871528113666140522104422> > Acesso em: 06 nov. 2019. DOI: 10.2174/1871528113666140522104422

CIANCHETTI, C. et al. Lamotrigine adjunctive therapy in painful phenomena in MS: preliminary observations. **Neurology**, v. 53, n. 2, p. 433, 22 jul. 1999. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10430447> > Acesso em: 29 jan. 2020. DOI: 10.1212/wnl.53.2.433

CLAPHAM, D. E. TRP channels as cellular sensors. **Nature**, v. 426, n. 6966, p. 517–524, dez. 2003. Disponível em: < <http://www.nature.com/articles/nature02196> > Acesso em: 28 ago. 2019. DOI: 10.1038/nature02196

COMPSTON, A.; COLES, A. Multiple sclerosis. **The Lancet**, v. 372, n. 9648, p. 1502–1517, 25 out. 2008. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18970977> > Acesso em: 26 abr. 2019. DOI: 10.1016/S0140-6736(08)61620-7

CONSTANTINESCU, C. S. et al. Experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) as a model for multiple sclerosis (MS). **British Journal of Pharmacology**, v. 164, n. 4, p. 1079–1106, 2011. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3229753/> > Acesso em: 26 abr. 2019. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2011.01302.x

COREY, D. P. et al. TRPA1 is a candidate for the mechanosensitive transduction channel of vertebrate hair cells. **Nature**, v. 432, n. 7018, p. 723–730, 13 dez. 2004. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15483558> > Acesso em: 16 out. 2019. DOI: 10.1038/nature03066

CORREALE, J. et al. Progressive multiple sclerosis: from pathogenic mechanisms to treatment. **Brain**, Oxford University Press, 1 mar. 2017. Disponível em: < <https://academic.oup.com/brain/article/140/3/527/2447880> > Acesso em: 03 fev. 2020. DOI: 10.1093/brain/aww258

CRISTIANO, E. et al. The epidemiology of multiple sclerosis in Latin America and the Caribbean: A systematic review. **Multiple Sclerosis Journal**, 2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1177%2F1352458512462918> > Acesso em: 11 nov. 2019. DOI: 10.1177/1352458512462918

CSÉPÁNY, T. Diagnosis of multiple sclerosis: A review of the 2017 revisions of the McDonald criteria. **Ideggyógyászati Szemle**, v. 71, n. 9–10, p. 321–329, 30 set. 2018. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30335264> > Acesso em: 08 fev. 2020. DOI: 10.18071/isz.71.0321

D'ALEO, G. et al. Topiramate modulation of R3 nociceptive reflex in multiple sclerosis patients suffering paroxysmal symptoms. **Journal of Neurology**, 2001. Disponível em: < <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs004150170057> > Acesso em: 29 jan. 2020. DOI: 10.1007/s004150170057

DA COSTA, D. S. M. et al. The involvement of the transient receptor potential A1 (TRPA1) in the maintenance of mechanical and cold hyperalgesia in persistent inflammation. **Pain**, v. 148, n. 3, p. 431–437, mar. 2010. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.pain.2009.12.002> > Acesso em: 29 ago. 2019. DOI: 10.1016/j.pain.2009.12.002

DA GAMA PEREIRA, A. B. C. N. et al. Prevalence of multiple sclerosis in Brazil: A systematic review. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*. **Elsevier**, 1 nov. 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1016%2Fj.msard.2015.08.004> > Acesso em: 11 nov. 2019. DOI: 10.1016/j.msard.2015.08.004

DAI, Y. et al. Sensitization of TRPA1 by PAR2 contributes to the sensation of inflammatory pain. **Journal of Clinical Investigation**, v. 117, n. 7, p. 1979–1987, 2 jul. 2007. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1172%2FJCI30951> > Acesso em: 10 nov. 2019. DOI: 10.1172/JCI30951

DALL'ACQUA, M. C. et al. The contribution of transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) to the in vivo nociceptive effects of prostaglandin E2. **Life Sciences**, v. 105, n. 1–2, p. 7–13, 6 jun. 2014. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1016%2Fj.lfs.2014.02.031> > Acesso em: 24 out. 2019. DOI: 10.1016/j.lfs.2014.02.031

DE ALMEIDA, A. S. et al. Characterization of Cancer-Induced Nociception in a Murine Model of Breast Carcinoma. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 39, n. 5, p. 605–617, 8 jul. 2019. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30850915> > Acesso em: 30 ago. 2019. DOI: 10.1007/s10571-019-00666-8

DE DAVID ANTONIAZZI, C. T. et al. Topical treatment with a transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) antagonist reduced nociception and inflammation in a thermal lesion model in rats. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 125, p. 28–38, 1 dez. 2018. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30236550> > Acesso em: 29 mar. 2019. DOI: 10.1016/j.ejps.2018.09.012

DE LOGU, F. et al. TRPA1 Mediates Aromatase Inhibitor–Evoked Pain by the Aromatase Substrate Androstenedione. **Cancer Research**, v. 76, n. 23, p. 7024–7035, 1 dez. 2016. Disponível em: < <http://cancerres.aacrjournals.org/lookup/doi/10.1158/0008-5472.CAN-16-1492> > Acesso em: 01 dez. 2019. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-1492

DE LOGU, F. et al. Schwann cell TRPA1 mediates neuroinflammation that sustains macrophage-dependent neuropathic pain in mice. **Nature Communications**, v. 8, n. 1, p. 1887, 1 dez. 2017. Disponível em: < <http://www.nature.com/articles/s41467-017-01739-2> > Acesso em: 01 dez. 2019. DOI: 10.1038/s41467-017-01739-2

DE LOGU, F. et al. Schwann cells expressing nociceptive channel TRPA1 orchestrate ethanol-evoked neuropathic pain in mice. **The Journal of clinical investigation**, 4 nov. 2019. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31487269> > Acesso em: 04 nov. 2019. DOI: 10.1172/JCI128022

DHAKA, A. et al. TRPM8 Is Required for Cold Sensation in Mice. **Neuron**, v. 54, n. 3, p. 371–378, 3 maio 2007. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17481391> > Acesso em: 15 mai. 2019. DOI: 10.1016/j.neuron.2007.02.024

DHAKA, A.; VISWANATH, V.; PATAPOUTIAN, A. TRP ion channels and temperature sensation. **Annual Review of Neuroscience**, v. 29, n. 1, p. 135–161, 21 jul. 2006. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16776582> > Acesso em: 21 out. 2019. DOI: 10.1146/annurev.neuro.29.051605.112958

DHAKAL, S.; LEE, Y. Transient Receptor Potential Channels and Metabolism. **Molecules and cells**, v. 42, n. 8, p. 569–578, 31 ago. 2019. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31446746> > Acesso em: 15 out. 2019. DOI: 10.14348/molcells.2019.0007

DICKENSON, A. H. Spinal cord pharmacology of pain. **British journal of anaesthesia**, v. 75, n. 2, p. 193–200, ago. 1995. Disponível em: < <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0007091217441389> > Acesso em: 15 out. 2019. DOI: 10.1093/bja/75.2.193

DISANTO, G.; RAMAGOPALAN, S. V. On the sex ratio of multiple sclerosis. **Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)**, v. 19, n. 1, p. 3–4, jan. 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23303878> > Acesso em: 20 out. 2019. DOI: 10.1177/1352458512447594

DOBSON, R.; GIOVANNONI, G. Multiple sclerosis – a review. **European Journal of Neurology**. Blackwell Publishing Ltd, , 1 jan. 2019. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1111%2Fene.13819> > Acesso em: 30 jan. 2020. DOI: 10.1111/ene.13819

DOSHI, A.; CHATAWAY, J. Multiple sclerosis, a treatable disease. **Clinical medicine (London, England)**, 1 dez. 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.7861%2Fclinmedicine.16-6-s53> > Acesso em: 08 fev. 2020. DOI: 10.7861/clinmedicine.16-6-s53

DRULOVIĆ, J. et al. The Prevalence of Pain in Adults with Multiple Sclerosis: A Multicenter Cross-Sectional Survey. **Pain Medicine**, v. 16, n. 8, p. 1597–1602, 1 ago. 2015. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26087108> > Acesso em: 29 set. 2019. DOI: 10.1111/pme.12731

DUCREUX, D. et al. Mechanisms of central neuropathic pain: a combined psychophysical and fMRI study in syringomyelia. **Brain : a journal of neurology**, v. 129, n. Pt 4, p. 963–76, abr. 2006. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16434417> > Acesso em: 24 out. 2019. DOI:

10.1093/brain/awl016

DUEÑAS, M. et al. A review of chronic pain impact on patients, their social environment and the health care system. **Journal of pain research**, v. 9, p. 457–67, 2016. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27418853> > Acesso em: 24 out. 2019. DOI: 10.2147/JPR.S105892

DUFFY, S. S.; LEES, J. G.; MOALEM-TAYLOR, G. The contribution of immune and glial cell types in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis. **Multiple sclerosis international**, v. 2014, p. 285245, 2014. Disponível em: < <http://www.hindawi.com/journals/msi/2014/285245/> > Acesso em: 19 mar. 2019. DOI: 10.1155/2014/285245

DÜLL, M. M. et al. Methylglyoxal causes pain and hyperalgesia in human through C-fiber activation. **PAIN**, p. 1, jun. 2019. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1097%2Fj.pain.0000000000001644> > Acesso em: 05 nov. 2019. DOI: 10.1097/j.pain.0000000000001644

DUTRA, R. C. et al. The role of kinin B1 and B2 receptors in the persistent pain induced by experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) in mice: Evidence for the involvement of astrocytes. **Neurobiology of Disease**, v. 54, p. 82–93, jun. 2013. Disponível em: < <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0969996113000697> > Acesso em: 24 out. 2019. DOI: 10.1016/j.nbd.2013.02.007

DWORKIN, R. H. et al. Advances in Neuropathic Pain: Diagnosis, Mechanisms, and Treatment Recommendations. **Archives of Neurology**, nov. 2003. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1001%2Farchneur.60.11.1524> > Acesso em: 24 out. 2019. DOI: 10.1001/archneur.60.11.1524

DWORKIN, R. H. et al. Pharmacologic management of neuropathic pain: evidence-based recommendations. **Pain**, v. 132, n. 3, p. 237–51, 5 dez. 2007. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17920770> > Acesso em: 31 out. 2019. DOI: 10.1016/j.pain.2007.08.033

DWORKIN, R. H. et al. Recommendations for the pharmacological management of neuropathic pain: An overview and literature update. *Mayo Clinic Proceedings*. **Elsevier Ltd**, 2010. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.4065%2Fmcp.2009.0649> > Acesso em: 16 jan. 2020. DOI: 10.1093/brain/awl016

EID, S. R. et al. HC-030031, a TRPA1 Selective Antagonist, Attenuates Inflammatory- and Neuropathy-Induced Mechanical Hypersensitivity. **Molecular Pain**, v. 4, n. 48, p. 1744–1748, 19 set. 2008. Disponível em: < <http://journals.sagepub.com/doi/10.1186/1744-8069-4-48> > Acesso em: 19 set. 2019. DOI: 10.1186/1744-8069-4-48

ESTERBAUER, H.; SCHAUR, R. J.; ZOLLNER, H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 11, n. 1, p. 81–128, jan. 1991. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1937131> > Acesso em: 10 out. 2019. DOI:

10.1016/0891-5849(91)90192-6

EZEANI, M. TRP Channels Mediated Pathological Ca²⁺-Handling and Spontaneous Ectopy. **Frontiers in cardiovascular medicine**, v. 6, p. 83, 2019. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31281820> > Acesso em: 28 ago. 2019. DOI: 10.3389/fcvm.2019.00083

FALAH, M. et al. A randomized, placebo-controlled trial of levetiracetam in central pain in multiple sclerosis. **European Journal of Pain (United Kingdom)**, v. 16, n. 6, p. 860–869, jul. 2012. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1002%2Fj.1532-2149.2011.00073.x> > Acesso em: 29 jan. 2020. DOI: 10.1002/j.1532-2149.2011.00073.x

FERNANDES, E. S. et al. A distinct role for transient receptor potential ankyrin 1, in addition to transient receptor potential vanilloid 1, in tumor necrosis factor-induced inflammatory hyperalgesia and Freund's complete adjuvant-induced monoarthritis. **Arthritis Rheum.**, v. 63, 2011. Disponível em: < <https://doi.org/10.1002/art.30150> > Acesso em: 15 out. 2019. DOI: 10.1002/art.30150

FIELDS, H. L. The Doctor's Dilemma: Opiate Analgesics and Chronic Pain. **Neuron**, v. 69, n. 4, p. 591–594, 2011. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1016%2Fj.neuron.2011.02.001> > Acesso em: 10 out. 2019. DOI: 10.1016/j.neuron.2011.02.001

FILIPPI, M. et al. Multiple sclerosis. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, n. 1, p. 43, 8 dez. 2018. Disponível em: < <http://www.nature.com/articles/s41572-018-0041-4> > Acesso em: 24 out. 2019. DOI: 10.1038/s41572-018-0041-4

FLOCKERZI, B. N. Mammalian Transient Receptor Potential (TRP) Cation Channels. Berlin, **Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg**, 2014. v. 222. Disponível em: < <http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-54215-2> > Acesso em: 04 set. 2019. DOI: 10.1007/978-3-642-54215-2

FLORES, J. et al. Absence of Multiple Sclerosis and Demyelinating Diseases among Lacandonians, a Pure Amerindian Ethnic Group in Mexico. **Multiple Sclerosis International**, v. 2012, p. 1–4, 2012. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1155%2F2012%2F292631> > Acesso em: 11 nov. 2019. DOI: 10.1155/2012/292631

FOLEY, P. L. et al. Prevalence and natural history of pain in adults with multiple sclerosis: Systematic review and meta-analysis. **Pain**, v. 154, n. 5, p. 632–642, maio 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23318126> > Acesso em: 18 mar. 2019. DOI: 10.1016/j.pain.2012.12.002

FRANKLIN, R. J. M. **Why does remyelination fail in multiple sclerosis?** **Nature Reviews Neuroscience**, set. 2002. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1038%2Fnrn917> > Acesso em: 08 fev. 2020. DOI: 10.1038/nrn917

FREDERICK, J. et al. Increased TRPA1, TRPM8, and TRPV2 expression in dorsal

root ganglia by nerve injury. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 358, n. 4, p. 1058–1064, 13 jul. 2007. Disponivel em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1016%2Fj.bbrc.2007.05.029> > Acesso em: 11 out. 2019. DOI: 10.1016/j.bbrc.2007.05.029

FU, W.; TAYLOR, B. K. Activation of cannabinoid CB2 receptors reduces hyperalgesia in an experimental autoimmune encephalomyelitis mouse model of multiple sclerosis. **Neuroscience Letters**, v. 595, p. 1–6, maio 2015. Disponivel em: < <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304394015002736> > Acesso em: 11 out. 2019. DOI: 10.1016/j.neulet.2015.04.002

FÜRST, S. Transmitters involved in antinociception in the spinal cord. **Brain Research Bulletin**, v. 48, n. 2, p. 129–141, 15 jan. 1999. Disponivel em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0361923098001592?via%3Dihub> > Acesso em: 15 out. 2019. DOI: 10.1016/S0361-9230(98)00159-2

FUSI, C. et al. Steroidal and non-steroidal third-generation aromatase inhibitors induce pain-like symptoms via TRPA1. **Nature Communications**, v. 5, p. 5736, 8 dez. 2014. Disponivel em: < <http://dx.doi.org/10.1038/ncomms6736> > Acesso em: 01 dez. 2019. DOI: 10.1038/ncomms6736

GARG, N.; SMITH, T. W. An update on immunopathogenesis, diagnosis, and treatment of multiple sclerosis. **Brain and Behavior**, v. 5, n. 9, 1 set. 2015. Disponivel em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1002%2Fbrb3.362> > Acesso em: 03 fev. 2020. DOI: 10.1002/brb3.362

GARRISON, S. R.; STUCKY, C. L. Contribution of transient receptor potential ankyrin 1 to chronic pain in aged mice with complete Freund's adjuvant-induced arthritis. **Arthritis Rheum.**, v. 66, 2014. Disponivel em: < <https://doi.org/10.1002/art.38724> > Acesso em: 08 fev. 2020. DOI: 10.1002/art.38724

GAVVA, N. R. et al. Pharmacological blockade of the vanilloid receptor TRPV1 elicits marked hyperthermia in humans. **Pain**, v. 136, n. 1, p. 202–210, maio 2008. Disponivel em: < <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00006396-200805000-00024> > Acesso em: 08 mai. 2019. DOI: 10.1016/j.pain.2008.01.024

GEPPETTI, P.; PATACCHINI, R.; NASSINI, R. Transient receptor potential channels and occupational exposure. **Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology**, abr. 2014. Disponivel em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1097%2FACI.0000000000000040> > Acesso em: 11 ago. 2019. DOI: 10.1097/ACI.0000000000000040

GIBSON, J.; FRANK, A. Supporting Individuals with Disabling Multiple Sclerosis. **Journal of the Royal Society of Medicine**, v. 95, n. 12, p. 580–586, dez. 2002. Disponivel em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12461142> > Acesso em: 08 fev. 2020. DOI: 10.1177/014107680209501202

GILRON, I.; BARON, R.; JENSEN, T. Neuropathic pain: Principles of diagnosis and

treatment. Mayo Clinic Proceedings. **Anais.Elsevier Ltd**, 1 abr. 2015. Disponivel em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1016%2Fj.mayocp.2015.01.018> > Acesso em: 28 out. 2019. DOI: 10.1016/j.mayocp.2015.01.018

GIORGI, S. et al. Is TRPA1 Burning Down TRPV1 as Druggable Target for the Treatment of Chronic Pain? **International journal of molecular sciences**NLM (Medline), 2 jun. 2019. Disponivel em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.3390%2Fijms20122906> > Acesso em: 24 out. 2019. DOI: 10.3390/ijms20122906

GOLD, R.; LININGTON, C.; LASSMANN, H. Understanding pathogenesis and therapy of multiple sclerosis via animal models: 70 years of merits and culprits in experimental autoimmune encephalomyelitis research. **Brain : a journal of neurology**, v. 129, n. Pt 8, p. 1953–71, ago. 2006. Disponivel em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16632554> > Acesso em: 31 out. 2019. DOI: 10.1093/brain/awl075

GOLDBERG, D. S.; MCGEE, S. J. Pain as a global public health priority. **BMC public health**, v. 11, n. 770, p. 1–5, 2011. Disponivel em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1186%2F1471-2458-11-770> > Acesso em: 11 ago. 2019. DOI: 10.1186/1471-2458-11-770

GRAY, E. et al. Elevated Activity and Microglial Expression of Myeloperoxidase in Demyelinated Cerebral Cortex in Multiple Sclerosis. **Brain Pathology**, v. 18, n. 1, p. 86–95, jan. 2008. Disponivel em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1111%2Fj.1750-3639.2007.00110.x> > Acesso em: 11 jan. 2020. DOI: 10.1111/j.1750-3639.2007.00110.x

GRIGGS, R. B. et al. Methylglyoxal and a spinal TRPA1-AC1-Epac cascade facilitate pain in the db/db mouse model of type 2 diabetes. **Neurobiology of disease**, v. 127, p. 76–86, 2019. Disponivel em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30807826> > Acesso em: 11 mai. 2019. DOI: 10.1016/j.nbd.2019.02.019

HADJIMICHAEL, O. et al. Persistent pain and uncomfortable sensations in persons with multiple sclerosis. **Pain**, v. 127, n. 1–2, p. 35–41, jan. 2007. Disponivel em: < <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00006396-200701000-00007> > Acesso em: 12 mar. 2019. DOI: 10.1016/j.pain.2006.07.015

HAMILTON, N. B. et al. Proton-gated Ca(2+)-permeable TRP channels damage myelin in conditions mimicking ischaemia. **Nature**, v. 529, n. 7587, p. 523–7, 28 jan. 2016. Disponivel em: < <http://www.nature.com/articles/nature16519> > Acesso em: 02 jun. 2019. DOI: 10.1038/nature16519

HANSSON, E. Long-term pain, neuroinflammation and glial activation. **Scandinavian Journal of Pain**, abr. 2010. Disponivel em: < <http://www.nature.com/articles/nature16519> > Acesso em: 02 jun. 2019. DOI: 10.1038/nature16519

HARDIE, R. C.; MINKE, B. The trp gene is essential for a light-activated Ca²⁺ channel in Drosophila photoreceptors. **Neuron**, v. 8, n. 4, p. 643–51, abr. 1992.

Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1314617> > Acesso em: 24 set. 2019. DOI: 10.1016/0896-6273(92)90086-s

HARRISON, D. M. et al. Thalamic lesions in multiple sclerosis by 7T MRI: Clinical implications and relationship to cortical pathology. **Multiple Sclerosis**, v. 21, n. 9, p. 1139–1150, 25 ago. 2015. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25583851> > Acesso em: 07 fev. 2020. DOI: 10.1177/1352458514558134

HASSLER, S. N. et al. Protease activated receptor 2 (PAR2) activation causes migraine-like pain behaviors in mice. **Cephalalgia**, v. 39, n. 1, p. 111–122, jan. 2019. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1177%2F0333102418779548> > Acesso em: 24 set. 2019. DOI: 10.1177/0333102418779548

HEWITT, E. et al. Selective Cathepsin S Inhibition with MIV-247 Attenuates Mechanical Allodynia and Enhances the Antiallodynic Effects of Gabapentin and Pregabalin in a Mouse Model of Neuropathic Pain. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 358, n. 3, p. 387–96, 1 ago. 2016. Disponível em: < <http://jpet.aspetjournals.org/cgi/doi/10.1124/jpet.116.232926> > Acesso em: 24 jan. 2019. DOI: 10.1124/jpet.116.232926

HINMAN, A. et al. TRP channel activation by reversible covalent modification. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 51, p. 19564–19568, 19 dez. 2006. Disponível em: < <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0609598103> > Acesso em: 19 dez. 2019. DOI: 10.1073/pnas.0609598103

HINZ, B. et al. Dipyrone elicits substantial inhibition of peripheral cyclooxygenases in humans: New insights into the pharmacology of an old analgesic. **FASEB Journal**, v. 21, n. 10, p. 2343–2351, ago. 2007. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1096%2Ffj.06-8061com> > Acesso em: 14 jan. 2020. DOI: 10.1096/fj.06-8061com

HOEIJMAKERS, J. G. et al. Small-fibre neuropathies—advances in diagnosis, pathophysiology and management. **Nature Reviews Neurology**, jul. 2012. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1038%2Fnrneuro.2012.97> > Acesso em: 10 nov. 2019. DOI: 10.1038/nrneuro.2012.97

HOOTEN, W. M. Chronic Pain and Mental Health Disorders: Shared Neural Mechanisms, Epidemiology, and Treatment. **Mayo Clinic proceedings**, v. 91, n. 7, p. 955–70, 2016. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27344405> > Acesso em: 24 out. 2019. DOI: 10.1016/j.mayocp.2016.04.029

HORVÁTH, Á. et al. Transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) receptor is involved in chronic arthritis: In vivo study using TRPA1-deficient mice. **Arthritis Research and Therapy**, v. 18, n. 1, 8 jan. 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1186%2Fs13075-015-0904-y> > Acesso em: 10 out. 2019. DOI: 10.1186/s13075-015-0904-y

HOUSLEY, W. J.; PITT, D.; HAFNER, D. A. Biomarkers in multiple sclerosis. **Clinical Immunology**, v. 161, n. 1, p. 51–58, 1 nov. 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1016%2Fj.clim.2015.06.015> > Acesso em: 08 fev. 2020. DOI: 10.1016/j.clim.2015.06.015

HOUTCHENS, M. K. Open label gabapentin treatment for pain in multiple sclerosis. **Multiple Sclerosis**, v. 3, n. 4, p. 250–253, 1997. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1177%2F135245859700300407> > Acesso em: 28 jan. 2020. DOI: 10.1177/135245859700300407

HUCHO, T.; LEVINE, J. D. Signaling Pathways in Sensitization: Toward a Nociceptor Cell Biology. **Neuron**, v. 55, n. 3, p. 365–376, 2 ago. 2007. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17678851> > Acesso em: 24 set. 2019. DOI: 10.1016/j.neuron.2007.07.008

HUQ, R. et al. Preferential uptake of antioxidant carbon nanoparticles by T lymphocytes for immunomodulation. **Scientific reports**, v. 6, p. 33808, 22 set. 2016. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27654170> > Acesso em: 20 mai. 2019. DOI: 10.1038/srep33808

IASP. Proposta de nova definição de dor da IASP divulgada para comentários - **IASP**. Disponível em: <<https://www.iasp-pain.org/PublicationsNews/NewsDetail.asp?ItemNumber=9218>>. Acesso em: 16 fev. 2020.

IBGE. **Pesquisa Nacional em Saúde**. 2013. Disponível em: < https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2015_v43_br.pdf > Acesso em: 10 out. 2019. DOI: ISSN 0101-4234

ILIE, M. A. et al. Capsaicin: Physicochemical properties, cutaneous reactions and potential applications in painful and inflammatory conditions. **Experimental and therapeutic medicine**, v. 18, n. 2, p. 916–925, ago. 2019. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31384324> > Acesso em: 04 set. 2019. DOI: 10.3892/etm.2019.7513

JAQUEMAR, D.; SCHENKER, T.; TRUEB, B. An ankyrin-like protein with transmembrane domains is specifically lost after oncogenic transformation of human fibroblasts. **The Journal of biological chemistry**, v. 274, n. 11, p. 7325–33, 12 mar. 1999. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10066796> > Acesso em: 09 set. 2019. DOI: 10.1074/jbc.274.11.7325

JI, G.; ZHOU, S.; CARLTON, S. M. Intact A δ -fibers up-regulate transient receptor potential A1 and contribute to cold hypersensitivity in neuropathic rats. **Neuroscience**, v. 154, n. 3, p. 1054–1066, 26 jun. 2008. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1016%2Fj.neuroscience.2008.04.039> > Acesso em: 10 nov. 2019. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2008.04.039

JI, R. R.; SUTER, M. R. **p38 MAPK, microglial signaling, and neuropathic pain** **Molecular Pain**, 1 nov. 2007. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1186%2F1744-8069-3-33> > Acesso

em: 07 nov. 2019. DOI: 10.1186/1744-8069-3-33

JULIUS, D. TRP Channels and Pain. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v. 29, n. 1, p. 355–384, 6 out. 2013. Disponível em: < <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-cellbio-101011-155833> > Acesso em: 06 nov. 2019. DOI: 10.1146/annurev-cellbio-101011-155833

JULIUS, D.; BASBAUM, A. I. Molecular mechanisms of nociception. **Nature**, v. 413, n. 6852, p. 203–10, 13 set. 2001. Disponível em: < <http://www.nature.com/articles/35093019> > Acesso em: 15 out. 2019. DOI: 10.1038/35093019

KALIA, L. V.; O'CONNOR, P. W. Severity of chronic pain and its relationship to quality of life in multiple sclerosis. **Multiple Sclerosis**, v. 11, n. 3, p. 322–327, jun. 2005. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1191%2F1352458505ms1168oa> > Acesso em: 31 out. 2019. DOI: 10.1191/1352458505ms1168oa

KAMIŃSKA, J. et al. Multiple sclerosis - etiology and diagnostic potential. **Postepy higieny i medycyny doswiadczonej (Online)** Index Copernicus, 30 jun. 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28665284> > Acesso em: 08 fev. 2020. DOI: 10.5604/01.3001.0010.3836

KANEKO, Y.; SZALLASI, A. Transient receptor potential (TRP) channels: a clinical perspective. **British journal of pharmacology**, v. 171, n. 10, p. 2474–507, maio 2014. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24102319> > Acesso em: 24 set. 2019. DOI: 10.1111/bph.12414

KATSURA, H. et al. Antisense knock down of TRPA1, but not TRPM8, alleviates cold hyperalgesia after spinal nerve ligation in rats. **Experimental Neurology**, v. 200, n. 1, p. 112–123, jul. 2006. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16546170> > Acesso em: 16 out. 2019. DOI: 10.1016/j.expneurol.2006.01.031

KAYE, A. D. et al. Update on the pharmacogenomics of pain management. **Pharmacogenomics and personalized medicine**, v. 12, p. 125–143, 2019. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31308726> > Acesso em: 15 out. 2019. DOI: 10.2147/PGPM.S179152

KHAN, N. et al. Antiallodynic effects of alpha lipoic acid in an optimized RR-EAE mouse model of MS-neuropathic pain are accompanied by attenuation of upregulated BDNF-TrkB-ERK signaling in the dorsal horn of the spinal cord. **Pharmacology Research and Perspectives**, v. 3, n. 3, 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1002%2Fprp2.137> > Acesso em: 16 out. 2019. DOI: 10.1002/prp2.137

KHAN, N.; SMITH, M. T. Multiple sclerosis-induced neuropathic pain: pharmacological management and pathophysiological insights from rodent EAE models. **Inflammopharmacology**, v. 22, n. 1, p. 1–22, fev. 2014. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24234347> > Acesso em: 29 set. 2019. DOI:

10.1007/s10787-013-0195-3

KHAN, N.; WOODRUFF, T. M.; SMITH, M. T. Establishment and characterization of an optimized mouse model of multiple sclerosis-induced neuropathic pain using behavioral, pharmacologic, histologic and immunohistochemical methods.

Pharmacology Biochemistry and Behavior, v. 126, p. 13–27, 2014. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1016%2Fj.pbb.2014.09.003> > Acesso em: 29 set. 2019. DOI: 10.1016/j.pbb.2014.09.003

KHWAJA, O.; VOLPE, J. J. Pathogenesis of cerebral white matter injury of prematurity. **Archives of Disease in Childhood: Fetal and Neonatal Edition**, mar. 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18296574>>. Acesso em: 8 fev. 2020

KIM, Y. S. et al. Expression of vesicular glutamate transporters in transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1)-positive neurons in the rat trigeminal ganglion. **Brain Research**, v. 1690, p. 31–39, 1 jul. 2018. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1016%2Fj.brainres.2018.04.010> > Acesso em: 02 mai. 2019. DOI: 10.1016/j.brainres.2018.04.010

KIPP, M. et al. Multiple sclerosis animal models: a clinical and histopathological perspective. **Brain Pathology** Blackwell Publishing Ltd, 1 mar. 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1111%2Fbpa.12454> > Acesso em: 28 out. 2019. DOI: 10.1111/bpa.12454

KLAFKE, J. Z. et al. Involvement of the glutamatergic system in the nociception induced intrathecally for a TRPA1 agonist in rats. **Neuroscience**, v. 222, p. 136–146, 2012. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.07.022> > Acesso em: 22 set. 2019. DOI: 1 10.1016/j.neuroscience.2012.07.022

KOBAYASHI, K. et al. Distinct expression of TRPM8, TRPA1, and TRPV1 mRNAs in rat primary afferent neurons with a δ /c-fibers and colocalization with trk receptors. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 493, n. 4, p. 596–606, 26 dez. 2005. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16304633> > Acesso em: 04 set. 2019. DOI: 10.1002/cne.20794

KOCH-HENRIKSEN, N.; SØRENSEN, P. S. The changing demographic pattern of multiple sclerosis epidemiology. **The Lancet Neurology**, maio 2010. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20398859> > Acesso em: 31 out. 2019. DOI: 10.1016/S1474-4422(10)70064-8

KOIVISTO, A. et al. Inhibiting TRPA1 ion channel reduces loss of cutaneous nerve fiber function in diabetic animals: Sustained activation of the TRPA1 channel contributes to the pathogenesis of peripheral diabetic neuropathy. **Pharmacological Research**, v. 65, n. 1, p. 149–158, jan. 2012. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1016%2Fj.phrs.2011.10.006> > Acesso em: 10 nov. 2019. DOI: 10.1016/j.phrs.2011.10.006

KOSUGI, M. et al. Activation of TRPA1 channel facilitates excitatory synaptic transmission in substantia gelatinosa neurons of the adult rat spinal cord. **Journal of**

Neuroscience, v. 27, n. 16, p. 4443–4451, 18 abr. 2007. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17442829> > Acesso em: 11 nov. 2019. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0557-07.2007

KOZAI, D.; OGAWA, N.; MORI, Y. Redox regulation of transient receptor potential channels. **Antioxidants & redox signaling**, v. 21, n. 6, p. 971–86, 20 ago. 2014. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24161127> > Acesso em: 21 out. 2019. DOI: 10.1089/ars.2013.5616

KRUSTEV, E.; RIOUX, D.; MCDOUGALL, J. J. Mechanisms and Mediators That Drive Arthritis Pain. **Current Osteoporosis Reports** Current Medicine Group LLC 1, 2 ago. 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1007%2Fs11914-015-0275-y> > Acesso em: 07 nov. 2019. DOI: 10.1007/s11914-015-0275-y

KUTZELNIGG, A. et al. Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis. **Brain**, v. 128, n. 11, p. 2705–2712, 2005. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1093%2Fbrain%2Fawh641> > Acesso em: 07 fev. 2020. DOI: 10.1093/brain/awh641

KWAN, K. Y. et al. TRPA1 Contributes to Cold, Mechanical, and Chemical Nociception but Is Not Essential for Hair-Cell Transduction. **Neuron**, v. 50, n. 2, p. 277–289, abr. 2006. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.03.042> > Acesso em: 24 set. 2019. DOI: 10.1016/j.neuron.2006.03.042

KWAN, K. Y. et al. TRPA1 Modulates Mechanotransduction in Cutaneous Sensory Neurons. **Journal of Neuroscience**, v. 29, n. 15, p. 4808–4819, 15 abr. 2009. Disponível em: < <http://www.jneurosci.org/cgi/doi/10.1523/JNEUROSCI.5380-08.2009> > Acesso em: 15 abr. 2019. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5380-08.2009

LI, B. et al. Neuroprotective effects of α -lipoic acid on long-term experimental autoimmune encephalomyelitis. **European review for medical and pharmacological sciences**, v. 22, n. 19, p. 6517–6528, 2018. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30338822> > Acesso em: 05 nov. 2019. DOI: 10.26355/eurrev_201810_16066

LOESER, J. D.; TREEDE, R.-D. The Kyoto protocol of IASP Basic Pain Terminology. **Pain**, v. 137, n. 3, p. 473–7, jul. 2008. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1016%2Fj.pain.2008.04.025> > Acesso em: 05 jul. 2019. DOI: 10.1016/j.pain.2008.04.025

LOY, B. D. et al. Effects of lipoic acid on walking performance, gait, and balance in secondary progressive multiple sclerosis. **Complementary therapies in medicine**, v. 41, p. 169–174, dez. 2018. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30477834> > Acesso em: 05 nov. 2019. DOI: 10.1016/j.ctim.2018.09.006

LUBLIN, F. D.; REINGOLD, S. C. Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis. **Neurology**, v. 46,

n. 4, p. 907–11, abr. 1996. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8780061> > Acesso em: 18 mar. 2019. DOI: 10.1212/wnl.46.4.907

MA, M. W. et al. NADPH oxidase in brain injury and neurodegenerative disorders. **Molecular Neurodegeneration**, v. 12, n. 1, p. 1–28, 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1186%2Fs13024-017-0150-7> > Acesso em: 24 nov. 2019. DOI: 10.1186/s13024-017-0150-7

MAATUF, Y.; GERON, M.; PRIEL, A. The Role of Toxins in the Pursuit for Novel Analgesics. **Toxins**, v. 11, n. 2, 2019. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30813430> > Acesso em: 16 out. 2019. DOI: 10.3390/TOXINS11020131

MACPHERSON, L. J. et al. The pungency of garlic: activation of TRPA1 and TRPV1 in response to allicin. **Curr Biol.**, v. 15, 2005. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.cub.2005.04.018> > Acesso em: 16 nov. 2019. DOI: 10.1016/j.cub.2005.04.018

MACPHERSON, L. J. et al. Noxious compounds activate TRPA1 ion channels through covalent modification of cysteines. **Nature**, v. 445, n. 7127, p. 541–545, 21 fev. 2007a. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17237762> > Acesso em: 14 out. 2019. DOI: 10.1038/nature05544

MACPHERSON, L. J. et al. An ion channel essential for sensing chemical damage. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 27, n. 42, p. 11412–5, out. 2007b. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17942735> > Acesso em: 05 nov. 2019. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3600-07.2007

MALVAR, D. D. C. et al. The antipyretic effect of dipyron is unrelated to inhibition of PGE 2 synthesis in the hypothalamus. **British Journal of Pharmacology**, v. 162, n. 6, p. 1401–1409, mar. 2011. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1111%2Fj.1476-5381.2010.01150.x> > Acesso em: 14 jan. 2020. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2010.01150.x

MANDADI, S.; ROUFOGALIS, B. D. ThermoTRP channels in nociceptors: taking a lead from capsaicin receptor TRPV1. **Current neuropharmacology**, v. 6, n. 1, p. 21–38, mar. 2008. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19305786> > Acesso em: 04 set. 2019. DOI: 10.2174/157015908783769680

MARCH, L. et al. Burden of disability due to musculoskeletal (MSK) disorders. **Best Practice and Research: Clinical Rheumatology**, Bailliere Tindall Ltd, 2014. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1016%2Fj.berh.2014.08.002> > Acesso em: 07 nov. 2019. DOI: 10.1016/j.berh.2014.08.002

MARÍN, N. et al. Anti-myelin antibodies play an important role in the susceptibility to develop proteolipid protein-induced experimental autoimmune encephalomyelitis. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 175, n. 2, p. 202–207, fev. 2014. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1111%2Fcei.12233> >

> Acesso em: 01 fev. 2020. DOI: 10.1111/cei.12233

MARTINELLI BONESCHI, F. et al. Lifetime and actual prevalence of pain and headache in multiple sclerosis. **Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)**, v. 14, n. 4, p. 514–21, maio 2008. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18562506> > Acesso em: 31 out. 2019. DOI: 10.1177/1352458507085551

MATERAZZI, S. et al. TRPA1 and TRPV4 mediate paclitaxel-induced peripheral neuropathy in mice via a glutathione-sensitive mechanism. **Pflügers Archiv - European Journal of Physiology**, v. 463, n. 4, p. 561–569, 19 abr. 2012. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22258694> > Acesso em: 22 abr. 2019. DOI: 10.1007/s00424-011-1071-x

MATSUMOTO, K. et al. Transient receptor potential vanilloid 4 mediates sour taste sensing via type III taste cell differentiation. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 6686, 30 abr. 2019. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31040368> > Acesso em: 28 ago. 2019. DOI: 10.1038/s41598-019-43254-y

MCFARLAND, H. F.; MARTIN, R. **Multiple sclerosis: A complicated picture of autoimmunity** *Nature Immunology*, set. 2007. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1038%2Fni1507> > Acesso em: 03 fev. 2020. DOI: 10.1038/ni1507

MCKEMY, D. D.; NEUHAUSSER, W. M.; JULIUS, D. Identification of a cold receptor reveals a general role for TRP channels in thermosensation. **Nature**, v. 416, n. 6876, p. 52–58, 10 mar. 2002. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11882888> > Acesso em: 15 out. 2019. DOI: 10.1038/nature719

MCNAMARA, C. R. et al. TRPA1 mediates formalin-induced pain. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 33, p. 13525–13530, 14 ago. 2007. Disponível em: < <https://doi.org/10.1073/pnas.0705924104> > Acesso em: 14 ago. 2019. DOI: 10.1073/pnas.0705924104

MERSKEY, H.; BOGDUK, N. (EDS. . Classification of chronic pain. Descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms. Prepared by the International Association for the Study of Pain, Subcommittee on Taxonomy. **Pain. Supplement**, v. 3, p. S1-226, 1986. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3461421> > Acesso em: 14 out. 2019. PMID: 3461421

MICKLE, A. D.; SHEPHERD, A. J.; MOHAPATRA, D. P. Nociceptive TRP Channels: Sensory Detectors and Transducers in Multiple Pain Pathologies. **Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)**, v. 9, n. 4, 14 nov. 2016. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27854251> > Acesso em: 03 nov. 2019. DOI: 10.3390/ph9040072

MIHAI, D. P. et al. Computational Drug Repurposing Algorithm Targeting TRPA1 Calcium Channel as a Potential Therapeutic Solution for Multiple Sclerosis. **Pharmaceutics**, v. 11, n. 9, 2 set. 2019. Disponível em: <

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31480671> > Acesso em: 14 jan. 2020. DOI: 10.3390/pharmaceutics11090446

MILLAN, M. J. The induction of pain: an integrative review. **Progress in neurobiology**, v. 57, n. 1, p. 1–164, jan. 1999. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9987804> > Acesso em: 15 out. 2019. PMID: 9987804

MINKE, B. Drosophila mutant with a transducer defect. **Biophysics of structure and mechanism**, v. 3, n. 1, p. 59–64, 21 abr. 1977. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/870103> > Acesso em: 28 ago. 2019. PMID: 870103 10.1111/cei.12233

MINKE, B. The history of the Drosophila TRP channel: the birth of a new channel superfamily. **Journal of neurogenetics**, v. 24, n. 4, p. 216–33, dez. 2010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21067449> > Acesso em: 24 set. 2019. DOI: 10.3109/01677063.2010.514369

MOILANEN, L. J. et al. Urate Crystal Induced Inflammation and Joint Pain Are Reduced in Transient Receptor Potential Ankyrin 1 Deficient Mice – Potential Role for Transient Receptor Potential Ankyrin 1 in Gout. **PLOS ONE**, v. 10, n. 2, p. e0117770, 6 fev. 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1016%2Fj.joca.2015.09.008> > Acesso em: 05 fev. 2020. DOI: 10.1016/j.joca.2015.09.008

MONTELL, C. et al. Rescue of the Drosophila phototransduction mutation trp by germline transformation. **Science**, v. 230, n. 4729, p. 1040–1043, 29 nov. 1985. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3933112> > Acesso em: 28 ago. 2019. DOI: 10.1126/science.3933112

MONTELL, C. Thermosensation: hot findings make TRPNs very cool. **Current biology : CB**, v. 13, n. 12, p. R476-8, 17 jun. 2003. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12814565> > Acesso em: 25 set. 2019. DOI: 10.1016/s0960-9822(03)00406-8

MONTELL, C.; RUBIN, G. M. Molecular characterization of the Drosophila trp locus: a putative integral membrane protein required for phototransduction. **Neuron**, v. 2, n. 4, p. 1313–23, abr. 1989. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2516726> > Acesso em: 24 set. 2019. DOI: 10.1016/0896-6273(89)90069-x

MORAN, M. M.; SZALLASI, A. Targeting nociceptive transient receptor potential channels to treat chronic pain: current state of the field. **British Journal of Pharmacology** John Wiley and Sons Inc., 1 jun. 2018. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1111%2Fbph.14044> > Acesso em: 16 jan. 2020. DOI: 10.1111/bph.14044

MOTL, R. W.; GOLDMAN, M. D.; BENEDICT, R. H. B. Walking impairment in patients with multiple sclerosis: exercise training as a treatment option. **Neuropsychiatric disease and treatment**, v. 6, p. 767–74, 16 nov. 2010. Disponível

em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21173883> > Acesso em: 16 mai. 2019. DOI: 10.2147/NDT.S10480

MUNGER, K. L. et al. Vitamin D intake and incidence of multiple sclerosis. **Neurology**, v. 62, n. 1, p. 60–65, 13 jan. 2004. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14718698> > Acesso em: 31 out. 2019. DOI: 10.1212/01.WNL.0000101723.79681.38

NASSINI, R. et al. Acetaminophen, via its reactive metabolite N-acetyl-p-benzoquinoneimine and transient receptor potential ankyrin-1 stimulation, causes neurogenic inflammation in the airways and other tissues in rodents. **FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 24, n. 12, p. 4904–16, dez. 2010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20720158> > Acesso em: 24 out. 2019. DOI: 10.1096/fj.10-162438

NASSINI, R. et al. Oxaliplatin elicits mechanical and cold allodynia in rodents via TRPA1 receptor stimulation. **Pain**, v. 152, n. 7, p. 1621–1631, jul. 2011. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.pain.2011.02.051> > Acesso em: 25 set. 2019. DOI: 10.1016/j.pain.2011.02.051

NASSINI, R. et al. The ‘headache tree’ via umbellulone and TRPA1 activates the trigeminovascular system. **Brain**, v. 135, n. 2, p. 376–390, 1 fev. 2012. Disponível em: < <https://academic.oup.com/brain/article/135/2/376/262370> > Acesso em: 01 fev. 2020. DOI: 10.1093/brain/awr272

NASSINI, R. et al. The TRPA1 Channel in Inflammatory and Neuropathic Pain and Migraine. In: NILIUS, B. et al. (Eds.). **Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology**. Cham: Springer International Publishing, 2014. v. 167p. 1–43. Disponível em: < https://doi.org/10.1007/112_2014_18 > Acesso em: 25 set. 2019. DOI: 10.1007/112_2014_18

NASSINI, R. et al. The TRPA1 channel mediates the analgesic action of dipyrone and pyrazolone derivatives. **British Journal of Pharmacology**, v. 172, n. 13, p. 3397–3411, jul. 2015. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25765567> > Acesso em: 20 mai. 2019. DOI: 10.1111/bph.13129

NATIVI, C. et al. A TRPA1 antagonist reverts oxaliplatin-induced neuropathic pain. **Scientific Reports**, v. 3, 2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1038%2Fsrep02005> > Acesso em: 10 nov. 2019. DOI: 10.1038/srep02005

NAVRATILOVA, E. et al. Evaluation of reward from pain relief. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1282, n. 1, p. 1–11, 2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1111%2Fnyas.12095> > Acesso em: 03 nov. 2019. DOI: 10.1111/nyas.12095

NEWCOMBE, J.; LI, H.; CUZNER, M. L. Low density lipoprotein uptake by macrophages in multiple sclerosis plaques: implications for pathogenesis.

Neuropathology and applied neurobiology, v. 20, n. 2, p. 152–62, abr. 1994. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7521019> > Acesso em: 05 nov. 2019. DOI: 10.1111/j.1365-2990.1994.tb01174.x

NIELSEN, A. S. et al. Contribution of cortical lesion subtypes at 7T MRI to physical and cognitive performance in MS. **Neurology**, v. 81, n. 7, p. 641–649, 13 ago. 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23864311> > Acesso em: 07 fev. 2020. DOI: 10.1212/WNL.0b013e3182a08ce8

NILIUS, B. et al. Transient Receptor Potential Cation Channels in Disease. **Physiological Reviews**, v. 87, n. 1, p. 165–217, jan. 2007. Disponível em: < <https://www.physiology.org/doi/10.1152/physrev.00021.2006> > Acesso em: 15 out. 2019. DOI: 10.1152/physrev.00021.2006

NILIUS, B.; SZALLASI, A. Transient Receptor Potential Channels as Drug Targets: From the Science of Basic Research to the Art of Medicine. **Pharmacological Reviews**, v. 66, n. 3, p. 676–814, 20 jul. 2014. Disponível em: < <http://pharmrev.aspetjournals.org/cgi/doi/10.1124/pr.113.008268> > Acesso em: 22 abr. 2019. DOI: 10.1124/pr.113.008268

NOSEWORTHY, J. H. et al. Medical progress: Multiple sclerosis. **New England Journal of Medicine**, v. 343, n. 13, p. 938–952, 2000. Disponível em: < <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fc> > Acesso em: 20 nov. 2019. DOI: 10.1056/NEJM200009283431307

NURMIKKO, T. J.; GUPTA, S.; MACLIVER, K. Multiple sclerosis-related central pain disorders. **Current pain and headache reports**, v. 14, n. 3, p. 189–95, jun. 2010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20425191> > Acesso em: 31 out. 2019. DOI: 10.1007/s11916-010-0108-8

O'CONNOR, A. B. et al. Pain associated with multiple sclerosis: Systematic review and proposed classification. **Pain**, v. 137, n. 1, p. 96–111, 30 jun. 2008. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1016%2Fj.pain.2007.08.024> > Acesso em: 31 out. 2019. DOI: 10.1016/j.pain.2007.08.024

OBATA, K. TRPA1 induced in sensory neurons contributes to cold hyperalgesia after inflammation and nerve injury. **Journal of Clinical Investigation**, v. 115, n. 9, p. 2393–2401, 25 ago. 2005. Disponível em: < <http://www.jci.org/cgi/doi/10.1172/JCI25437> > Acesso em: 25 set. 2019. DOI: 10.1172/JCI25437

OHKAWARA, S. et al. **Methylglyoxal activates the human transient receptor potential ankyrin 1 channel** **Journal of Toxicological Sciences**, 2012. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.2131%2Fjts.37.831> > Acesso em: 10 nov. 2019. DOI: 10.2131/jts.37.831

OLECHOWSKI, C. J. et al. Changes in nociceptive sensitivity and object recognition in experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). **Experimental Neurology**, v. 241, p. 113–121, 1 mar. 2013. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014488612004694?via%3>

Dihub > Acesso em: 26 abr. 2019. DOI: 10.1016/J.EXPNEUROL.2012.12.012

OLECHOWSKI, C. J.; TRUONG, J. J.; KERR, B. J. Neuropathic pain behaviours in a chronic-relapsing model of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). **Pain**, v. 141, n. 1, p. 156–164, jan. 2009. Disponível em: < <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00006396-200901000-00025> > Acesso em: 29 set. 2019. DOI: 10.1016/j.pain.2008.11.002

OLESEN, J.; STEINER, T. J. The international classification of headache disorders, 2nd edn (ICDH-II). **Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**, v. 75, n. 6, p. 808–811, jun. 2004. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1739053/> > Acesso em: 31 out. 2019. DOI: 10.1136/jnnp.2003.031286

OLUKMAN, M. et al. Treatment with NADPH oxidase inhibitor apocynin alleviates diabetic neuropathic pain in rats. **Neural Regeneration Research**, v. 13, n. 9, p. 1657, set. 2018. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.4103%2F1673-5374.232530> > Acesso em: 25 set. 2019. DOI: 10.4103/1673-5374.232530

ONTANEDA, D. et al. Progressive multiple sclerosis: prospects for disease therapy, repair, and restoration of function. **The Lancet**, v. 389, n. 10076, p. 1357–1366, 1 abr. 2017. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673616313204?via%3> > Acesso em: 16 mai. 2019. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)31320-4

ORTON, S.-M. et al. Sex ratio of multiple sclerosis in Canada: a longitudinal study. **The Lancet. Neurology**, v. 5, n. 11, p. 932–6, nov. 2006. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17052660> > Acesso em: 31 out. 2019. DOI: 10.1016/S1474-4422(06)70581-6

OSSIPOV, M. H.; DUSSOR, G. O.; PORRECA, F. **Central modulation of pain** **Journal of Clinical Investigation**, 1 nov. 2010. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1172%2FJCI43766> > Acesso em: 03 nov. 2019. DOI: 10.1172/JCI43766

OSTERBERG, A.; BOIVIE, J. Central pain in multiple sclerosis - sensory abnormalities. **European journal of pain (London, England)**, v. 14, n. 1, p. 104–10, jan. 2010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19359204> > Acesso em: 31 out. 2019. DOI: 10.1016/j.ejpain.2009.03.003

ÖSTERBERG, A.; BOIVIE, J.; THUOMAS, K.-Å. Central pain in multiple sclerosis - prevalence and clinical characteristics. **European Journal of Pain**, v. 9, n. 5, p. 531–531, 1 out. 2005. Disponível em: < <http://doi.wiley.com/10.1016/j.ejpain.2004.11.005> > Acesso em: 27 ago. 2019. DOI: 10.1016/j.ejpain.2004.11.005

PARK, E. S. et al. Levels of mitochondrial reactive oxygen species increase in rat neuropathic spinal dorsal horn neurons. **Neuroscience Letters**, v. 391, n. 3, p. 108–111, 2 jan. 2006. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1016%2Fj.neulet.2005.08.055> >

Acesso em: 11 nov. 2019. DOI: 10.1016/j.neulet.2005.08.055

PATAPOUTIAN, A.; TATE, S.; WOOLF, C. J. Transient receptor potential channels: targeting pain at the source. **Nature reviews. Drug discovery**, v. 8, n. 1, p. 55–68, jan. 2009. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19116627> > Acesso em: 28 ago. 2019. DOI: 10.1038/nrd2757

PATZOLD, U.; POCKLINGTON, P. R. Course of multiple sclerosis: FIRST RESULTS OF A PROSPECTIVE STUDY CARRIED OUT OF 102 MS PATIENTS FROM 1976–1980. **Acta Neurologica Scandinavica**, v. 65, n. 4, p. 248–266, 1982. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1111%2Fj.1600-0404.1982.tb03084.x> > Acesso em: 29 out. 2019. DOI: 10.1111/j.1600-0404.1982.tb03084.x

PEIER, A. M. et al. A TRP channel that senses cold stimuli and menthol. **Cell**, v. 108, n. 5, p. 705–15, 8 mar. 2002. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11893340> > Acesso em: 15 out. 2019. DOI: 10.1016/s0092-8674(02)00652-9

PERTOVAARA, A.; KOIVISTO, A. TRPA1 ion channel in the spinal dorsal horn as a therapeutic target in central pain hypersensitivity and cutaneous neurogenic inflammation. **European journal of pharmacology**, v. 666, n. 1–3, p. 1–4, set. 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21640097> > Acesso em: 14 fev. 2020. DOI: 10.1016/j.ejphar.2011.05.027

PETERS, E. M. J. The neuroendocrine-immune connection regulates chronic inflammatory disease in allergy. In: **Allergy and the Nervous System**. [s.l.] S. Karger AG, 2012. v. 98p. 240–252. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1159%2F000336527> > Acesso em: 25 set. 2019. DOI: 10.1159/000336527

PETERS, L. L. et al. The mouse as a model for human biology: a resource guide for complex trait analysis. **Nature Review Genetics**, v. 8, n. 1, p. 58–69, 2007. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1038%2Fnrg2025> > Acesso em: 25 set. 2019. DOI: 10.1038/nrg2025

PETERSEN, C. C. et al. Putative capacitative calcium entry channels: expression of *Drosophila trp* and evidence for the existence of vertebrate homologues. **Biochemical Journal**, v. 311, n. 1, p. 41–44, 1 out. 1995. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7575478> > Acesso em: 24 set. 2019. DOI: 10.1042/bj3110041

PETRUS, M. et al. A Role of TRPA1 in Mechanical Hyperalgesia is Revealed by Pharmacological Inhibition. **Molecular Pain**, v. 3, p. 1744-8069-3–40, 17 dez. 2007. Disponível em: < <https://doi.org/10.1186/1744-8069-3-40> > Acesso em: 25 set. 2019. DOI: 10.1186/1744-8069-3-40

PIAO, L. H. et al. TRPA1 activation by lidocaine in nerve terminals results in glutamate release increase. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 379, n. 4, p. 980–984, 20 fev. 2009. Disponível em: <

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1016%2Fj.bbrc.2008.12.183> >
Acesso em: 04 fev. 2020. DOI: 10.1016/j.bbrc.2008.12.183

PINHEIRO, F. D. V. et al. The involvement of the TRPA1 receptor in a mouse model of sympathetically maintained neuropathic pain. **European Journal of Pharmacology**, v. 747, p. 105–113, jan. 2015. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.11.039> > Acesso em: 23 set. 2019. DOI: 10.1016/j.ejphar.2014.11.039

POLMAN, C. H. et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 Revisions to the McDonald criteria. **Annals of Neurology**, v. 69, n. 2, p. 292–302, fev. 2011. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1002%2Fana.22366> > Acesso em: 29 out. 2019. DOI: 10.1002/ana.22366

POPESCU, B. F. G.; LUCCHINETTI, C. F. Pathology of Demyelinating Diseases. **Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease**, v. 7, n. 1, p. 185–217, 28 fev. 2012. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22313379> > Acesso em: 07 fev. 2020. DOI: 10.1146/annurev-pathol-011811-132443

POZZILLI, C. et al. Home based management in multiple sclerosis: Results of a randomised controlled trial. **Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry**, v. 73, n. 3, p. 250–255, set. 2002. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1136%2Fjnnp.73.3.250> > Acesso em: 06 nov. 2019. DOI: 10.1136/jnnp.73.3.250

PUTZKI, N. et al. Prevalence of migraine, tension-type headache and trigeminal neuralgia in multiple sclerosis. **European journal of neurology**, v. 16, n. 2, p. 262–7, fev. 2009. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19138330> > Acesso em: 31 out. 2019. DOI: 10.1111/j.1468-1331.2008.02406.x

RAMAGOPALAN, S. V et al. Multiple sclerosis: risk factors, prodromes, and potential causal pathways. **The Lancet. Neurology**, v. 9, n. 7, p. 727–39, jul. 2010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20610348> > Acesso em: 31 out. 2019. DOI: 10.1016/S1474-4422(10)70094-6

RAMSEY, I. S.; DELLING, M.; CLAPHAM, D. E. AN INTRODUCTION TO TRP CHANNELS. **Annual Review of Physiology**, v. 68, n. 1, p. 619–647, 6 jan. 2006. Disponível em: < <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.physiol.68.040204.100431> > Acesso em: 15 out. 2019. DOI: 10.1146/annurev.physiol.68.040204.100431

RASMUSSEN, S. et al. Persistent activation of microglia is associated with neuronal dysfunction of callosal projecting pathways and multiple sclerosis-like lesions in relapsing-remitting experimental autoimmune encephalomyelitis. **Brain**, v. 130, n. 11, p. 2816–2829, nov. 2007. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17890734> > Acesso em: 07 fev. 2020. DOI: 10.1093/brain/awm219

RAZMJOU, H.; WOODHOUSE, L. J.; HOLTBY, R. Neuropathic Pain after Shoulder

Arthroplasty: Prevalence, Impact on Physical and Mental Function, and Demographic Determinants. **Physiotherapy Canada. Physiotherapie Canada**, v. 70, n. 3, p. 212–220, 2018. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30275646> > Acesso em: 16 out. 2019. DOI: 10.3138/ptc.2016-99

REILLY, M. M.; SHY, M. E. Diagnosis and new treatments in genetic neuropathies. **Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry**, v. 80, n. 12, p. 1304–14, dez. 2009. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19917815> > Acesso em: 03 nov. 2019. DOI: 10.1136/jnnp.2008.158295

RICE, A. S. C. Should cannabinoids be used as analgesics for neuropathic pain? **Nature Clinical Practice Neurology**, v. 4, n. 12, p. 654–655, 2008. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1038%2Fncpneuro0949> > Acesso em: 29 jan. 2020. DOI: 10.1038/ncpneuro0949

RIVERS, T. M.; SPRUNT, D. H.; BERRY, G. P. Observations on attempts to produce acute disseminated encephalomyelitis in monkeys. **Journal of Experimental Medicine**, v. 58, n. 1, p. 39–52, 1 jul. 1933. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1084%2Fjem.58.1.39> > Acesso em: 20 out. 2019. DOI: 10.1084/jem.58.1.39

ROG, D. J. et al. Randomized, controlled trial of cannabis-based medicine in central pain in multiple sclerosis. **Neurology**, v. 65, n. 6, p. 812–819, 27 set. 2005. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16186518> > Acesso em: 29 jan. 2020. DOI: 10.1212/01.wnl.0000176753.45410.8b

ROG, D. J.; NURMIKKO, T. J.; YOUNG, C. A. Oromucosal Δ^9 -tetrahydrocannabinol/cannabidiol for neuropathic pain associated with multiple sclerosis: An uncontrolled, open-label, 2-year extension trial. **Clinical Therapeutics**, v. 29, n. 9, p. 2068–2079, set. 2007. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1016%2Fj.clinthera.2007.09.013> > Acesso em: 29 jan. 2020. DOI: 10.1016/j.clinthera.2007.09.013

ROSSI, S. et al. Effects of levetiracetam on chronic pain in multiple sclerosis: Results of a pilot, randomized, placebo-controlled study. **European Journal of Neurology**, v. 16, n. 3, p. 360–366, mar. 2009. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1111%2Fj.1468-1331.2008.02496.x> > Acesso em: 29 jan. 2020. DOI: 10.1111/j.1468-1331.2008.02496.x

SÁ, M. J. Fisiopatologia dos sintomas e sinais na esclerose múltipla. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, set. 2012. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1590%2FS0004-282X2012000900016> > Acesso em: 01 fev. 2020. DOI: 10.1590/S0004-282X2012000900016

SÁGHY, É. et al. TRPA1 deficiency is protective in cuprizone-induced demyelination—A new target against oligodendrocyte apoptosis. **Glia**, v. 64, n. 12, p. 2166–2180, dez. 2016. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27568827> > Acesso em: 24 abr. 2019. DOI: 10.1002/glia.23051

SAWADA, Y. et al. Activation of transient receptor potential ankyrin 1 by hydrogen peroxide. **European Journal of Neuroscience**, v. 27, n. 5, p. 1131–1142, mar. 2008. Disponível em: < <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1460-9568.2008.06093.x> > Acesso em: 25 set. 2019. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2008.06093.x

SBED. **Dor no Brasil – SBED**. Disponível em: <<https://sbed.org.br/duvidas-frequentes-2/dor-no-brasil/>>. Acesso em: 10 mar. 2020.

SCHENK, S. A. et al. Active metabolites of dipyron induce a redox-dependent activation of the ion channels TRPA1 and TRPV1. **Pain reports**, v. 4, n. 3, p. e720, 2019. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31583344> > Acesso em: 14 out. 2019. DOI: 10.1097/PR9.0000000000000720

SCHMIDT, P. C. et al. Perioperative gabapentinoids choice of agent, dose, timing, and effects on chronic postsurgical pain. **Anesthesiology**, nov. 2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1097%2FALN.0b013e3182a9a896> > Acesso em: 16 jan. 2020. DOI: 10.1097/ALN.0b013e3182a9a896

SCHMITZ, K. et al. Dichotomy of CCL21 and CXCR3 in nerve injury-evoked and autoimmunity-evoked hyperalgesia. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 32, p. 186–200, 2013. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2013.04.011> > Acesso em: 25 set. 2019. DOI: 10.1016/j.bbi.2013.04.011

SCHNIZLER, K. et al. Protein kinase A anchoring via AKAP150 is essential for TRPV1 modulation by forskolin and prostaglandin E2 in mouse sensory neurons. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 28, n. 19, p. 4904–17, 7 maio 2008. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18463244> > Acesso em: 24 out. 2019. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0233-08.2008

SCHREINER, B.; HEPPNER, F. L.; BECHER, B. Modeling multiple sclerosis in laboratory animals. **Seminars in immunopathology**, v. 31, n. 4, p. 479–95, nov. 2009. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19802608> > Acesso em: 31 out. 2019. DOI: 10.1007/s00281-009-0181-4

SERAFINI, B. et al. Dysregulated Epstein-Barr virus infection in the multiple sclerosis brain. **The Journal of experimental medicine**, v. 204, n. 12, p. 2899–912, 26 nov. 2007. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17984305> > Acesso em: 31 out. 2019. DOI: 10.1084/jem.20071030

SHIGETOMI, E. et al. TRPA1 channels regulate astrocyte resting calcium and inhibitory synapse efficacy through GAT-3. **Nature Neuroscience**, v. 15, n. 1, p. 70–80, jan. 2012. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1038%2Fnn.3000> > Acesso em: 28 out. 2019. DOI: 10.1038/nn.3000

SIDDALL, P. J. et al. Pregabalin in central neuropathic pain associated with spinal cord injury: A placebo-controlled trial. **Neurology**, v. 67, n. 10, p. 1792–1800, nov. 2006. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17130411> > Acesso em: 28 jan. 2020. DOI: 10.1212/01.wnl.0000244422.45278.ff

SILVER, M. et al. Double-Blind, Placebo-Controlled Trial of Lamotrigine in Combination with Other Medications for Neuropathic Pain. **Journal of Pain and Symptom Management**, v. 34, n. 4, p. 446–454, out. 2007. Disponivel em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1016%2Fj.jpainsymman.2006.12.015> > Acesso em: 29 jan. 2020. DOI: 10.1016/j.jpainsymman.2006.12.015

SIMMONS, D. L.; BOTTING, R. M.; HLA, T. Cyclooxygenase isozymes: The biology of prostaglandin synthesis and inhibition. **Pharmacological Reviews**, set. 2004. Disponivel em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1124%2Fpr.56.3.3> > Acesso em: 14 jan. 2020. DOI: 10.1124/pr.56.3.3

SIMMONS, S. B. et al. Modeling the heterogeneity of multiple sclerosis in animals. **Trends in immunology**, v. 34, n. 8, p. 410–22, ago. 2013. Disponivel em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23707039> > Acesso em: 31 out. 2019. DOI: 10.1016/j.it.2013.04.006

SOLARO, C. et al. The prevalence of pain in multiple sclerosis: a multicenter cross-sectional study. **Neurology**, v. 63, n. 5, p. 919–21, 14 set. 2004. Disponivel em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15365151> > Acesso em: 31 out. 2019. DOI: 10.1212/01.WNL.0000137047.85868.D6

SOLARO, C. et al. Antiepileptic medications in multiple sclerosis: adverse effects in a three-year follow-up study. **Neurological Sciences**, v. 25, n. 6, p. 307–310, fev. 2005. Disponivel em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12814565> > Acesso em: 25 set. 2019. DOI: 10.1016/s0960-9822(03)00406-8

SOLARO, C.; MESSMER UCCELLI, M. Pharmacological Management of Pain in Patients with Multiple Sclerosis. **Drugs**, v. 70, n. 10, p. 1, 9 jun. 2010. Disponivel em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20568832> > Acesso em: 29 set. 2019. DOI: 10.2165/11537930-000000000-00000

SOLARO, C.; TRABUCCO, E.; MESSMER UCCELLI, M. Pain and multiple sclerosis: Pathophysiology and treatment topical collection on demyelinating disorders. **Current Neurology and Neuroscience Reports**, v. 13, n. 1, 2013. Disponivel em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1007%2Fs10072-004-0362-9> > Acesso em: 19 nov. 2019. DOI: 10.1007/s10072-004-0362-9

SOLARO, C.; UCCELLI, M. M. Management of pain in multiple sclerosis: a pharmacological approach. **Nature reviews. Neurology**, v. 7, n. 9, p. 519–27, 16 ago. 2011. Disponivel em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21844896> > Acesso em: 31 out. 2019. DOI: 10.1038/nrneurol.2011.120

SOLDAN, S. S. et al. Association of human herpes virus 6 (HHV-6) with multiple sclerosis: increased IgM response to HHV-6 early antigen and detection of serum HHV-6 DNA. **Nature medicine**, v. 3, n. 12, p. 1394–7, dez. 1997. Disponivel em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9396611> > Acesso em: 31 out. 2019. DOI: 10.1038/nm1297-1394

SOLOMON, A. J. et al. The contemporary spectrum of multiple sclerosis misdiagnosis. **Neurology**, v. 87, n. 13, p. 1393–1399, 27 set. 2016. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27581217> > Acesso em: 08 fev. 2020. DOI: 10.1212/WNL.0000000000003152

SOUZA, P. S. et al. Physical Exercise Attenuates Experimental Autoimmune Encephalomyelitis by Inhibiting Peripheral Immune Response and Blood-Brain Barrier Disruption. **Molecular Neurobiology**, v. 54, n. 6, p. 4723–4737, 22 ago. 2017. Disponível em: < <http://link.springer.com/10.1007/s12035-016-0014-0> > Acesso em: 24 jan. 2019. DOI: 10.1007/s12035-016-0014-0

SRIRAM, S.; MITCHELL, W.; STRATTON, C. Multiple sclerosis associated with Chlamydia pneumoniae infection of the CNS. **Neurology**, v. 50, n. 2, p. 571–2, fev. 1998. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9484408> > Acesso em: 31 out. 2019. DOI: 10.1212/wnl.50.2.571

STORY, G. M. et al. ANKTM1, a TRP-like Channel Expressed in Nociceptive Neurons, Is Activated by Cold Temperatures. **Cell**, v. 112, n. 6, p. 819–829, 21 mar. 2003. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867403001582?via%3Dihub> > Acesso em: 04 set. 2019. DOI: 10.1016/S0092-8674(03)00158-2

STUCKY, C. L.; LEWIN, G. R. Isolectin B(4)-positive and -negative nociceptors are functionally distinct. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 19, n. 15, p. 6497–505, 1 ago. 1999. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10414978> > Acesso em: 15 out. 2019. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.19-15-06497.1999

SU, K.; BOURDETTE, D.; FORTE, M. **Mitochondrial dysfunction and neurodegeneration in multiple sclerosis** *Frontiers in Physiology*, 2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23898299> > Acesso em: 03 nov. 2019. DOI: 10.3389/fphys.2013.00169

SVENDSEN, K. B. et al. Sensory function and quality of life in patients with multiple sclerosis and pain. **Pain**, v. 114, n. 3, p. 473–81, abr. 2005. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15777872> > Acesso em: 31 out. 2019. DOI: 10.1016/j.pain.2005.01.015

SVENDSEN, K. B.; JENSEN, T. S.; BACH, F. W. Does the cannabinoid dronabinol reduce central pain in multiple sclerosis? Randomised double blind placebo controlled crossover trial. **BMJ**, v. 329, n. 7460, p. 253, 31 jul. 2004. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1136%2Fbmj.38149.566979.AE> > Acesso em: 29 jan. 2020. DOI: 10.1136/bmj.38149.566979.AE

SVENDSEN, K. B.; JENSEN, T. S.; BACH, F. W. Effect of the synthetic cannabinoid dronabinol on central pain in patients with multiple sclerosis--secondary publication. **Ugeskrift for laeger**, v. 167, n. 25–31, p. 2772–2774, 2005. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16014264> > Acesso em: 29 jan. 2020. PMID: 16014264

TAKAYAMA, Y. et al. Emerging Perspectives on Pain Management by Modulation of TRP Channels and ANO1. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 14, p. 3411, 11 jul. 2019. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31336748> > Acesso em: 24 set. 2019. DOI: 10.3390/ijms20143411

TAYLOR-CLARK, T. E. et al. Relative contributions of TRPA1 and TRPV1 channels in the activation of vagal bronchopulmonary C-fibres by the endogenous autacoid 4-oxononenal. **Journal of Physiology**, v. 586, n. 14, p. 3447–3459, jul. 2008. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18499726> > Acesso em: 21 out. 2019. DOI: 10.1113/jphysiol.2008.153585

TAYLOR-CLARK, T. E. et al. Nitrooleic Acid, an Endogenous Product of Nitritative Stress, Activates Nociceptive Sensory Nerves via the Direct Activation of TRPA1. **Molecular Pharmacology**, v. 75, n. 4, p. 820–829, 1 abr. 2009. Disponível em: < <http://molpharm.aspetjournals.org/cgi/doi/10.1124/mol.108.054445> > Acesso em: 25 set. 2019. DOI: 10.1124/mol.108.054445

TAYLOR-CLARK, T. E.; UNDEM, B. J. Ozone activates airway nerves via the selective stimulation of TRPA1 ion channels. **The Journal of Physiology**, v. 588, n. 3, p. 423–433, 1 fev. 2010. Disponível em: < <http://doi.wiley.com/10.1113/jphysiol.2009.183301> > Acesso em: 25 set. 2019. DOI: 10.1113/jphysiol.2009.183301

TAYLOR, C. P. **Mechanisms of analgesia by gabapentin and pregabalin - Calcium channel $\alpha 2\text{-}\delta$ [Cav $\alpha 2\text{-}\delta$] ligands** Pain, mar. 2009. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1016%2Fj.pain.2008.11.019> > Acesso em: 13 out. 2019. DOI: 10.1016/j.pain.2008.11.019

THOMPSON, A. J. et al. Multiple sclerosis. **The Lancet**, v. 391, n. 10130, p. 1622–1636, abr. 2018. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29576504> > Acesso em: 25 set. 2019. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)30481-1

THOMPSON, A. J.; BANEKE, P. **Multiple Sclerosis International Federation (MSIF) Design and editorial support by Summers Editorial & Design Graphics by Nutmeg Productions Printed by Modern Colour Solutions**. 2013. Disponível em: <www.msif.org>. Acesso em: 31 out. 2019.

THOMPSON, A. J.; TOOSY, A. T.; CICCARELLI, O. Pharmacological management of symptoms in multiple sclerosis: current approaches and future directions. **The Lancet. Neurology**, v. 9, n. 12, p. 1182–1199, dez. 2010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21087742> > Acesso em: 31 out. 2019. DOI: 10.1016/S1474-4422(10)70249-0

TOMIĆ, M. A. et al. The effects of levetiracetam, sumatriptan, and caffeine in a rat model of trigeminal pain: Interactions in 2-component combinations. **Anesthesia and Analgesia**, v. 120, n. 6, p. 1385–1393, 25 jun. 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1213%2FANE.0000000000000640> > Acesso em: 19 nov. 2019. DOI: 10.1213/ANE.0000000000000640

TOMINAGA, M. et al. The cloned capsaicin receptor integrates multiple pain-producing stimuli. **Neuron**, v. 21, n. 3, p. 531–43, set. 1998. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9768840> > Acesso em: 15 out. 2019. DOI: 10.1016/s0896-6273(00)80564-4

TONELLO, R. et al. Phalpha1beta acts as a TRPA1 antagonist with antinociceptive effects in mice. **British journal of pharmacology**, p. 57–69, 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1111%2Fbph.13652> > Acesso em: 05 nov. 2019. DOI: 10.1111/bph.13652

TREEDE, R.-D. et al. A classification of chronic pain for ICD-11. **Pain**, v. 156, n. 6, p. 1003–7, jun. 2015. Disponível em: < <https://insights.ovid.com/crossref?an=00006396-900000000-99874> > Acesso em: 25 set. 2019. DOI: 10.1097/j.pain.0000000000000160

TREVISAN, G. et al. Novel Therapeutic Strategy to Prevent Chemotherapy-Induced Persistent Sensory Neuropathy By TRPA1 Blockade. **Cancer Research**, v. 73, n. 10, p. 3120–3131, 15 maio 2013a. Disponível em: < <http://cancerres.aacrjournals.org/cgi/doi/10.1158/0008-5472.CAN-12-4370> > Acesso em: 25 set. 2019. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-4370

TREVISAN, G. et al. Transient Receptor Potential Ankyrin 1 Receptor Stimulation by Hydrogen Peroxide Is Critical to Trigger Pain During Monosodium Urate-Induced Inflammation in Rodents. **Arthritis & Rheumatism**, v. 65, n. 11, p. 2984–2995, nov. 2013b. Disponível em: < <http://doi.wiley.com/10.1002/art.38112> > Acesso em: 25 set. 2019. DOI: 10.1002/art.38112

TREVISAN, G. et al. TRPA1 mediates trigeminal neuropathic pain in mice downstream of monocytes/macrophages and oxidative stress. **Brain**, v. 139, n. 5, p. 1361–1377, maio 2016. Disponível em: < <https://academic.oup.com/brain/article-lookup/doi/10.1093/brain/aww038> > Acesso em: 24 set. 2019. DOI: 10.1016/s0960-10.1093/brain/aww038

TREVISANI, M. et al. 4-Hydroxynonenal, an endogenous aldehyde, causes pain and neurogenic inflammation through activation of the irritant receptor TRPA1. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 33, p. 13519–13524, 14 ago. 2007. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1073%2Fpnas.0705923104> > Acesso em: 27 set. 2019. DOI: 10.1073/pnas.0705923104

TRUINI, A. et al. A mechanism-based classification of pain in multiple sclerosis. **Journal of Neurology**, v. 260, n. 2, p. 351, fev. 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22760942> > Acesso em: 27 ago. 2019. DOI: 10.1007/S00415-012-6579-2

TRUINI, A.; GALEOTTI, F.; CRUCCU, G. Treating pain in multiple sclerosis. **Expert opinion on pharmacotherapy**, v. 12, n. 15, p. 2355–68, out. 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21916786> > Acesso em: 20 out. 2019. DOI: 10.1517/14656566.2011.607162

TZELLOS, T. G. et al. Efficacy of pregabalin and gabapentin for neuropathic pain in spinal-cord injury: An evidence-based evaluation of the literature. **European Journal of Clinical Pharmacology**, set. 2008. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1007%2Fs00228-008-0523-5> > Acesso em: 16 jan. 2020. DOI: 10.1007/s00228-008-0523-5

UCHIDA, K.; STADTMAN, E. R. Covalent attachment of 4-hydroxynonanal to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. A possible involvement of intra- and intermolecular cross-linking reaction. **The Journal of biological chemistry**, v. 268, n. 9, p. 6388–93, 25 mar. 1993. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8454610> > Acesso em: 10 out. 2019. PMID: 8454610

VAN DE LAAR, M. et al. Pain treatment in arthritis-related pain: beyond NSAIDs. **The open rheumatology journal**, v. 6, p. 320–330, 2012. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.2174%2F1874312901206010320> > Acesso em: 20 set. 2019. DOI: 10.2174/1874312901206010320

VASCONCELOS, C. C. F. et al. Multiple sclerosis in Brazil: A systematic review. **Clinical Neurology and Neurosurgery** Elsevier B.V., , 1 dez. 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1016%2Fj.clineuro.2016.07.011> > Acesso em: 31 out. 2019. DOI: 10.1016/j.clineuro.2016.07.011

VIÑUELA-FERNÁNDEZ, I. et al. Pain mechanisms and their implication for the management of pain in farm and companion animals. **Veterinary Journal**, set. 2007. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1016%2Fj.tvjl.2007.02.002> > Acesso em: 25 out. 2019. DOI: 10.1016/j.tvjl.2007.02.002

VRANKEN, J. H. et al. Pregabalin in patients with central neuropathic pain: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial of a flexible-dose regimen. **Pain**, v. 136, n. 1–2, p. 150–7, maio 2008. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17703885> > Acesso em: 28 jan. 2020. DOI: 10.1016/j.pain.2007.06.033

VRANKEN, J. H. et al. Duloxetine in patients with central neuropathic pain caused by spinal cord injury or stroke: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Pain**, v. 152, n. 2, p. 267–73, fev. 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21078545> > Acesso em: 31 out. 2019. DOI: 10.1016/j.pain.2010.09.005

VRIENS, J.; VOETS, T. Heat sensing involves a TRiPlet of ion channels. **British journal of pharmacology**, v. 176, n. 20, p. 3893–3898, out. 2019. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31372975> > Acesso em: 05 nov. 2019. DOI: 10.1111/bph.14812

WANG, I.-C. et al. Peripheral sensory neuron injury contributes to neuropathic pain in experimental autoimmune encephalomyelitis. **Scientific Reports**, v. 7, n. 42304, p. 1–14, 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1038%2Fsrep42304> > Acesso em:

25 set. 2019. DOI: 10.1038/srep42304

WANG, S. et al. Phospholipase C and protein kinase A mediate bradykinin sensitization of TRPA1: a molecular mechanism of inflammatory pain. **Brain : a journal of neurology**, v. 131, n. Pt 5, p. 1241–51, maio 2008. Disponível em: < <https://doi.org/10.1093/brain/awn060> > Acesso em: 25 set. 2019. DOI: 10.1093/brain/awn060

WANG, Y. Y.; CHANG, R. B.; LIMAN, E. R. TRPA1 is a component of the nociceptive response to CO₂. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 30, n. 39, p. 12958–63, 29 set. 2010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20881114> > Acesso em: 21 out. 2019. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2715-10.2010

WASLO, C. et al. Lipoic Acid and Other Antioxidants as Therapies for Multiple Sclerosis. **Current treatment options in neurology**, v. 21, n. 6, p. 26, 6 maio 2019. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31056714> > Acesso em: 05 nov. 2019. DOI: 10.1007/s11940-019-0566-1

WATSON, J. C.; SANDRONI, P. Central Neuropathic Pain Syndromes. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 91, n. 3, p. 372–385, 1 mar. 2016. Disponível em: < <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0025619616000732?via%3Dihub> > Acesso em: 16 out. 2019. DOI: 10.1016/J.MAYOCP.2016.01.017

WEI, H. et al. Attenuation of mechanical hypersensitivity by an antagonist of the TRPA1 ion channel in diabetic animals. **Anesthesiology**, v. 111, n. 1, p. 147–154, 2009. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1097%2FALN.0b013e3181a1642b> > Acesso em: 11 out. 2019. DOI: 10.1097/ALN.0b013e3181a1642b

WEI, H. et al. Spinal transient receptor potential ankyrin 1 channel contributes to central pain hypersensitivity in various pathophysiological conditions in the rat. **Pain**, v. 152, n. 3, p. 582–591, mar. 2011. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1016%2Fj.pain.2010.11.031> > Acesso em: 11 nov. 2019. DOI: 10.1016/j.pain.2010.11.031

WEN, J. et al. Efficacy of N-Acetylserotonin and Melatonin in the EAE Model of Multiple Sclerosis. **Journal of Neuroimmune Pharmacology**, v. 11, n. 4, p. 763–773, 1 dez. 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1007%2Fs11481-016-9702-9> > Acesso em: 08 nov. 2019. DOI: 10.1007/s11481-016-9702-9

WES, P. D. et al. TRPC1, a human homolog of a Drosophila store-operated channel. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 92, n. 21, p. 9652–9656, 10 out. 1995. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7568191> > Acesso em: 24 set. 2019. DOI: 10.1073/pnas.92.21.9652

WEYER-MENKHOFF, I.; LÖTSCH, J. TRPA1 Sensitization Produces Hyperalgesia to Heat but not to Cold Stimuli in Human Volunteers. **The Clinical journal of pain**, v. 35, n. 4, p. 321–327, abr. 2019. Disponível em: <

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30664549> > Acesso em: 05 nov. 2019. DOI: 10.1097/AJP.0000000000000677

WOODWARD, L. J. et al. Neonatal MRI to predict neurodevelopmental outcomes in preterm infants. **New England Journal of Medicine**, v. 355, n. 7, p. 685–694, 17 ago. 2006. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16914704> > Acesso em: 08 fev. 2020. DOI: 10.1056/NEJMoa053792

WOOLF, C. J. What is this thing called pain? **The Journal of clinical investigation**, v. 120, n. 11, p. 3742–4, nov. 2010. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1172%2FJCI45178> > Acesso em: 25 set. 2019. DOI: 10.1172/JCI45178

WOOLF, C. J.; MANNION, R. J. Neuropathic pain: aetiology, symptoms, mechanisms, and management. **The Lancet**, v. 353, n. 9168, p. 1959–1964, 5 jun. 1999. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10371588> > Acesso em: 15 out. 2019. DOI: 10.1016/S0140-6736(99)01307-0

YANG, S.; CHANG, M. C. Chronic pain: Structural and functional changes in brain structures and associated negative affective states. **International Journal of Molecular Sciences** MDPI AG, , 1 jul. 2019. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.3390%2Fijms20133130> > Acesso em: 07 nov. 2019. DOI: 10.3390/ijms20133130

YE, Z. et al. Antinociceptive effects of dezocine on complete Freund's adjuvant-induced inflammatory pain in rats. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 15, n. 6, p. 5469–5474, 1 jun. 2018. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.3892%2Fetm.2018.6110> > Acesso em: 24 out. 2019. DOI: 10.3892/etm.2018.6110

YOUSUF, M. S. et al. Sensory Neurons of the Dorsal Root Ganglia Become Hyperexcitable in a T-Cell-Mediated MOG-EAE Model of Multiple Sclerosis. **eneuro**, v. 6, n. 2, p. ENEURO.0024-19.2019, mar. 2019. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30957012> > Acesso em: 26 set. 2019. DOI: 10.1523/ENEURO.0024-19.2019

YU, X. et al. TRP channel functions in the gastrointestinal tract. **Seminars in Immunopathology**, v. 38, n. 3, p. 385–396, 12 maio 2016. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26459157> > Acesso em: 24 set. 2019. DOI: 10.1007/s00281-015-0528-y

ZAKRZEWSKA, J. M.; MCMILLAN, R. Trigeminal neuralgia: the diagnosis and management of this excruciating and poorly understood facial pain. **Postgraduate medical journal**, v. 87, n. 1028, p. 410–6, jun. 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21493636> > Acesso em: 31 out. 2019. DOI: 10.1136/pgmj.2009.080473

ZHU, X. et al. Molecular cloning of a widely expressed human homologue for the Drosophila trp gene. **FEBS letters**, v. 373, n. 3, p. 193–8, 16 out. 1995. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7589464> > Acesso em: 24 set. 2019.

DOI: 10.1016/0014-5793(95)01038-g

ZHU, Z. et al. TRP channels and their implications in metabolic diseases. **Pflügers Archiv - European Journal of Physiology**, v. 461, n. 2, p. 211–223, 26 fev. 2011. Disponivel em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21110037> > Acesso em: 24 set. 2019. DOI: 10.1007/s00424-010-0902-5

ZYGMUNT, P. M.; HÖGESÄTTT, E. D. TRPA1. **Handbook of Experimental Pharmacology**, v. 222, p. 583–630, 2014. Disponivel em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24756722> > Acesso em: 06 nov. 2019. DOI: 10.1007/978-3-642-54215-2_23

REFERÊNCIAS DE IMAGEM

Figura 1: BASBAUM, A. I. et al. Cellular and molecular mechanisms of pain. **Cell**, v. 139, n. 2, p. 267–84, out. 2009. Disponível em:
< <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1016%2Fj.cell.2009.09.028> >
Acesso em: 06 nov. 2019. DOI: 10.1016/j.cell.2009.09.028

Figura 2: Fonte da autora

ANEXO A- CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



Comissão de Ética no Uso de Animais

da
Universidade Federal de Santa Maria

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliação da participação do receptor TRPA1 na nocicepção observada em um modelo de esclerose múltipla progressiva em camundongos", protocolada sob o CEUA nº 7218010817 (00 001640), sob a responsabilidade de **Gabriela Trevisan dos Santos** e equipe; Fernando Roberto Antunes Fernando Bellinaso; Caren Tatiane de David Antoniazzi; Amanda Spring de Almeida - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Maria (CEUA/UFSM) na reunião de 14/09/2017.

We certify that the proposal "Evaluation of TRPA1 receptor participation in nociception observed in a mice progressive multiple sclerosis model", utilizing 280 isogenic mice (280 females), protocol number CEUA 7218010817 (00 001640), under the responsibility of **Gabriela Trevisan dos Santos** and team; Fernando Roberto Antunes Fernando Bellinaso; Caren Tatiane de David Antoniazzi; Amanda Spring de Almeida - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Santa Maria (CEUA/UFSM) in the meeting of 09/14/2017.

Finalidade da Proposta: *Pesquisa*

Vigência da Proposta: de 09/2017 a 12/2019

Área: *Bioquímica E Biologia Molecular*

Origem: *Biotério Central UFSM*

Espécie: *Camundongos isogênicos*

sexo: *Fêmeas*

idade: *50 a 60 dias*

N: *280*

Linhagem: *C57BL/6*

Peso: *25 a 30 g*

Local do experimento: *Laboratório de Pesquisa Experimental da Fisiopatologia da Dor, prédio 21, UFSM.*

Santa Maria, 11 de março de 2020

Prof. Dra. Patrícia Severo do Nascimento
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Saulo Tadeu Lemos Pinto Filho
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de Santa Maria