



CONTRIBUIÇÃO DOS RECEPTORES SEROTONINÉRGICOS NOS SINAIS NOCICEPTIVOS INDUZIDOS POR UM MODELO EXPERIMENTAL DE FIBROMIALGIA EM CAMUNDONGOS MACHOS E FÊMEAS

CAROLINA CRISTÓVÃO MARTINS¹; ANGÉLICA SCHIAVON DOS REIS²;
KETLYN PEREIRA DA MOTTA³; VANESSA MACEDO ESTEVES DA ROCHA⁴;
CRISTIANE LUCHESE⁵; ETHEL ANTUNES WILHELM⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – carol_cristovao@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – ge_schiavon@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – mottaketlyn@yahoo.com.br

⁴Universidade Federal de Pelotas – vnsmacedo@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – cristiane_luchese@yahoo.com.br

⁶Universidade Federal de Pelotas - ethelwilhelm@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

A fibromialgia é caracterizada como uma condição dolorosa generalizada que persiste por mais de três meses, especialmente nos músculos esqueléticos. De acordo com os dados epidemiológicos, estima-se que a prevalência da fibromialgia varie entre 0,6 - 4,4% na população brasileira, sendo que as mulheres são mais suscetíveis a desenvolverem esta síndrome (SOUZA e PERISSINOTTI, 2018; NEUMEISTER e NEUMEISTER, 2020). Nesse contexto, a fibromialgia vem sendo considerada como um problema de saúde pública uma vez que afeta negativamente a qualidade de vida da população e como consequência, pode levar à incapacidade dentro de um contexto social e econômico (SARZI-PUTTINI et al., 2020).

Embora a etiologia da fibromialgia seja considerada complexa, diversos fatores parecem estar envolvidos no desenvolvimento dos sintomas clínicos dessa patologia, incluindo fatores genéticos, psicológicos, emocionais e ambientais. Além disso, a fisiopatologia da fibromialgia ainda não está completamente elucidada. Entretanto, sugere-se que esta síndrome seja de origem neurogênica, em que possíveis alterações na transmissão serotoninérgica têm sido relatadas como uma das vias neurobiológicas envolvidas na fibromialgia em estudos clínicos e pré-clínicos (SINGH et al., 2019; BRUM et al., 2022). De fato, estudos prévios demonstraram níveis reduzidos de triptofano circulante, o precursor da serotonina (5-HT), acompanhado de uma diminuição na taxa do transporte de 5-HT e dos seus metabólitos em pacientes diagnosticados com fibromialgia (RUSSEL et al., 1989, RUSSEL et al., 1992).

Ainda, há relatos de que os níveis reduzidos de 5-HT na via descendente da dor podem desencadear o aparecimento dos sintomas característicos da fibromialgia (SINGH et al., 2019). Por esse motivo, os fármacos antidepressivos, principalmente aqueles pertencentes à classe dos inibidores seletivos da recaptação de serotonina, são geralmente prescritos para o tratamento da fibromialgia (LI et al., 2016). Estudos pré-clínicos e clínicos demonstraram que eles amenizam os sintomas e as comorbidades associadas à fibromialgia (NISHIYORI e UEDA, 2011; TZADOK e ABLIN, 2020). Nesse contexto, para ampliar o conhecimento sobre o papel da neurotransmissão serotoninérgica no desenvolvimento da fibromialgia, esse trabalho tem como objetivo investigar a contribuição dos diferentes receptores serotoninérgicos, assim como avaliar as respostas nociceptivas em camundongos machos e fêmeas expostos a um reconhecido modelo experimental de fibromialgia, o estresse ao frio intermitente (EFI).

2. METODOLOGIA

Todos os experimentos foram conduzidos de acordo com as normas da Comissão de Ética e Bem-Estar Animal da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) (CEEA 28142-2019). Para a realização desse protocolo experimental, foram utilizados camundongos machos e fêmeas, com 60 dias de idade, da linhagem Swiss, provenientes do Biotério Central da UFPel.

Inicialmente, os camundongos machos e fêmeas foram divididos em dois grupos experimentais: **i)** controle e **ii)** EFI. Os animais do grupo EFI foram mantidos em um ambiente com temperatura controlada de $4 \pm 2^\circ\text{C}$, a partir das 16:30 no primeiro dia até as 10:00h do próximo dia. Na manhã seguinte (dia 2), os animais foram expostos a temperaturas que alternavam entre 4 e $22 \pm 2^\circ\text{C}$ a cada 30 minutos. Às 16:30h, os camundongos foram novamente realocados no ambiente à $4 \pm 2^\circ\text{C}$ durante a noite. Este mesmo procedimento foi repetido no dia seguinte (dia 3). A partir das 10:00h do quarto dia do protocolo experimental, os camundongos foram adaptados a uma temperatura de $22 \pm 2^\circ\text{C}$ por 2 horas. Enquanto isso, os camundongos do grupo controle foram mantidos a uma temperatura constante de $22 \pm 2^\circ\text{C}$ (NISHIYORY e UEDA, 2008). Após o período de adaptação, os animais foram submetidos aos testes comportamentais relacionados à nocicepção para confirmar o desenvolvimento da sensibilidade mecânica e da hiperalgesia muscular, conforme metodologias descritas por ALAMRI et al. (2018) e BURNES et al. (2008), respectivamente.

Para avaliar a contribuição dos receptores serotoninérgicos na sensibilidade mecânica induzia pelo EFI, outro grupo de camundongos foram divididos em quatro grupos experimentais para cada fármaco antagonista serotoninérgico administrado, de acordo com o sexo. Após a exposição ao EFI, os camundongos machos e fêmeas pertencentes ao grupo controle ou EFI foram tratados com solução salina 0,9% ou com os respectivos fármacos quetanserina (0,3 mg/kg), um antagonista seletivo do receptor 5-HT_{2A/2C}, ou ondansetrona (0,5 mg/kg), um antagonista seletivo do receptor 5-HT₃, pela via intraperitoneal (i.p.). Transcorridos 30 minutos dos tratamentos, a sensibilidade mecânica destes animais foi avaliada (ALAMRI et al.; 2018). O preparo e as doses dos antagonistas serotoninérgicos administrados foram selecionados de acordo com estudos previamente realizados (JESSE et al., 2009; SILVA et al., 2017).

Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM) e analisados por meio da análise de variância (ANOVA) de duas vias, seguida pelo teste de Tukey. Valores de $P < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados ilustrados na Figura 1A e 1B demonstraram que os camundongos machos e fêmeas expostos ao EFI apresentaram um aumento na sensibilidade mecânica, acompanhado de uma diminuição na força muscular, quando comparados aos grupos controle. Tais evidências sugerem que a exposição ao EFI desencadeia o aparecimento dos sinais nociceptivos característicos da fibromialgia em camundongos de ambos os sexos.

Conforme demonstrado nas Figuras 2A – 2D, os camundongos de ambos os性os que foram expostos ao EFI e tratados com os antagonistas serotoninérgicos quetanserina e ondansetrona apresentaram uma redução significativa na sensibilidade mecânica, em relação aos grupos expostos somente ao EFI.

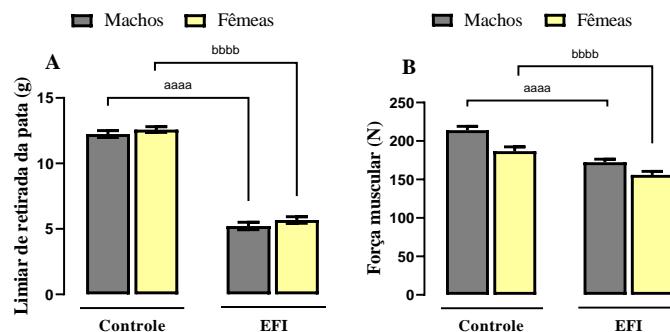


Figura 1. Efeito da exposição ao EFI na sensibilidade mecânica (A) e na força muscular (B) em camundongos machos e fêmeas. (aaaa) $p < 0,0001$ e (bbbb) $p < 0,0001$ denotam níveis de significância quando comparados ao grupo controle em camundongos machos e fêmeas, respectivamente (ANOVA de duas vias, seguido pelo teste de Tukey).

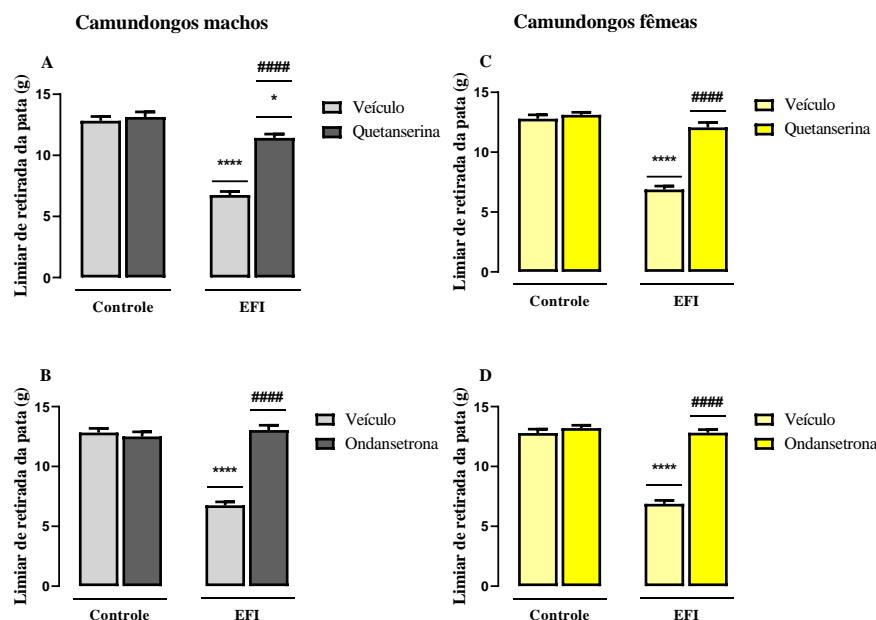


Figura 2. Envolvimento dos receptores serotoninérgicos 2A/2C e 5-HT₃ na sensibilidade mecânica induzida pela exposição ao EFI em camundongos machos (A e B) e fêmeas (C e D), respectivamente. (****) $p < 0,0001$ denota níveis de significância quando comparado ao grupo controle e (####) $p < 0,0001$ denota níveis de significância quando comparado ao grupo EFI (ANOVA de duas vias, seguido pelo teste de Tukey).

Diante do exposto, os dados indicam que os receptores serotoninérgicos 5-HT_{2A/2C} e 5-HT₃ podem estar envolvidos na manifestação dos sinais nociceptivos induzidos por esse modelo experimental de fibromialgia em camundongos, de forma independente do sexo. Ainda, os resultados obtidos ampliam o conhecimento e reforçam que a neurotransmissão serotoninérgica, como um todo, pode ser considerada como um dos principais mecanismos fisiopatológicos relacionados ao desenvolvimento da fibromialgia.

4. CONCLUSÕES

A partir desses resultados, foi possível inferir que a exposição ao EFI desencadeou a manifestação de sinais nociceptivos, semelhantes aos sintomas



clínicos da fibromialgia, em camundongos machos e fêmeas. Tais alterações comportamentais podem ser atribuídas à modulação dos receptores serotoninérgicos 5-HT_{2A/2C} e 5-HT₃. Cabe ressaltar que mais estudos são necessários para compreender melhor a fisiopatologia envolvida na fibromialgia.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALAMRI, F.F.; SHOYAIBI, A.A.; BIGGERS, A.; Jayaraman, S.; Guindon, J.; Karamyan, V. T. Applicability of the grip strength and automated von Frey tactile sensitivity tests in the mouse photothrombotic model of stroke. **Behavioral Brain Research**, v. 336, p. 250-255, 2018.
- BRUM, E. S., BECKER, G.; FIALHO, M.; OLIVEIRA, S. M. Animal models of fibromyalgia: What is the best choice? **Pharmacology & therapeutics**, v. 230, p. 107959, 2022
- BURNES, L. A.; KOLKER, S. J.; DANIELSON, J. F.; WALDER, R. Y.; SLUKA, K. A. Enhanced muscle fatigue occurs in male but not female ASIC3-/ mice. **American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 294, p. 1347-1355, 2008.
- JESSE, C. R.; ROCHA, J. B.; NOGUEIRA, C. W.; SAVENAGO, L. Further analysis of the antinociceptive action caused by p-methoxyl-diphenyl diselenide in mice. **Pharmacology, Biochemistry, and Behavior**, v. 91, p. 573-580, 2009.
- LI, S.; HAN, J.; WANG, D. S.; FENG, B.; DENG, Y. T.; WANG, X. S.; YANG, Q.; ZHAO, M. G. Echinocystic acid reduces reserpine-induced pain/depression dyad in mice. **Metabolic Brain Disease**, v. 31, p. 455-463, 2016.
- NEUMEISTER, M.W.; NEUMEISTER, E. L. Fibromyalgia. **Clinics in Plastic Surgery**, v. 47, p. 203-213, 2020.
- NISHIYORI, M.; et al. Permanent relief from intermittent cold stress-induced fibromyalgia-like abnormal pain by repeated intrathecal administration of antidepressants. **Molecular Pain**, v. 7, p. 69, 2011
- SARZI-PUTTINI, P.; GIORGI, V.; MAROTTO, D.; ATZENI, F. Fibromyalgia: an update on clinical characteristics, aetiopathogenesis and treatment. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 16, p. 645-660, 2020.
- SILVA, V. D. G.; REIS, A. S.; PINZ, M. P.; da FONSECA, C.; DUARTE, L.; ROEHERS, J. A.; ALVES, D.; LUCHESE, C.; WILHELM, E. A. Further analysis of acute antinociceptive and anti-inflammatory actions of 4-phenylselenenyl-7-chloroquinoline in mice. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 31, p. 513-525, 2017.
- SINGH, L.; KAUR, A.; BHATTI, M. S.; BHATTI, R. Possible Molecular Mediators Involved and Mechanistic Insight into Fibromyalgia and Associated Co-morbidities. **Neurochemical Research**, v. 44, n. 7, p. 1517-1532, 2019.
- SOUZA, J. B.; PERISSINOTTI, D. M. N. The prevalence of fibromyalgia in Brazil – a population-based study with secondary data of the study on chronic pain prevalence in Brazil. **Brazilian Journal of Pain**, v. 1, n. 4, p. 345-348, 2018.
- RUSSELL, I. J.; MICHALEK, J. E.; VIPRAIO, G. A.; FLETCHER, E. M.; WALL, K. Serum amino acids in fibrositis/fibromyalgia syndrome. **Journal of Rheumatology Supplement**, v. 19, p. 158-163, 1989.
- RUSSELL, I. J.; VAEROY, H.; JAVORS, M.; NYBERG, F. Cerebrospinal fluid biogenic amine metabolites in fibromyalgia/fibrositis syndrome and rheumatoid arthritis. **Arthritis Rheumatology**, v. 35, p. 550-556, 1992.
- TZADOK, R.; ABLIN, J. N. Current and Emerging Pharmacotherapy for Fibromyalgia. **Pain Research and Management**, v. 2020, p. 6541798, 2020.