

JOÃO IGNACIO FERRARA JUNIOR

Efeito do tratamento com laser de baixa intensidade  
em modelo experimental de dor orofacial no  
músculo masseter de ratos

Dissertação apresentada ao Instituto de  
Ciências Biomédicas da Universidade de São  
Paulo para obtenção do título de Mestre em  
Ciências Morfofuncionais.

Área de Concentração: Anatomia

Orientadora: Profa. Dra. Camila Squarzoni  
Dale

Versão Original

São Paulo  
2017

## RESUMO

FERRARA JUNIOR, J. I. **Efeito do tratamento com laser de baixa intensidade em modelo experimental de dor orofacial no músculo masseter de ratos.** 2017. 88 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Morfofuncionais) - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

A disfunção temporomandibular (DTM) é um termo coletivo que abrange um conjunto de problemas clínicos que afetam os músculos da mastigação, a articulação temporomandibular e estruturas associadas. Trata-se da maior causa de dor não dental na região orofacial, sendo que 39,2% dos indivíduos apresentam, ao menos, um sintoma de DTM, dos quais 25,4% são associados a dor, e 15,4% apresentam dor muscular. Apesar de sua alta prevalência clínica, os mecanismos da dor orofacial muscular crônica não são ainda bem compreendidos. Estudos experimentais demonstram que a inflamação desempenha um papel relevante no desenvolvimento de patologias teciduais associadas a estas disfunções crônicas, desencadeando a produção de diversos mediadores químicos pelas células do tecido lesado e células imunitárias recém infiltradas. A fractalquina é uma quimiocina que, sob condições normais, está expressa em abundância na superfície extracelular dos neurônios, e seu receptor, CX3CR1, tem sido amplamente caracterizado na microglia. Estudos têm demonstrado que a fractalquina induz a ativação e migração da microglia, sugerindo que neurônios podem comunicar-se com células gliais através da interação da fractalquina/CX3CR1, promovendo mudanças funcionais, incluindo a liberação de mediadores citotóxicos e inflamatórios, colaborando para a manutenção de processos nociceptivos. Os tratamentos para o alívio e controle da dor das DTM devem ser pouco invasivos, reversíveis e conservadores. Algumas terapias medicamentosas possuem efeitos indesejáveis. Assim, outras terapias estão sendo investigadas para o alívio da dor, especialmente dor muscular, e o laser de baixa intensidade (LBI) parece ser uma opção promissora. Assim, foi verificado o efeito do LBI sobre a sensibilidade dolorosa dos animais em modelos *in vivo* de dor persistente, através de avaliação de sensibilidade mecânica orofacial, e modelos *in vitro* de análise histológica do masseter de ratos e da avaliação da ativação da microglia, bem como da expressão da fractalquina em ensaios de imunohistoquímica. Os dados obtidos demonstram que o tratamento com LBI reverte a hipersensibilidade mecânica dos animais. Este efeito ocorre por uma inibição da resposta inflamatória local, observada pela diminuição do infiltrado inflamatório visualizado no masseter após o tratamento com o LBI e por uma inibição central de fractalquina observada no gânglio trigeminal. Em conjunto, esses dados reforçam o papel do LBI como uma alternativa terapêutica importante, capaz não apenas de aliviar os sintomas de dor mas que possui efeitos sistêmicos e capaz de modular a resposta inflamatória em nível central.

**Palavras-chave:** Laser de baixa intensidade. Dor facial. Microglia. Fractalquina. Inflamação.

## ABSTRACT

FERRARA JUNIOR, J. I. **Effect of low-intensity laser treatment on experimental model of orofacial pain in masseter muscle of rats.** 2017. 88 f. Masters thesis (Morfofunctional Sciences) - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

Temporomandibular disorder (TMD) is a collective term that encompasses a set of clinical problems that affect the masticatory muscles, the temporomandibular joint, and associated structures. It is the largest cause of non-dental pain in the orofacial region with 39.2% of the individuals presenting at least one TMD symptom of which 25.4% were associated with pain, and 15.4% presented muscle pain. Despite their high clinical prevalence, the mechanisms of chronic craniofacial muscle pain are not yet well understood. Experimental studies have been published indicating that inflammation plays a relevant role in the development of tissue disorders associated with these chronic dysfunctions, triggering the production of various chemical mediators by damaged tissue cells and newly infiltrated immune cells. Fractalkine is a chemokine that, under normal conditions, is expressed in abundance on the extracellular surface of neurons, and its receptor, CX3CR1, has been widely characterized in microglia. Studies have shown that fractalkine induces the activation and migration of microglia, suggesting that neurons can communicate with glial cells through the interaction of the fractalkine and the CX3CR1 receptor, promoting functional changes, including the release of cytotoxic and inflammatory mediators, collaborating for the maintenance of nociceptive processes. Treatments for TMD pain relief and control should be minimally invasive, reversible and conservative. Some drug therapies have undesirable effects. Because of this, other therapies are being investigated for pain relief, especially muscle pain, and low-intensity laser treatment (LILT) seems to be a promising option. Thus, the effect of LBI on the pain sensitivity of the animals in *in vivo* models of persistent pain through orofacial mechanical sensitivity evaluation and *in vitro* models of histological analysis of rat masseter and the evaluation of microglia activation as well the expression of fractalkine in immunohistochemical assays. The data obtained demonstrate that treatment with LBI reverses the mechanical hypersensitivity of the animals. This effect is due to an inhibition of the local inflammatory response, observed by the decrease of the inflammatory infiltrate visualized in the masseter after the LBI treatment and by a central inhibition of fractalkine observed in the trigeminal ganglion. Together, these data reinforce the role of LBI as an important therapeutic alternative, not only able to alleviate pain symptoms but which has systemic effects and modulates the inflammatory response at the central level.

**Keywords:** Low-intensity laser therapy (LILT). Facial pain. Microglia. Fractalkine. Inflammation.

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Mecanismos celulares e moleculares da dor

A origem da dor e seu duplo papel como função fisiológica e doença debilitante tem fascinado cientistas e filósofos por séculos, sendo um dos maiores desafios na prática clínica e ciência básica (KUNER, 2010).

Os conceitos mais recentes apontam que a dor é uma experiência dolorosa associada com dano tecidual potencial ou atual com componentes sensoriais, emocionais, cognitivos e sociais (WILLIAMS; CRAIG, 2016), que desempenham um papel essencial, constituindo-se em precoce dispositivo de advertência para proteger o corpo de eventuais injúrias teciduais, além de contribuir na reparação após dano através da introdução de hipersensibilidade a estímulos normalmente inócuos. É alicerçada em uma complexa experiência que não envolve somente a transdução de estímulos ambientais nocivos, mas também a análise cognitiva e resposta emocional pelo sistema nervoso central. A própria reorganização e remodelação estrutural dos mecanismos nociceptivos representam um grande desafio e uma excitante área de avanço na compreensão da dor (JULIUS; BASBAUM, 2001; KUNER, 2017; WILLIAMS; CRAIG, 2016).

Múltiplos mecanismos moleculares e celulares operam sozinhos ou em combinação dentro do sistema nervoso central (SNC) e periférico (SNP) para produzir as distintas formas de dor. Deste modo, a mensagem recebida pelo SNC pode ser suprimida, retransmitida inalterada ou amplificada. Assim, a dor, sob dinâmica modulação, também pode se tornar mal adaptada, refletindo função patológica do SNC na qual se torna exagerada e espontânea, não desempenhando nenhuma função reparativa ou protetiva. O que torna a dor um problema clínico relevante é a sensação desagradável a ela associada e a urgência em obter seu alívio, bem como a eliminação de sua causa, sendo estes os fatores principais que motivam os pacientes a procurar tratamento (BASBAUM et al., 2009; COSTIGAN; WOOLF, 2000; JULIUS; BASBAUM, 2001; SCHAIBLE; RICHTER, 2004; SCHOLZ; WOOLF, 2002; WIESELER-FRANK; MAIER; WATKINS, 2004; WOOLF; MA, 2007).

Embora a palavra “dor” seja utilizada para descrever qualquer sentimento ou impressão que é desagradável e machuca, isto não significa que dor seja uma entidade monolítica. A dor serve como sinal de advertência e alarme ativados em resposta a iminentes danos ao organismo disparados somente por estímulos nocivos, agindo em dispositivos sensoriais especializados de

alto limiar. Este processo é definido como nocicepção que é essencial para a sobrevivência dos organismos em ambientes potencialmente hostis e consiste no processo pelo qual estímulos químicos, mecânicos e térmicos intensos são detectados por uma subpopulação de fibras nervosas periféricas aferentes denominadas nociceptores (BASBAUM et al., 2009; COSTIGAN; WOOLF, 2000; JULIUS; BASBAUM, 2001; SCHAIBLE; RICHTER, 2004; SCHOLZ; WOOLF, 2002; WOOLF; MA, 2007).

Além disso, a dor pode ser dividida em categorias distintas, assim compreendidas: fisiológica ou nociceptiva, inflamatória e neuropática. A dor fisiológica tem função de alerta e é um sinal característico dos mecanismos de proteção do organismo contra dano tecidual. A dor inflamatória é gerada pela estimulação inespecífica da inervação sensitiva e pela ação de mediadores químicos liberados durante o processo inflamatório. Já a dor neuropática se distingue da dor aguda principalmente devido à existência de plasticidade neuronal no processo de percepção de dor, sendo resultante de lesões no sistema nervoso periférico, medula espinal e/ou encéfalo, as quais induzem sensibilização central e periférica, levando a alodinia (dor em resposta a estímulos não lesivos), dor espontânea e hiperalgesia (dor exagerada em resposta a estímulos lesivos) (SCHAIBLE; RICHTER, 2004).

A primeira etapa na sequência de eventos que originam o fenômeno doloroso é a conversão dos estímulos ambientais nocivos, tais como, calor, frio exacerbado, pressão e químicos são convertidos em sinais eletroquímicos ou potenciais de ação, sendo esta ação capitaneada pelos nociceptores (BASBAUM et al., 2009; COSTIGAN; WOOLF, 2000; JULIUS; BASBAUM, 2001; KUNER, 2010; SCHAIBLE; RICHTER, 2004; SCHOLZ; WOOLF, 2002; WOOLF; MA, 2007).

Os nociceptores desenvolvem-se a partir das células tronco da crista neural que migram da região dorsal do tubo neural e, em sua maioria, expressam o receptor TrkA (tirosina quinase A) para o fator de crescimento nervoso (NGF). A formação da maior parte dos neurônios TrkA<sup>+</sup> é dependente do fator de transcrição proneural neurogenina 1 (Ngn1). Seguindo a neurogênese sensorial, os nociceptores submetem-se a duas vias distintas de diferenciação que levam a formação de duas grandes classes de nociceptores: peptidérgicos e não-peptidérgicos. Estes dois conjuntos de nociceptores expressam repertórios distintos de canais iônicos e receptores e inervam diferentes alvos centrais e periféricos (BASBAUM et al., 2009; COSTIGAN; WOOLF, 2000; WOOLF; MA, 2007).

A caracterização neuroanatômica e molecular dos nociceptores demonstram sua heterogeneidade. Os receptores peptidérgicos são expressos para os neuropeptídeos, substância P e peptídeo gene-relacionado a calcitonina (CGRP), enquanto que os não-peptidérgicos

expressam para o fator de crescimento neurotrófico derivado das células da glia (GDNF), neurturina, persefina, artemina, isolectina B4 (IB4), assim como para subtipos específicos de receptores purinérgicos, notadamente P2X<sub>3</sub> (receptor purinérgico de canal de íons controlado por ligante três). Nociceptores também podem ser distinguidos de acordo com suas expressões diferenciais de canais que conferem sensibilidade ao calor (TRPV-receptor de potencial transitório vanilóide), frio (TRPM-receptor de potencial transitório melastatina), ácido (ASICs-receptor ácido sensível) e irritantes (TRPA-receptor de potencial transitório anquirina) (BASBAUM et al., 2009; CLAPHAM et al., 2005; COSTIGAN; WOOLF, 2000; WOOLF; MA, 2007).

Os nociceptores estão localizados nas terminações nervosas de fibras A $\delta$  e C e, quando ativados, sofrem alterações em seu potencial de membrana, permitindo a deflagração de potenciais de ação. Os componentes operacionais dos nociceptores incluem o terminal periférico que inerva o tecido alvo e transduz os estímulos nocivos, um axônio que conduz os potenciais de ação da periferia para o SNC, um corpo celular na raiz do gânglio dorsal e um terminal central onde a informação é transferida para neurônios de segunda ordem nas sinapses. Transdução é mediada por canais iônicos transdutores de alto limiar que ativam canais sódio voltagem-dependentes que, por sua vez, despolarizam o terminal periférico, gerando potenciais de ação (BASBAUM et al., 2009; COSTIGAN; WOOLF, 2000; JULIUS; BASBAUM, 2001; SCHAIBLE; RICHTER, 2004; SCHOLZ; WOOLF, 2002; WOOLF; MA, 2007). As fibras aferentes nociceptivas terminam, predominantemente, na coluna posterior da medula espinal que pode ser subdividida em seis camadas (lâminas) distintas de acordo com as características citológicas de seus neurônios. Neurônios nociceptivos estão localizados na coluna posterior superficial, na lâmina marginal (lâmina I) e na substância gelatinosa (lâmina II). A maioria destes neurônios recebe informação sináptica das fibras A $\delta$  e C. Muitos dos neurônios na camada marginal (lâmina I) respondem exclusivamente a estimulação nociva e assim são chamados de neurônios nociceptivos específicos e se projetam para centros superiores. Alguns neurônios dessa camada, chamados de neurônios de amplo espectro dinâmico, respondem de maneira graduada à estimulação mecânica nociva e não-nociva. Já a substância gelatinosa (lâmina II) é formada quase exclusivamente por interneurônios, excitatórios e inibitórios (KANDELL et al., 2013).

A transmissão sináptica entre nociceptores e neurônios da coluna posterior é mediada por neurotransmissores químicos liberados nas terminações centrais. O principal neurotransmissor excitatório liberado pelas fibras A $\delta$  e C é o aminoácido glutamato. Os receptores para o glutamato são os primeiros mediadores da transmissão sináptica entre os

sinais nociceptivos resultantes e os neurônios espinais. A transmissão ocorre em resposta ao influxo de cálcio no terminal central, liberando glutamato assim como múltiplos moduladores sinápticos e moléculas sinalizadoras, estando sujeito às influências excitatórias e inibitórias. Os nociceptores possuem um alto limiar e normalmente respondem somente a estímulos de energia suficiente para potencializar ou provocar danos teciduais (COSTIGAN; WOOLF, 2000; KUNER, 2010; KUNER, 2017; SCHAIBLE; RICHTER, 2004; WOOLF; MA, 2007).

Por fim, a informação sobre lesão tecidual é conduzida da medula espinal para o encéfalo através de cinco vias ascendentes principais: trato espinotalâmico, espinoreticular, espinomesencefálico, cervicotalâmico e espinohipotálâmico. O trato espinotalâmico é a via nociceptiva ascendente mais proeminente na medula espinal. Vários núcleos do tálamo processam a informação nociceptiva, em especial as relacionadas com a mediação da informação sobre a localização da lesão. Os núcleos talâmicos têm papel chave no acionamento, filtragem e processamento da informação sensorial enviada para o córtex cerebral e esta sujeito a processos de plasticidade atividade-induzidos similares a medula espinal (KUNER, 2010). Em seguida, o tálamo emite projeções para três áreas corticais: o córtex somatosensitivo primário, o córtex somatosensitivo secundário e o lobo parietal posterior. O córtex somatosensitivo primário é a principal região do lobo parietal para a qual os núcleos ventrais pósterolateral e pósteromedial do tálamo se projetam, recebendo entradas somatotopicamente organizadas. Essa projeção talamocortical forma a base do mapa corporal no giro pós-central, o homúnculo sensitivo. Estímulos não-dolorosos e dolorosos podem ter conotações emocionais. Por esta razão, a maior parte da via de dor também tem como alvo centros corticais e subcorticais para emoções, dentre eles, o lobo insular, o córtex cingulado anterior e amígdala (KUNER, 2010; KUNER, 2017; MARTIN, 2013).

A constante estimulação nociva provoca a sensibilização periférica que representa uma forma de plasticidade funcional evocada por estímulos dos nociceptores. A sensibilização de nociceptores, após lesão ou inflamação, resulta da liberação de uma variedade de compostos químicos por células e tecidos danificados na vizinhança da lesão. Essas substâncias incluem a bradicinina (BK), histamina, prostaglandinas (PGE<sub>2</sub>), leucotrienos, acetilcolina, serotonina e substância P. Cada uma dessas substâncias origina-se de diferentes populações de células, mas todas juntamente com prótons e ATP, geram uma “sopa inflamatória” que é degustada pelos nociceptor, reduzindo o limiar de ativação dos nociceptores e aumentando a responsividade. O grande número de agentes sensibilizantes agindo em paralelo torna a interrupção destes efeitos uma opção bastante pobre para tratar a dor inflamatória, inclusive fazendo com que a função dos nociceptores seja substancialmente modificada em resposta ao dano tecidual, inflamação

ou lesão do sistema nervoso (COSTIGAN; WOOLF, 2000; KANDELL et al., 2013; SCHAIBLE; RICHTER, 2004; SCHOLZ; WOOLF, 2002; WOOLF; MA, 2007).

Os sensibilizantes do nociceptores produzem seus efeitos quando se acoplam aos seus respectivos receptores na membrana do nociceptor, iniciando-se a ativação de vias de sinalização intracelular no terminal periférico que incluem as proteínas quinases A(PKA), C(PKC), mitógeno-ativada (MAPK), extracelular sinal-regulada (ERK) e p38. Ao longo destas cascatas, os efetores da sensibilização periférica são principalmente a fosforilação dos canais de potencial transiente (TRP) e sódio voltagem-dependentes. Do mesmo modo, células inflamatórias, macrófagos e leucócitos liberam citocinas que vão contribuir para a migração de novas células para o local da lesão. Há a produção de interleucina 1 e 6 (IL-1, IL-6), fator de necrose tumoral (TNF), selectinas, fatores quimiotáticos, óxido nítrico. Assim, novos receptores são recrutados e passam a fazer parte do processo inflamatório. Dentre eles, a BK, a PGE2, o NGF e as IL parecem exercer papel fundamental na nocicepção periférica. A BK e a PGE2 causam alterações em receptores TRPV acoplados a canais iônicos ligante-dependentes, via ativação do AMPc (AMP cíclico), PKA e PKC, reduzindo o tempo pós-hiperpolarização da membrana neural, causando redução do limiar de disparo da fibra nervosa. A persistência da agressão causa modificações no sistema nervoso periférico e sensibilização de fibras nervosas, com consequente hiperalgesia e aumento dos níveis de AMPc e cálcio nos nociceptores. O aumento do cálcio tem como consequência a ativação da enzima óxido nítrico-sintetase (NOS) e a estimulação da transcrição de protooncogenes (ROCHA et al., 2007; WOOLF; MA, 2007).

Já em condições de dano grave e persistente, as fibras C disparam repetidamente e a resposta dos neurônios da coluna posterior aumenta progressivamente, resultando na acumulada despolarização gerada pela somação de potenciais sinápticos lentos. Este fenômeno denominado *wind up* é o resultado da somação destes potenciais sinápticos lentos após estimulação aferente repetida de baixa frequência, inferior a 5 Hz, e por tempo prolongado (ROCHA et al., 2007).

A ativação intensa de neurônios aferentes primários estimula a liberação de glutamato e substância P. O receptor N-metil-D-aspartato (NMDA), em função do papel bloqueador do magnésio ( $Mg^{2+}$ ), é inicialmente não responsivo ao glutamato, mas seguindo a despolarização do receptor 3-hidroxi-5-metil-isoxazol-4-propiónico (AMPA) pelo glutamato no receptor metabotrópico, ocorre a ligação do glutamato ao receptor NMDA. Os receptores de glutamato do tipo NMDA possuem um papel na hiperexcitabilidade dos neurônios da coluna dorsal que ocorre após lesão tecidual. A inflamação periférica, além de conduzir à sensibilização periférica, produz sinais retrógrados nos neurônios nociceptores que induzem no corpo celular



a transcrição de neuropeptídios, fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), e canais de sódio, assim como incrementam a translação de canais TRP para ampliar a transmissão nociceptiva. Assim, alterações pós-translacionais e transcricionais podem alterar profundamente o limiar, excitabilidade, magnitude e propriedades de transmissão dos nociceptores, contribuindo para hipersensibilidade da dor e aumento no nível da atividade espontânea (COSTIGAN; WOOLF, 2000; KUNER, 2010; LUO; KUNER; KUNER, 2014; ROCHA et al., 2007; SCHAIBLE; RICHTER, 2004; SCHOLZ; WOOLF, 2002).

Deste modo, aminoácidos, neuropeptídeos e prostaglandinas espinais agem conjuntamente no processo de sensibilização. Após a liberação de aminoácidos excitatórios, peptídeos e neurotrofinas e sua interação com receptores específicos, há a ativação de segundos mensageiros, do tipo AMPc, PKA, PKC, fosfatidilinositol (PIP<sub>2</sub>), fosfolipase C (PLC), fosfolipase A (PLA). Isto provoca a abertura dos canais de Ca<sup>2+</sup>, causando a liberação de glutamato, aspartato, substância P, contribuindo para amplificação do processo algico. Este fenômeno é denominado sensibilização central, para distingui-lo da sensibilização que ocorre nos terminais periféricos de neurônios (COSTIGAN; WOOLF, 2000; ROCHA et al., 2007; SCHAIBLE; RICHTER, 2004; SCHOLZ; WOOLF, 2002).

A sensibilização central refere-se ao processo pelo qual um estado de hiperexcitabilidade é estabelecido no SNC, levando ao aumentado processamento das mensagens nociceptivas. Entre os numerosos mecanismos implicados na sensibilização central, pode-se destacar a alteração na sensibilização dos receptores mediados glutamato/NMDA, a perda de controles inibitórios glicinérgicos e GABAérgicos, aumento ou diminuição da densidade de espinhas sinápticas, degeneração ou regeneração de axônios levando a conectividade aberrante, degeneração de neurônios e proliferação de astrócitos e microglia, interações neuro-gliais, ramificações dos nervos aferentes nas lâminas do corno da raiz dorsal (“*sprouting*”) (BASBAUM et al., 2009; COSTIGAN; WOOLF, 2000; KUNER, 2010; SCHAIBLE; RICHTER, 2004).

Este processo amplifica a nocicepção e é um importante mecanismo que está envolvido em estados dolorosos clinicamente relevantes, consistindo nos seguintes fenômenos: aumento das respostas oriundas de regiões lesionadas ou inflamadas; aumento das respostas oriundas de regiões adjacentes ou mesmo distantes da região lesionada ou inflamada, apesar de aparentarem normalidade ou estarem livres de lesão; expansão dos campos receptivos da medula espinal, ou seja, a área total do qual o neurônio está ativado, é ampliado (BASBAUM et al., 2009; SCHAIBLE; RICHTER, 2004).

A dor pode ser experimentada em diversas regiões da cabeça e pescoço, manifestando-se como sintomas de distúrbios diagnosticados como cefaléias primárias e secundárias, disfunções neuropáticas, temporomandibulares, cervicalgias, dentre outras.

Semelhante às condições dolorosas em outras regiões do corpo, as condutas para abordagem da dor orofacial tipicamente miram os mecanismos neuronais e de fato muito conhecimento tem sido obtido a cerca dos processos nociceptivos orofaciais que tem sustentado muitas abordagens terapêuticas (CHIANG et al., 2011; CHICHORRO; PORRECA; SESSLE, 2017).

Investigações epidemiológicas têm documentado altas taxas de prevalência para diversas condições do dor orofacial aguda e crônica. Estas condições dolorosas incluem o envolvimento de inflamação dos tecidos orofaciais e variam de pulpite aguda e mucosites a condições crônicas afetando a articulação temporomandibular (CHIANG et al., 2011; CHICHORRO; PORRECA; SESSLE, 2017; SESSLE, 2011).

O nervo trigêmeo fornece a principal inervação sensorial da face e boca que é inervada principalmente pelos ramos oftálmico, maxilar e mandibular do nervo trigêmeo. Muitas fibras aferentes primárias trigeminais terminam nos tecidos orofaciais como terminações livres e funcionam como nociceptores caso sejam ativadas por estímulos nocivos. Os corpos celulares destes aferentes estão localizados no gânglio trigeminal que é análogo ao gânglio da raiz dorsal do sistema somatosensorial espinal, do qual os aferentes seguem para o tronco encefálico onde se comunicam com o complexo nuclear sensorial trigeminal (análogo ao corno posterior da raiz dorsal da medula espinal) que compreende o núcleo sensorial principal e três subnúcleos do núcleo trigeminal espinal. Os três subnúcleos são implicados nos mecanismos nociceptivos orofaciais mas o subnúcleo caudal tem sido especialmente implicado nas bases anatômicas, imunohistoquímicas, comportamentais e clínicas (CHIANG et al., 2011; CHICHORRO; PORRECA; SESSLE, 2017; SESSLE, 2011).

Os estímulos nocivos captados por este complexo trigeminal incluem estímulos mecânicos na pele do rosto ou mucosa oral, extrações de dente, toxinas bacterianas acessando a polpa dental exposta, os produtos de processo inflamatório nos músculos da mastigação e irritantes químicos ou ainda líquidos quentes ou frios que contatam com a mucosa oral. A ativação das terminações nociceptivas pelos estímulos nocivos podem resultar na ativação de fibras aferentes primárias que tem seus corpos celulares no gânglio trigeminal que é análogo ao gânglio da raiz dorsal do sistema somatosensitivo da medula espinal. Estas fibras aferentes nociceptivas conduzem impulsos nervosos da periferia para o SNC e fornecem informações

sensório-discriminativas sobre a qualidade, localização, intensidade e duração dos estímulos (CHIANG et al., 2011; CHICHORRO; PORRECA; SESSLE, 2017; SESSLE, 2011).

Assim, estes neurônios, aferentes primários e vias do SNC são responsáveis pelos processos básicos da dor orofacial aguda assim como na patogênese das condições de dor orofacial crônica. Estes processos incluem impulsos ectópicos gerados em aferentes primários lesados, sensibilização periférica, sensibilização central, alterações nos mecanismos descendentes inibitórios e facilitatórios que influenciam a transmissão nociceptiva trigeminal e alterações fenotípicas nos neurônios nociceptivos centrais e aferentes trigeminais (CHIANG et al., 2011; CHICHORRO; PORRECA; SESSLE, 2017).

Diversos mediadores químicos estão envolvidos na ativação das terminações nociceptivas como resultado de sua liberação seguido ao dano ou inflamação dos tecidos inervados pelas terminações nociceptivas. Estas interações podem tomar lugar não somente nas terminações periféricas nos tecidos orofaciais, mas também em seus corpos celulares no gânglio trigeminal e podem ser disparados ou mantidos pela inflamação. A inflamação dos tecidos periféricos pode, por exemplo, causar a liberação de mediadores químicos no gânglio através de processos parácrinos que afetam a excitabilidade aferente, podendo a células gliais desempenhar um papel crítico (CHIANG et al., 2011; CHICHORRO; PORRECA; SESSLE, 2017; SESSLE, 2011).

Além da importância destes mecanismos neuronais nos processos centrais e periféricos envolvidos na iniciação e manutenção da dor orofacial, há recentes evidências que células não-neuronais possam representar novo processo modulatório no SNP e SNC. Os neurônios e células gliais (astrócitos e microglia) apresentam assim íntimas interações no nível celular e molecular, tornando-se claro que, embora a glia não dispare impulsos elétricos, possa liberar diversos neurotransmissores e fatores de crescimento que influenciem a atividade dos neurônios, tornando-se claro que estas células desempenham papel importante na patogênese da dor (CHIANG et al., 2011; CHICHORRO; PORRECA; SESSLE, 2017; KUNER, 2017; MARCHAND; PERRETTI; McMAHON, 2005; VALLEJO et al., 2010).

## 1.2 Microglia

A glia representa a mais abundante população de células do sistema nervoso, superando amplamente o número de neurônios. A glia é formada pela macroglia (oligodentrócitos e astrócitos) e pela microglia (GOSSELIN et al., 2010; HAYDON, 2001; VALLEJO et al., 2010).

Dentro do processo de sensibilização central, as células gliais, notadamente a microglia e os astrócitos, também contribuem. As sinapses do SNC são encapsuladas pela glia que, por sua vez, expressa uma série de receptores para muitos neurotransmissores e neuromoduladores, sintetiza e libera numerosos transmissores e produz transportadores que recaptam ou liberam transmissores dos espaços extracelulares ou sinápticos. Embora se evidencie que os neurônios são essenciais para as funções do sistema nervoso, reconhece-se que as células gliais são componentes de sinalização dinâmica com potencial para modular a ação neuronal em uma lenta escala de tempo (GOSSELIN et al., 2010; HAYDON, 2001; VALLEJO et al., 2010; WATKINS; MILLIGAN; MAIER, 2001).

Sob condições normais, a microglia funciona como macrófagos residentes do SNC e estão homogeneamente distribuídos dentro da substância cinzenta da medula espinal, estando continuamente ativa e vigiando seu microambiente local, distribuindo-se por todo SNC e variando em densidade em humanos e roedores com sutis variações na morfologia em diferentes citoarquitecturas. Desempenham o papel de sentinelas frente a traumas do SNC, isquemia, inflamação e infecção, respondendo a qualquer espécie de patologia com uma reação denominada ativação microglial. Os estados de ativação microglial foram baseados nas características morfológicas, moleculares e funcionais (KETTENMANN et al., 2011; RANSOHOFF; PERRY, 2009; VALLEJO et al., 2010).

Muitas moléculas e condições podem disparar a transformação de microglia em repouso para ativa. Células microgliais são preparadas para reconhecer uma ampla variedade de sinais para vigilância homeostática, independente de sua natureza bioquímica ou implicações patofisiológicas, alterando seu fenótipo em resposta a qualquer alteração da homeostase do sistema nervoso central. Vários mecanismos pelos quais as células gliais são ativadas têm sido sugeridos, incluindo-se mediadores químicos, tais como, substância P, CGRP, óxido nítrico (NO), agentes purinérgicos (ATP-adenosina trifosfato), glutamato e peptídeos endógenos opióides, que são liberados no momento da lesão. O ATP liberado pelos neurônios aferentes causam migração e ativação da microglia, produzindo um aumento intracelular de  $Ca^{2+}$ , enquanto que o BDNF resulta na ativação e translocação do NF- $\kappa\beta$  para a expressão de

numerosos agentes inflamatórios. O NO age similarmente sobre NF- $\kappa$ B nos astrócitos afetando sua expressão gênica e induzindo sua ativação. Neurônios sensoriais submetidos aos estímulos dolorosos causam a liberação de substância P que ativam receptores neuroquininas-1 (NK-1). Outros mediadores químicos, como agentes purinérgicos, glutamato e peptídeos opióides induzem a ativação glial por interação direta com receptores específicos de membrana (HANISCH; KETTENMANN, 2007; RANSOHOFF; PERRY, 2009; VALLEJO et al., 2010).

A microglia no SNC do mamífero adulto tem um pequeno corpo celular, citoplasma perinuclear pequeno e um número de processos ramificados e finos. Não é claro quais fatores locais determinam suas variações numéricas e morfológicas ou se estas variações refletem diferenças funcionais. O termo “microglia ativada” necessita ser qualificado para refletir os diferentes estados de ativação associado às funções efectoras em diferentes estados disfuncionais (KETTENMANN et al., 2011; RANSOHOFF; PERRY, 2009).

Estudos da ativação da microglia iniciaram com a premissa que a microglia ativada emerge do estado de repouso e submete-se às transformações morfológicas de ramificada para formas ativadas variadas, incluindo ameboide, alongada e fagocítica. A microglia é sensível às alterações de seu microambiente e sua resposta não é um processo linear variando simplesmente de grau, mas é ditada pela natureza dos estímulos (KETTENMANN et al., 2011; RANSOHOFF; PERRY, 2009).

Uma das características marcantes da microglia, além da sua morfologia, é sua distinta alteração fenotípica quando comparada com outras populações de macrófagos teciduais. Dentre os fatores que podem ser responsáveis por esta alteração fenotípica, podemos destacar inicialmente os fatores solúveis. Em contraste a maioria dos macrófagos, estas células são circundadas por proteínas séricas que podem levar a sua ativação, tais como fator transformador de crescimento (TGF- $\beta$ ), PGE<sub>2</sub> e fator de estimulação de colônia-macrófago (M-CSF) que são fundamentais na sua sobrevivência, proliferação e diferenciação. Outro fator relevante são as interações celulares uma vez que a microglia está em íntimo contato com outras células em seu microambiente e a expressão dos pares de ligantes-receptor na microglia e seus vizinhos tem um potente efeito em seu fenótipo. O estado de ativação das células mielóides é determinado em parte pelos níveis relativos da expressão de receptores para os imunoreceptores com motivo de ativação baseada em tirosina (*ITAM-immunoreceptor tyrosine-based activation motif*) e imunoreceptores com motivo de inibição baseada em tirosina (*ITIM-immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif*). Estudos também apontaram o envolvimento do receptor desencadeante expresso em células mielóides (*TREM2-triggering receptor expressed on myeloid cells-2*) na

fagocitose de debris bem como na alteração da expressão de citocinas inflamatórias (RANSOHOFF; PERRY, 2009).

Experimentalmente, a ativação microglial tem sido demonstrada por três métodos. Primeiro, a morfologia transforma-se de um estado de “repouso” que possui processos finos e ramificados para um estado “ativado” que são caracterizados pela hipertrofia com espessamento e encurtamento dos processos. A alteração morfológica é também associada com proliferação ou microgliose. Segundo, comparado ao estado de repouso, a microglia ativada exibe uma alteração nos marcadores de superfície, proteínas ligadas a membrana ou incorporadas, abrangendo CD11b, receptores P2X4, CD44, Iba1 e MHC II. Por fim, a ativação da microglia espinal em modelos de dor neuropática é caracterizada pela fosforilação da MAPK, incluindo a p38 e Src-família quinases tal como Lyn (BERTA et al., 2016; DING et al., 2015; ZHUO; WU; WU, 2011).

Ativação microglial tem sido compreendida como uma transformação, passo-a-passo, de células em repouso que ocorre sob alterações da homeostase do tecido ou sob estimulação experimental. O termo implica que, previamente à ativação, a microglia está inativa, contudo a transição entre estados de repouso e ativado devem ser considerados uma mudança no fenótipo funcional ao invés de simples despertar. As células afastam o modo “vigilância” e adquirem um perfil reativo para lidar com homeostase alterada. Reorientações quimiotáticas e outros ajustes não-transcricionais podem ocorrer em minutos a segundos e mesmo a massiva indução do conjunto de complexo de genes é obtida dentro de poucas horas (HANISCH; KETTENMANN, 2007). A ativação microglial envolve um padrão de resposta celular estereotipado, com proliferação e recrutamento celular para o local da lesão, aumento da expressão de imunocélulas e mudanças funcionais, incluindo a liberação de mediadores citotóxicos e/ou inflamatórios. As células da glia sintetizam várias substâncias dentre elas as prostaglandinas, o glutamato, o ácido araquidônico, o óxido nítrico, quimiocinas e citocinas (STELLA, 2012; WATKINS; MILLIGAN; MAIER, 2014; WIESELER-FRANK; MAIER; WATKINS, 2004).

Dentro de algumas horas após a lesão nervosa, a microglia se acumula nas proximidades das fibras lesionadas, liberando diversas moléculas sinalizadoras, incluindo citocinas que aumentam a sensibilização central. Assim, sugere-se que a ativação microglial possa estar envolvida em condições de dor persistente. Embora a microglia seja ativada seguindo lesão nervosa, mas não lesão tecidual inflamatória, danos físicos de aferentes periféricos podem induzir a liberação de sinais e mensageiros específicos que serão detectados pela microglia, provocando sua ativação (BASBAUM et al., 2009).

Assim, a glia age dinamicamente para regular a comunicação sináptica neuronal e pode levar à dor patológica via liberação de uma variedade de neurotransmissores, neuromoduladores, citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas. Uma variedade de receptores de neurotransmissores, que incluem receptores NMDA e não-NMDA ionotrópicos, assim como receptores metabotrópicos, são expressados nos astrócitos e neurônios. Ativação glial pode ser iniciada por neurotransmissores liberados por nervos periféricos sensibilizados que levam à produção e disponibilização de fatores que ativam os neurônios e a glia adjacente. Esta sensibilização induz, nos astrócitos, aumento dos níveis celulares de  $Ca^{2+}$ , com consequente liberação de glutamato. Este modula a excitabilidade neuronal e o aumento da transmissão sináptica (HAYDON, 2001; MILLIGAN; SLOANE; WATKINS, 2008).

Dados na literatura têm demonstrado que a glia (astrócitos e microglia), além da participação em processos inflamatórios, têm papel relevante para a manutenção da dor. A correlação entre a indução e manutenção da dor persistente induzida pela ativação glial tem sido demonstrada experimentalmente (SCHOLZ; WOOLF, 2007). Nesse sentido foi demonstrado que a aplicação de prednisolona subcutânea induz a ativação microglial (ENDO et al., 2014). Ainda, a infusão intravenosa de remifentanil (potente agonista do receptor  $\mu$ -opióide) também provoca alodinia mecânica, hiperalgesia térmica, bem como ativação microglial expressa pelo aumento da expressão da catepsina (YE et al., 2017). Em contrapartida, a administração da minociclina e do fluorocitrato, inibem a atividade glial e bloqueia a dor persistente. Nesse sentido, tem sido sugerido que a hiperativação microglial está envolvida na geração de sensibilização central via produção de mediadores inflamatórios pró-nociceptivos, contribuindo assim para o fenômeno de dor (GAO; JI, 2010; MILLIGAN; SLOANE; WATKINS, 2008; WIESELER-FRANK; MAIER; WATKINS, 2004).

Em alguns estudos, curiosamente, o perfil temporal de ativação microglial não se correlaciona com a duração da dor persistente. Em contraste, o grau de ativação dos astrócitos correlaciona-se com o desenvolvimento e manutenção das respostas da dor. Este padrão de ativação microglial e dos astrócitos e a correlação com comportamento levam a proposta que a ativação microglial ocorre transitoriamente durante a fase precoce e pode preceder a astrogliose. É plausível que a reação microglial dispare a ativação astrocítica no contexto da dor crônica (GOSSELIN et al., 2010; VALLEJO et al., 2010; WIESELER-FRANK; MAIER; WATKINS, 2004).

Particularmente, algumas diferenças no sistema trigeminal e espinal podem existir. Em estudo comparativo no desenvolvimento de comportamento de dor neuropática entre lesão por constrição crônica do nervo infraorbitário (ION-CCI) e do ciático (ciático-CCI) em ratos, tanto

o aumento na liberação de IL-6 iniciado no 7º dia como a alodinia gerada a partir do 14º dia, após a cirurgia, foram observadas em ambos os grupos. Entretanto, no grupo ION-CCI, a expressão de OX-42 no subnúcleo caudal aumentou no 1º dia, enquanto que, no grupo ciático-CCI, a expressão de OX-42 aumentou no 7º no corno posterior da coluna dorsal da medula espinal. Também, a minociclina preveniu parcialmente a alodinia no grupo ciático-CCI mas não nos ratos do grupo ION-CCI (CHIANG et al., 2011).

Conciliando-se os ensaios experimentais de ativação microglial aos modelos de dor orofacial, consideráveis dados apontam que células gliais desempenham papel modulatório importante nas vias de sinalização da dor orofacial. A movimentação dental experimental, mimetizando-se a movimentação ortodôntica, ocasiona a ativação microglial no subnúcleo caudal do tronco encefálico, observando-se elevações de OX-42 e GFAP cujo pico é atingido 5 dias após o início da movimentação dental experimental. Em outro trabalho no qual se efetuou a ligadura do nervo mentual, os ratos evidenciaram, no núcleo principal e subnúcleo caudal no tronco encefálico, perfil temporal de ativação glial intimamente correlacionada com o desenvolvimento da alodinia mecânica, sobressaindo-se uma proliferação glial significativa decorridos 14 dias da ligação do nervo. Por outro lado, a aplicação de LPS (lipopolissacarídeo) e CFA (adjuvante completo de Freund) no lábio inferior de ratos, embora tenha provocado alodinia mecânica e ativação glial, não foi demonstrada correlação temporal (DEGUCHI et al., 2016; LEE et al., 2010).

Da mesma forma, o modelo de dor facial induzida por interferência oclusal em molares de ratos causou hipersensibilidade facial refletida pela hiperalgesia dos músculos mastigatórios, além disso evidenciou-se ativação microglial no subnúcleo caudal do tronco encefálico a partir do 3º dia após posicionamento da interferência oclusal, sendo que seu pico ocorreu no 5º dia, mostrando diminuição de ativação do 10º ao 14º dia. Neste mesmo estudo, os resultados indicaram que houve ativação da p38 MAPK e quinase extracelular sinal-regulada (ERK) nas células gliais do subnúcleo caudal após a interferência oclusal (CAO et al., 2013). Ainda, um modelo de dor inflamatória orofacial ectópica, elaborado através da aplicação de CFA no músculo trapézio de ratos, provocou aumento da hiperalgesia mecânica na região facial, bem como aumento da imunoreatividade à proteína Iba1, caracterizando-se, assim, aumento da ativação microglial. Neste mesmo estudo, também foi demonstrada aumento da expressão da proteína p38 no subnúcleo caudal (KIYOMOTO et al., 2015). Também foi demonstrado que a aplicação de CFA no masseter de ratos produziu inflamação e hiperalgesia caracterizada pela responsividade aumentada e redução no limiar à estimulação mecânica, característica de



hiperalgesia e alodinia. Além disso, a inflamação do masseter induziu a ativação glial no núcleo trigeminal espinal, como indicado pela aumentada imunoreatividade da GFAP (SUGIYO et al., 2005).

Neurotransmissores e neuromoduladores não são as únicas substâncias que os neurônios liberam e que podem desencadear a ativação da glia. Grande número de quimiocinas e receptores para quimiocinas são expressos em neurônios, astrócitos, microglia e oligodendrócitos, e estão envolvidas em muitos processos neuropatológicos nos quais os estados inflamatórios persistem (BAJETTO et al., 2002).

### 1.3 Fractalquina (CX3CL1)

As quimiocinas, contração de “citocina quimiotática”, são um grupo de proteínas de pequeno peso molecular (8-14 kDa), relacionadas estruturalmente e funcionalmente, que estimulam o movimento dos leucócitos e regulam a migração dos leucócitos do sangue para os tecidos (ABBADIE et al., 2009; BAJETTO et al., 2002; CLARK; STANILAND; MALCANGIO, 2011; JONES; BEAMER; AHMED, 2010).

São classificadas em quatro famílias com base no número e na localização dos resíduos da cisteína N-terminal. As duas principais famílias são as quimiocinas CC, cujos resíduos são adjacentes, e a família CXC na qual os resíduos são separados por um único aminoácido. As outras duas famílias são constituídas por pequeno grupo de quimiocinas, a família C, que possui uma única cisteína, e por outro grupo no qual as cisteínas são separadas por três aminoácidos (CX3C) (ABBADIE et al., 2009; BAJETTO et al., 2002; CLARK; STANILAND; MALCANGIO, 2011; JONES; BEAMER; AHMED, 2010; SOUZA et al., 2013).

As quimiocinas exercem sua atividade biológica através da ligação a receptores acoplados à proteína G com sete domínios  $\alpha$ -helicoidais transmembranosa. Embora múltiplas quimiocinas possam frequentemente se ligar ao mesmo receptor e uma única quimiocina possa se ligar a diversos receptores, as interações quimiocina-receptor são quase sempre restritas dentro de uma única classe. A nomenclatura do receptor de quimiocina é então baseada no grupo de quimiocina do qual seu ligante pertence. Apesar da similaridade estrutural, os receptores de quimiocina diferem em sua capacidade para ativar vias de sinalização celular como expressão dos efeitos biológicos pleiotrópicos realizado por estas proteínas (ABBADIE et al., 2009; BAJETTO et al., 2002; CLARK; STANILAND; MALCANGIO, 2011; JONES; BEAMER; AHMED, 2010).

As quimiocinas têm sido associadas, além do movimento de leucócitos, ao recrutamento de células inflamatórias em diferentes doenças, incluindo aquelas desenvolvidas no SNC. Sua expressão tem sido descrita em diversas condições patológicas, tais como doenças inflamatórias e neurodegenerativas (múltipla esclerose), doença de Alzheimer, isquemia e trauma cerebral, demência complexa provocada pela AIDS, tumores cerebrais (BAJETTO et al., 2002).

Enquanto quimiocinas tipicamente ligam-se a múltiplos receptores e, reciprocamente, os receptores ligam-se à múltiplas quimiocinas, isto não se aplica à fractalquina (CX3CL1). A fractalquina é uma quimiocina que existe sob duas formas nos neurônios: uma forma ligada a membrana por uma haste de mucina, e outra, na forma solúvel, derivada da clivagem enzimática da forma transmembranosa, desencadeada pelas metaloproteinases ADAM 10, ADAM 17 e

catepsina (CatS); a fractalquina possui exclusiva conectividade a um único receptor, o CX3CR1, presente na microglia (CLARK; STANILAND; MALCANGIO, 2011; HATORI et al., 2002; HUGHES et al., 2002; JONES; BEAMER; AHMED, 2010; MILLIGAN; SLOANE; WATKINS, 2008; SOUZA et al., 2013).

Ao contrário da fractalquina, que é expressa pelos neurônios, o receptor de fractalquina (CX3CR1) está presente nas células microgлияis, sugerindo que a fractalquina secretada pelos neurônios e astrócitos produza efeitos biológicos na microglia (CHAPMAN et al., 2000; CLARK; STANILAND; MALCANGIO, 2011; CLARK; MALCANGIO, 2012; HATORI et al., 2002; HUGHES et al., 2002; LAURO et al., 2015; SCHWAEBLE et al., 1998; SOUZA et al., 2013).

Em condições fisiológicas, a sinalização CX3CL1/CX3CR1 está envolvida em diferentes funções cerebrais. Durante o desenvolvimento, o CX3CL1/CX3CR1 participa na maturação funcional de circuitos neuronais, desempenha papel na correta determinação da rede neuronal, na condução da correta maturação funcional das sinapses no córtex somatosensitivo e controla o recrutamento da microglia para o correto reconhecimento dos botões sinápticos. Em cérebros adultos, a sinalização CX3CL1/CX3CR1 regula a plasticidade sináptica e funções cognitivas, em particular, no hipocampo onde é um potente modulador da transmissão sináptica glutamérgica. Além disso, o aumento de CX3CL1 observado em experimentos de aprendizagem pós-espacial suportam um papel direto para a fractalquina na plasticidade sináptica associada à memória. Os neurônios respondem a agressões potencialmente tóxicas através da liberação de fatores solúveis que podem sensibilizar células circundantes a fim de induzir uma ampla gama de respostas celulares direcionadas à proteção e, eventualmente, reparo do tecido lesionado. Além disso, a fractalquina é neuroprotetiva em uma variedade de modelos citotóxicos e de hipóxia *in vitro* e *in vivo*. O mecanismo fundamental dessa função é sua capacidade de disparar a liberação de fatores solúveis que orquestram a resposta neuroprotetiva, agindo em neurônios, astrócitos e microglia adjacentes. Dessa forma, a fractalquina seletivamente modula a atividade microglial e regula o recrutamento de leucócitos circulantes para locais lesionados. Por exemplo, em camundongos com ausência de receptores CX3CR1, ocorre reduzido dano sob isquemia cerebral, apresentando-se menos infiltrado e citocinas inflamatórias. Estes achados sugerem que o reduzido dano observado sob isquemia cerebral pode ser explicado pelo menor recrutamento dos macrófagos periféricos juntamente com um aumentado estado anti-inflamatório da microglia, então indicando um papel tóxico para a sinalização através do CX3CR1 (LAURO et al., 2015).

No contexto da inflamação, as duas formas de fractalquina parecem ter diferentes funções. A fractalquina ligada a membrana age como uma molécula de adesão, induzindo a adesão dos monócitos e leucócitos que expressam o receptor CX3CR1. Em contraste, a fractalquina solúvel age como um potente quimioatraente. Seguida a clivagem da membrana celular, a forma solúvel da fractalquina induz a quimiotaxia de leucócitos, monócitos, neutrófilos e mastócitos. No SNC, induz a quimiotaxia das células microgliais (CLARK; STANILAND; MALCANGIO, 2011).

Tal fato pode ser demonstrado através de estudos *in vitro* no qual foi demonstrado que a fractalquina age como uma molécula de sinalização intercelular derivada do neurônio para atrair células proinflamatórias, sugerindo que a fractalquina clivada sob estas condições possa precipitar respostas neuroimunes, desempenhando papel relevante na atividade quimiotática da microglia (CHAPMAN et al., 2000; HARRISON et al., 1998).

Em estudos *in vivo*, após axotomia do nervo motor facial, a microglia presente no núcleo motor do nervo facial foi submetida às alterações morfológicas e celulares que incluem resposta proliferativa marcante, bem como aumento da expressão do receptor CX3CR1 (HARRISON et al., 1998). Estudos *in vivo* também demonstraram que a alodinia mecânica e hiperalgesia térmica induzidas pela aplicação intratecal crônica de morfina foram reduzidas após administração de bloqueadores para receptores CX3CR1, sugerindo que a fractalquina está envolvida no aumento da sensibilidade que ocorre após desenvolvimento de tolerância analgésica por opióides (JOHNSTON et al., 2004).

A fractalquina é pronociceptiva e induz comportamentos nociceptivos via receptor CX3CR1 na microglia por intermédio da ativação da p38 MAPK. Esta via pronociceptiva CX3CR1-p38 MAPK é alternativa a sinalização do CX3CR1 via fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K) que resulta na redução da produção de citocinas proinflamatórias e medeiam os efeitos neuroprotetivos da fractalquina (CLARK; STANILAND; MALCANGIO, 2011).

A aplicação intratecal de fractalquina induziu efeitos comportamentais de alodinia mecânica e hiperalgesia térmica as quais foram atenuadas após aplicação de específico anticorpo anti-CX3CR1. Por outro lado, a administração intratecal de anticorpos anti-CX3CR1 em ratos levou a uma atenuação da alodinia mecânica e hiperalgesia térmica induzidas por modelo de constrição crônica do nervo ciático-CCI e alodinia mecânica induzida pela neuropatia inflamatória do ciático (*sciatic inflammatory neuropathy –SIN*) (MILLIGAN et al., 2004).

Ainda, a alodinia mecânica e hiperalgesia térmica induzidas pela aplicação intratecal de fractalquina foi bloqueada pela minociclina, um potente inibidor da ativação microglial.

Similarmente, a alodinia mecânica e hiperalgisia térmica também foram bloqueadas após a administração de antagonista do receptor de citocina próinflamatória Il-1. Do mesmo modo, a aplicação de antagonistas do receptor de citocina próinflamatória Il-6 e inibidor da NO-sintetase bloquearam a alodinia mecânica induzida pela fractalquina intratecal. Tomados juntos, estes estudos sugerem que a fractalquina exerce seus efeitos facilitatórios na dor via ativação dos receptores CX3CR1 localizados na microglia, levando à ativação microglial e consequente facilitação da dor, via liberação de NO e citocinas inflamatórias (MILLIGAN et al., 2005). Em outro trabalho, o pré-tratamento com anticorpo neutralizante da fractalquina (30 minutos antes da injeção de carragenina) foi capaz de reduzir a hiperalgisia mecânica induzida na pata de ratos. Igualmente, a administração de anti-fractalquina 1 hora após a injeção de carragenina também foi eficiente em diminuir a hipernocicepção mecânica. Neste mesmo estudo, fractalquina exógena injetada no gânglio da raiz dorsal produziu hipernocicepção dose e tempo-dependente a qual foi atenuada pelo tratamento com anticorpo neutralizante para o receptor CX3CR1, sugerindo-se efeito específico e receptor dependente (SOUZA et al., 2013). Em modelo de dor inflamatória orofacial ectópica, projetado através da aplicação de CFA no músculo trapézio de ratos, houve aumento da hiperalgisia mecânica na região facial, aumento da ativação microglial e da expressão da fractalquina no subnúcleo caudal e segmentos C1-C2 da medula espinal. Neste mesmo estudo, também foi demonstrado aumento da expressão da proteína p38 MAPK e da pERK no subnúcleo caudal e segmentos C1-C2 da medula espinal (KIYOMOTO et al., 2013). Outro estudo experimental demonstrou que a inflamação do músculo temporal induzida pela injeção de CFA aumentou a expressão da fractalquina no gânglio trigeminal de ratos; da mesma forma, a aplicação intraganglionar de fractalquina induziu prolongada sensibilidade mecânica no músculo temporal. Por outro lado, a aplicação de anticorpo para o receptor CX3CR1 no gânglio trigeminal reduziu a sensibilidade mecânica. Estes achados levantam a possibilidade que a sinalização da fractalquina e seu receptor desempenham papel importante na sensibilidade mecânica das fibras aferentes sensoriais dos músculos mastigatórios (CAIRNS et al., 2016).

## 1.4 Disfunção temporomandibular (DTM)

Assim, inserido no mecanismo de dor trigeminal, podemos definir a disfunção temporomandibular (DTM) como sendo um termo coletivo que abrange um grupo de condições musculoesqueléticas e neuromusculares que envolvem a articulação temporomandibular, os músculos mastigatórios e estruturas associadas. Os sinais e sintomas associados com esta disfunção são diversos e podem abranger dificuldades em relação a mastigação, fonação e outras funções orais. As DTM são frequentemente associadas à dor aguda e persistente e os indivíduos acometidos podem sofrer de outras comorbidades. As formas crônicas de DTM podem levar ao absenteísmo, prejuízo ao trabalho e às interações sociais, reduzindo a qualidade de vida destas pessoas (GREEN; LASSER; EPSTEIN, 2010).

Estudos tem buscado descrever e compreender as manifestações clínicas das DTM, bem como a etiopatologia e implicações de tratamento (GREENE, 2001; SVENSSON; GRAVEN-NIELSEN, 2001). No entanto, a prevalência das dores orofaciais apresenta considerável variação, dependendo de sua definição. Em uma revisão de literatura, a mínima prevalência foi de 1%, a máxima de 48% enquanto que a prevalência média de dor orofacial foi de 13% (MACFARLANE; GLENNY; WORTHINGTON, 2001). Em um estudo com a participação de 4.000 adultos, entre 18 e 65 anos, a prevalência de dor orofacial foi de 26%, dos quais apenas 46% procuraram algum tipo de tratamento. A prevalência foi maior em mulheres (30%) do que em homens (21%) (MACFARLANE et al., 2002). Outro estudo transversal desenvolvido em São Paulo/SP (Brasil), 505 adultos (18-59 anos) e 385 idosos (acima de 60 anos) participaram do estudo, sendo que 45,3% dos adultos e 56,6% dos idosos relataram dor orofacial (SIQUEIRA; VILELA; FLORINDO, 2015). Em um estudo transversal conduzido com dados de um biobanco do Reino Unido abrangendo 500.000 pessoas, o maior estudo já realizado para fornecer estimativas de prevalência de dor facial, a prevalência de dor orofacial foi de 1,9%, sendo 2,4% para mulheres e de 1,2% para homens, dos quais 48% eram dores crônicas. A maior prevalência foi descrita entre as idades de 51-55 anos (2,2%) e a menor em indivíduos de 66 a 73 anos (1,4%) (MACFARLANE; BEASLEY; MACFARLANE, 2014).

Assim, estudos epidemiológicos em DTM têm obtido resultados conflitantes no que diz respeito à prevalência e incidência. Estas discrepâncias podem ser atribuídas a distintos critérios diagnósticos empregados em diferentes estudos. Com o objetivo de padronizar o diagnóstico das DTM, um grande número de autores tem utilizado o *Diagnostic Criteria for Temporomandibular Disorders* (DC/TMD) quando conduzem estudos clínicos em DTM, classificando taxonomicamente as disfunções temporomandibulares em articulares,

musculares, cefaleias atribuídas às DTM e estruturas associadas. De acordo com o DC/TMD, as disfunções musculares, podem ser divididas em dor muscular, contraturas, hipertrofias, neoplasias, desordens de movimento e dores musculares atribuídas às desordens de dor central ou sistêmica. No caso específico das dores musculares, pode-se subdividir em mialgia (mialgia local, dor miofascial e dor miofascial referida), tendinite, miosite e espasmos (SCHIFFMAN et al, 2014).

Estudos apontam que, dentre as DTM, as de origem muscular são uma das mais prevalentes. Tal circunstancia pode ser corroborada por diversos estudos, dentre eles, pode-se destacar trabalho abrangendo 357 pacientes que procuraram tratamento para DTM, no qual 24,6% apresentavam dor muscular localizada (MACHADO et al., 2009). Outro trabalho realizado no município de Ribeirão Preto/SP (Brasil), envolvendo a participação de 1230 habitantes, revelou que 39,2% dos indivíduos entrevistados apresentavam, ao menos, um sintoma de DTM, dos quais 25,4% estavam associados a dor, salientando-se que 15,4% apresentavam dor de origem muscular (GONÇALVES et al., 2010). A maior prevalência de DTM de origem muscular também foi identificada em outro estudo no qual, em amostra de 2375 indivíduos de portadores de DTM, 30,7% apresentavam dor muscular (DIPAULO et al., 2013).

A despeito de sua alta prevalência clínica, os mecanismos da dor muscular craniofacial crônica não são ainda bem compreendidos (AMBALAVANAR et al., 2007). Estudos experimentais sugerem que a inflamação desempenha um papel relevante no desenvolvimento de patologias teciduais associadas a estas disfunções crônicas uma vez que, quando uma atividade continuada é imposta sobre tecido inflamado e lesionado, um ciclo vicioso pode ocorrer, perpetuando a dor, podendo se identificar alterações teciduais, dentre elas, a deficiência de citocromo-c oxidase, acúmulo de  $Ca^{2+}$  e baixa quantidade de ATP. Uma das hipóteses para a gênese das disfunções musculares envolvendo a articulação temporomandibular pode ser a insuficiência de oxigênio que provoca o aumento dos níveis de ácido lático por hiperatividade muscular, desencadeando a inflamação a qual sensibiliza os nociceptores e causa a hiperalgesia, podendo gerar dores crônicas (BARBE; BARR, 2006).

As opções terapêuticas iniciais para o alívio e controle da dor das DTM devem ser pouco invasivas, reversíveis e conservadoras. Podem ser citadas, como alternativas de tratamento, placas oclusais, desgaste seletivo, termoterapia, relaxamento ou controle do estresse, prescrição de medicamentos analgésicos, anti-inflamatórios e miorelaxantes, resfriamento seguido de alongamento do músculo afetado, infiltrações com anestésicos locais ou a seco. No entanto, algumas terapias medicamentosas possuem efeitos indesejáveis, mesmo quando a

administração é limitada no tempo. No caso dos anti-inflamatórios não-esteróides, os principais efeitos colaterais são os transtornos gastrointestinais, complicações relacionadas à função renal e função plaquetária, principalmente em decorrência do bloqueio da síntese das prostraglandinas. Os miorelaxantes, indicados nas patologias onde prevalece o componente miogênico e a hiperatividade muscular, produzem, como efeitos colaterais, cansaço, sonolência e vertigens, que podem comprometer o desempenho de atividades cotidianas que requeiram a atenção e concentração. Outras terapias como o uso de placas oclusais, relaxamento ou controle do estresse, dependem fundamentalmente da colaboração do paciente e da adesão ao plano de tratamento estabelecido pelo profissional para se obter o sucesso desejado.

Em um estudo desenvolvido pela equipe de dor orofacial do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP, objetivando-se avaliar a adesão dos pacientes a diversas modalidades de tratamento e suas respectivas opiniões a cerca dele, verificou-se que 73,4% dos pacientes usavam placas de mordida, 60% estavam recebendo tratamento fisioterápico e 20% estavam sendo tratados com antiinflamatórios. Contudo, 40% estavam insatisfeitos com a aplicação de calor na face, 20% com a utilização de placas de mordida e 20% com a utilização de medicações anti-inflamatórias. Dentre as razões apontadas para os participantes demonstrarem insatisfação, as dificuldades para mudança de hábitos, desconforto e efeitos colaterais foram mencionadas (OLIVEIRA et al., 2008).

Além de serem reconhecidas como uma das condições mais prevalentes de dor orofacial, estando inseridas nos domínios mais controversos na clínica odontológica, principalmente em decorrência da variedade de terminologias em sua conceituação, das teorias relativas à etiologia, dos estudos epidemiológicos, dos métodos diagnósticos e das modalidades terapêuticas, torna-se necessário o estabelecimento de uma terapêutica apropriada para o alívio e controle da dor.

Neste contexto, embora alguns trabalhos de revisão apontem a dificuldade de se padronizar as diretrizes para o efetivo tratamento com laser de baixa intensidade (LBI) em razão das diferenças metodológicas, em especial, número, local anatômico e duração das aplicações de laser, diversos estudos têm mostrado que o tratamento com LBI pode ser considerado um útil aliado no tratamento das DTM (CARROLL et al., 2014; HERPICH et al., 2015; MELIS, et al., 2012).

Ensaios clínicos demonstraram que o LBI foi eficiente na terapêutica diante das DTM, ressaltando-se significativa remissão e alívio da sintomatologia dolorosa (CARRASCO et al., 2008; MAZZETTO et al., 2007; MELCHIOR, et al., 2013; VENEZIAN et al., 2010). Em um estudo comparativo de modalidades terapêuticas, pacientes portadores de DTM com limitação da abertura mandibular em virtude de dor foram submetidos ao tratamento com LBI e



eletroestimulação neural transcutânea (TENS), sendo que ambas as terapias obtiveram êxito em proporcionar aumento da abertura mandibular, porém o grupo submetido ao tratamento com LBI foi mais efetivo do que o grupo tratado com TENS (NUÑEZ et al., 2006). Em outro estudo, a utilização de LBI em pacientes portadores de DTM, além de proporcionar diminuição da dor, também foi capaz de melhorar as condições miofuncionais orofaciais nos movimentos de máxima abertura, lateralidade e protrusão mandibulares (ÇETINER; KAHRAMAN; YÜCETAS, 2006; DA SILVA et al. 2012).

Em razão disto, outras terapias estão sendo investigadas para o tratamento da dor, em especial da dor muscular e pelo fato de alguns indivíduos não serem responsivos aos tratamentos convencionais mencionados acima, o LBI parece ser uma opção promissora.

## 1.5 Laser de baixa intensidade (LBI)

Os estudos sobre os efeitos terapêuticos do laser de baixa intensidade (LBI) foram desenvolvidos inicialmente por Theodore Maimann em 1960, sendo que os primeiros estudos acerca da biomodulação, cicatrização e analgesia foram desenvolvidos por Endre Mester em 1970. A palavra laser é a abreviatura de *Light Amplification Stimulated by Emission of Radiation*, significa a amplificação da luz por emissão estimulada de radiação. É uma forma de radiação não ionizante, altamente concentrada. A diferença entre a luz laser e as outras fontes luminosas está em algumas características como a monocromaticidade, a colimação e a coerência espacial e temporal. O resultado depende do tecido irradiado e do tipo de laser utilizado (BJORDAL et al., 2003; BJORDAL, et al., 2006; CHAVANTE, 2009; KARU, 1999; SHEFER et al., 2002).

A luz laser ao incidir em um meio fornece uma quantidade elevada de fótons que ao atingir seu “alvo” podem ser refletidos, dispersos, transmitidos ou absorvidos pelo meio, como por exemplo, o tecido biológico, onde a luz laser é absorvida em diferentes camadas da epiderme e da derme, de acordo com seus constituintes. Esta absorção promove uma interação entre a radiação laser e as estruturas celulares e moleculares do tecido biológico. Tal fato é crucial para gerar um efeito terapêutico (BJORDAL, et al., 2006; BJORDAL et al., 2003; CHAVANTE, 2009; KARU, 1999; SHEFER et al., 2002). O laser vem sendo utilizado de diferentes formas na área biomédica nos últimos anos. Os lasers de alta intensidade (também conhecidos como laser cirúrgico, laser quente, laser duro ou *hard laser*) possuem alta radiação de potência, o que propicia um potencial destrutivo, sendo utilizados para viabilizar cirurgias ou remoção de tecido cariado, ou seja, possuem uma ação fototérmica de corte, vaporização, coagulação e esterilização (BJORDAL et al., 2003; BJORDAL, et al., 2006; CHAVANTE, 2009; KARU, 1999; SHEFER et al., 2002).

A ação dos lasers de baixa intensidade (LBI) restabelece o equilíbrio biológico celular, melhorando as condições da vitalidade tecidual. Os lasers de baixa intensidade são conhecidos pela sua ação analgésica, biomoduladora e anti-inflamatória sobre os tecidos biológicos, tais como redução de edema, controle do processo inflamatório, aumento da fagocitose, da síntese de colágeno (BJORDAL et al., 2003; BJORDAL, et al., 2006; CHAVANTE, 2009; KARU, 1999; SHEFER et al., 2002). Os mecanismos pelos quais ocorre a conversão de energia luminosa em energia bioquímica, capaz de gerar analgesia ou regeneração são ainda pouco conhecidos. Alguns autores acreditam que a radiação induzida pelo LBI age principalmente sobre as organelas celulares, como as mitocôndrias e as membranas, fazendo com que haja um

aumento de ATP e uma modificação no transporte iônico. Acredita-se, ainda, que existam fotorreceptores sensíveis a determinados comprimentos de onda, que absorvem os fótons, desencadeando reações químicas, assim, acelerando em curto prazo a transcrição do DNA, e também favorecendo a produção de ácido araquidônico e a transformação de prostaglandinas em prostaciclina, fato que justifica ação antiedematosa e anti-inflamatória do LBI, promovendo o aumento da endorfina circulante (beta endorfina), proporcionando o efeito analgésico na dor não inflamatória (BJORDAL et al., 2003; BJORDAL, et al., 2006; CHAVANTE, 2009; KARU, 1999). O LBI promove efeitos semelhantes de modulação da inflamação e analgesia ao da medicação anti-inflamatória não esteroide, além de estimular a microcirculação local e a proliferação celular, favorecendo ainda mais os eventos de reparação no pós-operatório. A terapia de LBI também possui efeitos terapêuticos como, por exemplo, a aceleração de cicatrização, redução da sintomatologia dolorosa, restauração da função neural após o dano, aprimoramento da remodelação e reparo ósseo, normalização da função hormonal, estímulo de liberação de endorfina e modulação do sistema imune (BJORDAL et al., 2003; BJORDAL, et al., 2006; CHAVANTE, 2009; KARU, 1999; SHEFER et al., 2002).

Com relação a seus efeitos sobre a lesão do tecido muscular, tem sido demonstrado que o tratamento com LBI desencadeia produção de ATP, promove angiogênese e impulsiona células satélites quiescentes a entrar em ciclo celular auxiliando na regeneração muscular (SHEFER et al., 2002). Os efeitos do LBI não são restritos aos músculos. Mais recentemente a literatura demonstra efeitos benéficos do LBI também na regeneração de ossos e tendões (BJORDAL et al., 2003; BJORDAL, et al., 2006; CHAVANTE, 2009; FERREIRA et al., 2005; KARU, 1999; SHEFER et al., 2002).

Existem diversos estudos mostrando o efeito terapêutico do LBI em todos os processos de reparo do músculo esquelético após lesão. Na fase aguda da inflamação, o LBI age nas mitocôndrias, aumentando a transferência de elétrons ao longo da cadeia de transporte de elétrons e prótons através do interior da membrana mitocondrial. A consequência é o substancial aumento na produção de ATP que leva à reativação da síntese de DNA, RNA e proteínas, aumentando a proliferação celular (MANTINEO; PINHEIRO; MORGADO, 2014).

No que se refere ao controle da resposta inflamatória, a literatura demonstra que o LBI reduz a resposta inflamatória induzida por trauma e bloqueia os efeitos das espécies reativas de oxigênio (ROS), ativação do fator nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) (RIZZI et al., 2006), induziu a redução da migração celular neutrofílica em peritonite induzida por lipopolissacarídeo (LPS) (CORREA et al., 2007), reduziu o edema e o influxo de leucócitos, assim como reduziu a mionecrose causada pelo veneno de cobra da espécie *Bothrops jararacussu* (BARBOSA et al., 2008, 2009)

e acelerou o reparo tecidual pós-cirúrgico e reduziu o edema e o infiltrado inflamatório polimorfonuclear (REIS et al., 2008). Outros estudos em animais e humanos tem demonstrado que o LBI tem efeitos modulatórios em marcadores inflamatórios ( $\text{PGE}_2$ ,  $\text{TNF-}\alpha$ ,  $\text{IL-1}$ ), que reduzem o processo inflamatório (edema, necrose, influxo de neutrófilos) e modulam a atividade leucocitária (macrófagos, linfócitos) e também das isoformas da ciclooxigenase ( $\text{COX-1}$  e  $\text{COX-2}$ ) (DE ALMEIDA et al., 2011). Nesse sentido, foi demonstrado que a aplicação de LBI em músculos gastrocnêmios criolesionados de ratos demonstrou uma significativa diminuição da intensidade do processo inflamatório em 4 dias após a realização da lesão muscular (PAIVA-OLIVEIRA et al., 2012). Dados semelhantes foram observados em modelo de inflamação induzida por zymosan em joelho de ratos, onde o tratamento com LBI de InGaAlP operando, em modo contínuo, no comprimento de onda de 660 nm, reduziu o influxo de leucócitos e liberação de  $\text{IL-1B}$  e  $\text{IL-6}$  decorridas seis horas do tratamento (CARLOS et al., 2014).

Os efeitos biológicos da irradiação no reparo tecidual dependem de parâmetros, tais como, comprimento de onda, a quantidade de energia aplicada no tecido, o número e duração das sessões de aplicação. A irradiação com LBI promove a regeneração do músculo esquelético em modelos animais e humanos, assim como uma redução da fase inflamatória e aceleração das fases proliferativas e de maturação do músculo esquelético. A laserterapia com laser AlGaInP operando com 785 nm reduziu o infiltrado inflamatório e acelerou a regeneração do tecido conjuntivo através da estimulação da proliferação de fibroblastos (CRESSONI et al., 2008).

Ao longo dos anos, foi observado que o LBI tem um padrão dose-resposta bifásico. Isto significa que doses intermediárias situadas dentro de uma “janela terapêutica” têm efeitos estimulatórios nos tecidos biológicos, enquanto que doses maiores podem induzir efeitos inibitórios, ou mesmo, destrutivos. Contudo, as alterações da “janela terapêutica” dependem da natureza da patologia e das células afetadas, assim como dos tipos de tecido (HUANG et al., 2009). Nos trabalhos realizados por Albuquerque-Pontes et al. (2015), cujo objetivo era avaliar os efeitos da irradiação de LBI com diferentes doses (1,3 e 10 Joules), comprimentos de ondas (660, 830 e 905 nm) e intervalos de aplicação, na atividade do citocromo oxidase-c em músculos tibiais anteriores intactos de ratos, foi evidenciado que a expressão do citocromo oxidase-c aumentou principalmente com os seguintes comprimentos de onda e doses: 660 nm com 1 Joule (J), 830 nm com 3J e 905nm com 1 J.

Deste modo, associando-se os fatos de que as DTM são uma das condições mais prevalentes de dor orofacial, em especial as de origem muscular, nas quais se vislumbram variedades de teorias relativas à etiologia e métodos diagnósticos, e de que as modalidades

terapêuticas atuais são apontadas por pacientes como refratárias, desconfortáveis e insatisfatórias frente aos efeitos colaterais e eventuais mudanças de hábitos, torna-se necessário o estabelecimento de uma terapêutica apropriada para o alívio e controle da dor, tornando o LBI uma opção promissora já que sua eficácia vem sendo demonstrada em diversos estudos, no entanto pouco se sabe sobre os mecanismos envolvidos nos seus efeitos anti-inflamatórios e antinociceptivo.

Dessa forma, este estudo busca compreender os mecanismos celulares e moleculares anti-inflamatórios e antinociceptivos do LBI frente a um modelo experimental de dor orofacial no músculo masseter de ratos o qual mimetiza DTM de origem muscular.

## **2 CONCLUSÃO**

Os dados obtidos no presente estudo demonstram que o tratamento com LBI reverte a hipersensibilidade mecânica induzida pela aplicação intramuscular do CFA no masseter de ratos. Este efeito ocorre por uma inibição da resposta inflamatória em nível periférico e uma inibição de fractalquina em nível central

## REFERÊNCIAS\*

ABBADIE, C.; BHANGOO, S.; DE KONINCK, Y.; MALCANGIO, M.; MELIK-PARSADANIANTZ, S.; WHITE, F. A. Chemokines and pain mechanisms. **Brain Research Reviews**, v. 60, n. 1, p. 125-134, 2009;

AHRARI, F.; MADANI, A. S.; GHAFOURI, Z. S.; TUNÉR, J. The efficacy of low-level laser therapy for the treatment of myogenous temporomandibular joint disorder. **Laser in Medical Science**, v. 29, n. 2, p. 551-557, 2014;

ALBERTINI, R.; AIMBIRE, F.; VILLAVERDE, A. B.; SILVA, J. A.; COSTA, M. S. COX-2 mRNA expression decreases in the subplantar muscle of rat paw subjected to carrageenan-induced inflammation after low level laser therapy. **Inflammation Research**, v. 56, n. 6, p. 228-229, 2007;

ALBERTINI, R.; AIMBIRE, F. S.; CORREA, F. I.; RIBEIRO, W.; COGO, J. C.; ANTUNES, E.; TEIXEIRA, S. A.; DE NUCCI, G.; CASTRO-FARIA-NETO, H. C.; ZANGARO, R. A.; LOPES-MARTINS, R. A. Effects of different protocol doses of low power gallium-aluminum-arsenate (Ga-Al-As) laser radiation (650 nm) on carrageenan induced rat paw edema. **Journal of Photochemistry and Photobiology**, v. 74, n. 2, p. 101-107, 2004;

ALBERTINI, R.; VILLAVERDE, A. B.; AIMBIRE, F.; BJORDAL, J. M.; BRUGNERA, A.; MITTMANN, J.; SILVA, J. A.; COSTA, M. S. Cytocine mRNA expression is decreased in subplantar muscle of rat paw subjected to carrageenan-induced inflammation after low-level laser therapy. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 26, n. 1, p. 19-24, 2008;

ALBERTINI, R.; VILLAVERDE, A. B.; AIMBIRE, F.; SALGADO, M. A.; BJORDAL, J. M.; ALVES, L. P.; MUNIN, E.; COSTA, M. S. Anti-inflammatory effects of low-level laser therapy (LLLT) with two different red wavelengths (660 nm and 684 nm) in carrageenan-induced rat paw edema. **Journal of Photochemistry and Photobiology**, v. 89, n. 1, p. 50-55, 2007;

ALBUQUERQUE-PONTES, G. M.; VIEIRA, R. P.; TOMAZONI, S. S.; CAIRES, C. O.; NEMETH, V.; VANIN, A. A.; SANTOS, L. A.; PINTO, H. D.; MARCOS, R. L.; BJORDAL, J. M.; DE CARVALHO PDE, T.; LEAL-JUNIOR, E. C. Effect of pre-irradiation with different doses, wavelengths and application intervals of low level laser therapy on cytochrom c oxidase activity in intact skeletal muscle rats. **Laser in Medical Science**, v. 30, n. 1, p. 59-66, 2015;

AMBALAVANAR, R.; YALLAMPALLI, C.; YALLAMPALLI, U.; DESSEM, D. Injections of adjuvant bu<sup>1</sup>t not acidic saline into craniofacial muscle evokes nociceptive behaviors and neuropeptide expression. **Neuroscience**, v. 149, n. 3, p. 650-659, 2007;

---

\*De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

- BAJETTO, A.; BONAVIDA, R. BARBERO, S.; SCHETTINI, G. Characterization of chemokines and their receptors in the central nervous system: physiopathological implications. **Journal of Neurochemistry**, v. 82, n. 6, p. 1311-1329, 2002;
- BARBE, M. F.; BARR, A. E. Inflammation and the pathophysiology of work-related musculoskeletal disorders. **Brain Behavioral Immunology**, v. 20, n. 5, p. 423-429, 2006;
- BARBOSA, A. M.; VILLAVERDE, A. B.; GUIMARÃES-SOUZA, L.; RIBEIRO, W.; COGO, J. C.; ZAMUNER, S. R. Effect of low level laser therapy in the inflammatory response induced by *Bothrops jararacussu* snake venom. **Toxicon**, v. 51, n. 7, p. 1236-1244, 2008;
- BARBOSA, A. M.; VILLAVERDE, A. B.; SOUSA, L. G.; MUNIN, E.; FERNANDEZ, C. M.; COGO, J. C., ZAMUNER, S. R. Effect of low-level laser therapy in the myonecrosis induced by *Bothrops jararacussu* snake venom. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 27, n. 4, p. 591-597, 2009;
- BARRES, B. A. New roles for glia. **The Journal of Neuroscience**, v. 11, n. 12, p. 3685-3694, 1991;
- BARRETO, S. R.; DE MELO, G. C.; DOS SANTOS, J. C.; DE OLIVEIRA, M. G. B.; PEREIRA FILHO, R. N.; ALVES, A. V. F.; RIBEIRO, M. A. G.; LIMA VERDE, I. B.; QUINTANS JUNIOR, L. J.; ALBUQUERQUE JUNIOR, R. L. C.; BONJARDIM, L. R. Evaluation of anti-nociceptive and anti-inflammatory activity of low level laser therapy on temporomandibular joint inflammation in rodents. **Journal of Photochemistry and Photobiology**, v. 129, p. 135-142, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2013.10.002>>. Acesso em 8 ago. 2015;
- BASBAUM, A. I.; BAUTISTA, D. M.; SCHERRER, G.; JULIUS, D. Cellular and molecular mechanisms of pain. **Cell**, v. 139, n. 2, p. 267-284, 2009;
- BERTA, T.; QADRI, Y. J.; CHEN, G.; JI, R. R. Microglial signaling in chronic pain with a special focus on caspase 6, p38 MAP Kinase, and sex dependence. **Journal of Dental Research**, v. 95, n. 10, p. 1124-1131, 2016;
- BJORDAL, J. M. Low level laser therapy (LLLT) and World Association for Laser Therapy (WALT) dosage recommendations. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 30, n. 2, p. 61-62, 2012;
- BJORDAL, J. M.; COUPPÉ, C.; CHOW, R. T.; TUNÉR, J.; LJUNGGREN, E. A. A systematic review of low level laser therapy with location-specific doses for pain from chronic joint disorders. **Australian Journal of Physiotherapy**, v. 49, n. 2, p. 107-116, 2003;
- BJORDAL, J. M.; JOHNSON, M. I.; IVENSEN, V.; LOPES-MARTINS, R. A. Low-level laser therapy in acute pain: a systematic review of possible mechanisms of action and clinical effects in randomized placebo-controlled trials. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 24, n. 2, p. 158-168, 2006;



BOLLES, R. C. Grooming Behavior in the rat. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, v. 53, n. 3, p. 306-310, 1960;

BORTONE, F.; SANTOS, H. A.; ALBERTINI, R.; PESQUERO, J. B.; COSTA, M. S.; SILVA, J. A. Low level laser therapy modulates kinin receptors mRNA expression in the subplantar muscle of rat paw subjected to carrageenan-induced inflammation. **International Immunopharmacology**, v. 8, n. 2, p. 206-210, 2008;

CAIRNS, B. E.; O'BRIEN, M.; DONG, X. D.; GAZERANI, P. Elevated fractalkine (CX3CL1) levels in the trigeminal ganglion mechanically sensitize temporalis muscle nociceptors. **Molecular Neurobiology**, v. 54, n. 5, p. 3695-3706, 2016;

CAO, Y.; LI, K.; FU, K. Y.; XIE, Q. F.; CHIANG, C. Y.; SESSLE, B. J. Central Sensitization and MAPKs are involved in occlusal interference-induced facial pain in rats. **The Journal of Pain**, v. 14, n. 8, p. 793-807, 2013;

CAPRA, N. F.; RO, J. Y. Human and animal experimental models of acute and chronic muscle pain: intramuscular algescic injection. **Pain**, v. 110, n. 1, p. 3-7, 2004;

CARLOS, F. P.; DE PAULA ALVES DA SILVA, M.; DE LEMOS VASCONCELOS SILVA MELO, E.; COSTA, M. S.; ZAMUNER, S. R. Protective effect of low level laser therapy (LLLT) on acute zymosan-induced arthritis. **Laser in Medical Science**, v. 29, n. 2, p. 757-763, 2014;

CARRASCO, T. G.; MAZZETTO, M. O.; MAZZETTO, R. G.; MESTRINER JR, W. Low intensity laser therapy in temporomandibular disorders: a phase II double-blind study. **Cranio**, v. 26, n. 4, p. 274-281, 2008;

CARROLL, J. D.; MILWARD, M. R.; COOPER, P. R.; HADIS, M.; PALIM, W. M. Developments in low level light therapy (LLLT) for dentistry. **Dental Materials**, v. 30, n. 5, p. 465-475, 2014;

CASEY, K. L.; DUBNER, R. Animal models of chronic pain: scientific and ethical issues. **Pain**, v. 38, n. 3, p. 249-252, 1989;

ÇETINER, S.; KAHRAMAN, S. A.; YÜCETAS, S. Evaluation of low-level laser therapy in the treatment of temporomandibular disorders. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 24, n. 5, p. 637-641, 2006;

CHAPMAN, G. A.; MOORES, K.; HARRISON, D.; CAMPBELL, C. A.; STEWART, B. R.; STRIJBOS, P. J. Fractalkine cleavage from neuronal membranes represents an acute event in the inflammatory response to excitotoxic brain damage. **The Journal of Neuroscience**, v. 20, n. 15, p. 1-5, 2000;

CHARGÉ, S. B.; RUDNICKI, M. A. Cellular and molecular regulation of muscle regeneration. **Physiological Reviews**, v. 84, n. 1, p. 209-238, 2004;

CHAVANTE, M. C. **Laser em Biomedicina: princípios e prática**. São Paulo: Atheneu, 2009;

CHIANG, C. Y.; DOSTROVSKY, J. O.; IWATA, K.; SESSLE, B. J. Role of glia in orofacial pain. **The Neuroscientist**, v. 17, n. 3, p. 303-320, 2011;

CHICHORRO, J. G.; PORRECA, F.; SESSLE, B. Mechanisms of craniofacial pain. **Cephalalgia**, v. 37, n. 7, p. 613-626, 2017;

CLAPHAM, D. E.; JULIUS, D.; MONTELL, C.; SCHULTZ, G. International Union of Pharmacology. XLIX. Nomenclature of transient receptor potential channels. **Pharmacology Review**, v. 57, n. 4, p. 427-450, 2005;

CLAPHAM, D. E.; MONTELL, C.; SCHULTZ, G.; JULIUS, D. International Union of Pharmacology. XLIII. Compendium of voltage-gated ion channels: transient receptor potential channels. **Pharmacology Review**, v. 55, n. 4, p. 591-596, 2003;

CLARK, A. K.; MALCANGIO, M.; Microglial signaling mechanisms: Cathepsin S and fractalkine. **Experimental Neurology**, v. 234, n. 2, p. 283-292, 2012;

CLARK, A. K.; STANILAND, A. A.; MALCANGIO, M. Fractalkine/CX3CR1 signalling in chronic pain and inflammation. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 12, n. 10, p. 1707-1714, 2011;

CORREA, F.; LOPES-MARTINS, R. A.; CORREA, J. C.; IVERSEN, V. V.; JOENSON, J.; BJORDDAL, J. M. Low-level laser therapy (GaAs  $\lambda=904$  nm) reduces inflammatory cell migration in mice with lipopolysaccharide-induced peritonitis. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 25, n. 4, p. 245-249, 2007;

COSTIGAN, M.; WOOLF, C. J. Pain: molecular mechanisms. **The Journal of Pain**, v. 1, n. 3, p. 35-44, 2000;

CRESSONI, M. D.; DIB GIUSTI, H. H.; CASAROTTO, R. A.; ANARUMA, C. A. The effects of a 785 nm AlGaInP laser on the regeneration of rat anterior tibialis muscle after surgically-induced injury. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 26, n. 5, p. 461-466, 2008;

DA SILVA, M. A. M. R.; BOTELHO, A. L.; TURIM, C. V.; DA SILVA, A. M. B. R. Low level laser therapy as an adjunctive technique in the management of temporomandibular disorders. **Cranio**, v. 30, n. 4, p. 264-271, 2012;

DAWBARN, D.; ALLEN, S. J. Neurotrophins and neurodegeneration. **Neuropathology and Applied Neurobiology**, v. 29, n. 3, p. 211-230, 2003;

DE ALMEIDA, P.; LOPES-MARTINS, R. A.; TOMAZONI, S. S.; SILVA, J. A.; DE CARVALHO PDE, T.; BJORDAL, J. M.; LEAL JUNIOR, E. C. Low level laser therapy improves skeletal muscle performance, decreases skeletal muscle damage and modulates mRNA expression of COX-1 and COX-2 in a dose-dependent manner. **Photochemistry and Photobiology**, v. 87, n. 5, p. 1159-1163, 2011;

DEGUCHI, T.; ADACHI, R.; KAMIOKA, H.; KIM, D. G.; FIELDS, H. W.; TAKANO-YAMAMOTO, T.; ICHIKAWA, H.; YAMASHIRO, T. Effect of minocycline on induced

glial activation by experimental tooth movement. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v. 149, n. 6, p. 881-888, 2016;

DENADAI-SOUZA, A.; CAMARGO LDE, L.; RIBELA, M. T.; KEEBLE, J. E.; COSTA, S. K.; MUSCARÁ, M. N. Participation of peripheral tachykinin NK<sub>1</sub> receptors in the carrageenan-induced inflammation of the rat temporomandibular joint. **European Journal of Pain**, v. 13, n. 8, p. 812-819, 2009;

DESIDERÁ, A. C.; NASCIMENTO, G. C.; GERLACH, R. F.; LEITE-PANISSI, C. R. Laser therapy reduces gelatinolytic activity in the rat trigeminal ganglion during temporomandibular joint inflammation. **Oral Diseases**, v. 21, n. 5, p. 652-658, 2015;

DING, Y.; SHI, W.; XIE, G.; YU, A.; WANG, Q.; ZHANG, Z. CX3CR1 mediates nicotine withdrawal-induced hyperalgesia via microglial p38 MAPK signaling. **Neurochemical Research**, v. 40, n. 11, p. 2252-2261, 2015;

DIPAULO, C.; COSTANZO, G. D.; PANTI, F.; RAPELLO, A.; FALISI, G.; PILLONI, A.; CASCONI, P.; IANNETTI, G. Epidemiological analysis on 2375 patients with TMJ disorders: basic statistical aspects. **Annali di Stomatologia**, v. 4, n. 1, p. 161-169, 2013;

DOS REIS, F. A.; BELCHIOR, A. C.; DE CARVALHO PDE, T.; DA SILVA, B. A.; PEREIRA, D. M.; SILVA, I. S.; NICLAU, R. A. Effects of laser therapy (660 nm) on recovery of the sciatic nerve in rats after injury through neurotmesis followed by epineural anastomosis. **Lasers in Medical Science**, v. 24, n. 5, p. 741-747, 2009;

DWORKIN, S. F.; LeRESCHÉ, L. Research diagnostic criteria for temporomandibular disorders: review, criteria, examinations and specifications, critique. **Journal of Craniomandibular Disorders**, v. 6, n. 4, p. 301-355, 1992;

ECHEVERRY, S.; RODRIGUES, M. J.; TORRES, Y. P. Transient receptor potential channels in microglia: roles in Physiology and disease. **Neurotoxicity Research**, v. 30, n. 3, p. 467-478, 2016;

ENDO, Y.; SHOJI, N.; SHIMADA, Y.; KASAHARA, E.; IIKUBO, M.; SATO, T.; SASANO, T.; ICHIKAWA, H. Prednisolone induces microglial activation in the subnucleus caudalis of the rat trigeminal sensory complex. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 34, n. 1, p. 95-100, 2014;

ENWEMEKA, C. S.; PARKER, J. C.; DOWDY, D. S.; HARKNESS, E. E.; SANFORD, L. E.; WOODRUFF, L. D. The efficacy of low-power lasers in tissue repair and pain control: a meta-analysis study. **Photomedicine and Lasers Surgery**, v. 22, n. 4, p. 323-329, 2004, 2004;

FARIVAR, S.; MALEKSHAHABI, T.; SHIARI, R. Biological effects of low level laser therapy. **Journal of Lasers in Medical Sciences**, v. 5, n. 2, p. 58-62, 2014;

FERREIRA, D. M.; ZANGARO R. A.; VILLAVERDE, A. B.; CURY, Y.; FRIGO, L.; PICOLO, G.; LONGO, I.; BARBOSA, D. G. Analgesic effect of He-Ne (632.8 nm) low-level laser therapy on acute inflammatory pain. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 23, n. 2, p. 177-181, 2005;

GAO, Y. J.; JI, R. R. Targeting astrocyte signaling for chronic pain. **Neurotherapeutics: The Journal of the American Society for Experimental Neurotherapeutics**, v. 7, n. 2, p. 482-493, 2010;

GLENN, J. A.; SONCEAU, J. B.; WYNDER, H. J.; THOMAS, W. E. Histochemical evidence for microglia-like macrophages in the rat trigeminal ganglion. **Journal of Anatomy**, v. 183, n. 3, p. 474-481, 1993;

GONÇALVES, D. A. G.; DAL FABRO, A. L.; CAMPOS, J. A. D. B.; BIGAL, M. E.; SPECIALI, J. G. Symptoms of temporomandibular disorders in the population: an epidemiological study. **Journal of Orofacial Pain**, v. 24, n. 3, p. 270-278, 2010;

GOSSELIN, R. D.; SUTER, M. R.; JI, R. R.; DECOSTERD, I. Glial cells and chronic pain. **The Neuroscientist**, v. 16, n. 5, p. 519-531, 2010;

GOULD III, H. J. Complete Freund's adjuvant-induced hyperalgesia: a human perception. **Pain**, v. 85, n. 1, p. 301-303, 2000;

GRAVEN-NIELSEN, T.; MENSE, S. The peripheral apparatus of muscle pain: evidence from animal and human studies. **The Clinical Journal of Pain**, v. 17, n. 1, p. 2-10, 2001;

GREENE, C. S. The etiology of temporomandibular disorders: implications for treatment. **Journal of Orofacial Pain**, v. 15, n. 2, p. 93-111, 2001;

GREENE, C. S.; LASSER, G. D.; EPSTEIN, J. B. Revisions of the American Association of Dental Research's science information statement about temporomandibular disorders. **Journal Canadian Dental Association**, v. 76, a115, 2010;

GUO, W.; WANG, H.; WATANABE, M.; SHIMIZU, K.; ZOU, S.; LAGRAIZE, S. C.; WEI, F.; DUBNER, R. REN, K. Glial-cytokine-neuronal interactions underlying the mechanisms of persistent pain. **The Journal of Neuroscience**, v. 27, n. 22, p. 6006-6018, 2007;

HANANI, M. Satellite glial cells in sensory ganglia: from form to function. **Brain Research Reviews**, v. 48, n. 3, p. 457-476, 2005;

HANISCH, U.; KETTENMANN, H. Microglia: active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain. **Nature Neuroscience**, v. 10, n. 11, p. 1387-1394, 2007;

HARRISON, J. K.; JIANG, Y.; CHEN, S.; XIA, Y.; MACIEJEWSKI, D.; MCNAMARA, R. K.; STREIT, W. J.; SALAFRANCA, M. N.; ADHIKARI, S.; THOMPSON, D. A.; BOTTI, P.; BACON, K. B.; FENG, L. Role for neuronally derived fractalkine in mediating interactions between neurons and CX3CR1-expressing microglia. **Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America**, v. 95, n. 18, p. 10896-10901, 1998;

HATORI, K.; NAGAI, A.; HEISEL, R.; RYU, J. K.; KIM, S. U. Fractalkine and fractalkine receptors in human neurons and glial cells. **Journal of Neuroscience Research**, v. 69, n. 3, p. 418-426, 2002;

HAYDON, P. G. Glia: listening and talking to the synapse. **Nature Reviews: Neuroscience**, v. 2, n. 3, p. 185-193, 2001;

HERPICH, C. M.; AMARAL, A.P.; LEAL-JUNIOR, E. C.; TOSATO, J. P.; GOMES, C. A.; ARRUDA, E. E.; GLÓRIA, I. P.; GARCIA, M. B.; BARBOSA, B. R.; RODRIGUES, M. S.; SILVA, K. L.; EL HAGE, Y.; POLITTI, F.; GONZALEZ, T. O.; BUSSADORI, S. K.; BIASOTTO-GONZALEZ, D. A. Analysis of laser therapy and assessment methods in the rehabilitation of temporomandibular disorder: a systematic review of the literature. **Journal of Physical Therapy Science**, v. 27, n. 1, p. 295-301, 2015;

HUANG, Y. Y.; CHEN, A. C.; CARROLL, J. D.; HAMBLIN, M. R. Biphasic dose response in low light therapy. **Dose response**, v. 7, n. 4, p. 358-383, 2009;

HUARD, J.; LI, Y.; FU, F. H. Muscle injuries and repair: current trends in research. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v. 84-A, n. 5, p. 822-832, 2002;

HUGHES, P. M.; BOTHAM, M. S.; FRENTZEL, S.; MIR, A.; PERRY, V. H. Expression of fractalkine (CX3CL1) and its receptor, CX3CR1, during acute and chronic inflammation in the rodent CNS. **Glia**, v. 37, n. 4, p. 314-327, 2002;

HUNDHAUSEN, C.; SCHULTE, A.; SCHULTZ, B.; ANDRZEJEWSKI, M. G.; SCHWARZ, N.; VON HUNDELSHAUSEN, P.; WINTER, U.; PALIGA, K.; REISS, K.; SAFTIG, P.; WEBER, C.; LUDWIG, A. Regulated shedding of transmembrane chemokines by disintegrin and metalloproteinase 10 facilitates detachment of adherent leukocytes. **The Journal of Immunology**, v. 178, n. 12, p. 8064-8072, 2007;

IMBE, H.; IWATA, K.; ZHOU, Q. Q.; ZOU, S.; DUBNER, R.; REN, K. Orofacial deep and cutaneous tissue inflammation and trigeminal neuronal activation. Implications for persistent temporomandibular pain. **Cells Tissue Organs**, v. 169, n. 3, p. 238-247, 2001;

ISSA, J. P. M.; IYOMASA, M. M.; MIZUSAKI, C. I.; WATANABE, I.; LACERDA, C. A. M. Morphological alterations in the masseter muscle induced by unilateral extractions of the upper molars in guinea pigs. **International Journal Morphology**, v. 22, n. 3, p. 225-230, 2004;

JOHNSTON, I. N.; MILLIGAN, E. D.; WIESELER-FRANK, J.; FRANK, M. G.; ZAPATA, V.; CAMPISI, J.; LANGER, S.; MARTIN, D.; GREEN, P.; FLESHNER, M.; LEINWARD, L.; MAIER, S. F.; WATKINS, L. R. A role for proinflammatory cytokines and fractalkine in analgesia, tolerance and subsequent pain facilitation induced by chronic intrathecal morphine. **The Journal of Neuroscience**, v. 24, n. 33, p. 7353-7365, 2004;

JONES, B. A.; BEAMER, M.; AHMED, S. Fractalkine/CX3CL1: a potential new target for inflammatory diseases. **Molecular Interventions**, v. 10, n. 5, p. 263-270, 2010;

JULIUS, D.; BASBAUM, A. I. Molecular mechanisms of nociception. **Nature**, v. 413, n. 6852, p. 203-210, 2001;

KANDELL, E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSELL, T. M.; SIEGELBAUM, S. A.; HUDSPETH, A. J. **Principles of Neural Science**. 5<sup>a</sup> ed. New York: McGraw-Hill, 2013;

KARU, T. Photobiology of low-power laser effects. **Health Physics**, v. 56, n. 5, p. 691-704, 1989;

KARU, T. Primary and secondary mechanisms of action of visible to near-IR radiation on cells. **Journal of Photochemistry and Photobiology**, v. 49, n. 1, p. 1-17, 1999;

KETTENMANN, H.; HANISCH, U.; NODA, M.; VERKHRATSKY, A. Physiology of microglia. **Physiological Reviews**, v. 91, n. 2, p. 461-553, 2011;

KHAN, A.; HARGREAVES, K. M. Animal models of orofacial pain. **Analgesia: Methods in Molecular Biology**, v. 617, p. 93-104, 2010. Disponível em: <[http://link.springer.com/protocol/10.1007%2F978-1-60327-323-7\\_8](http://link.springer.com/protocol/10.1007%2F978-1-60327-323-7_8)>. Acesso em 8 ago. 2015;

KHUMAN, J.; ZHANG, J.; PARK, J.; CARROLL, J. D.; DONAHUE, C.; WHALEN, M. J. Low-level laser light therapy improves cognitive deficits and inhibits microglial activation after controlled cortical impact in mice. **Journal of Neurotrauma**, v. 29, n. 2, p. 408-417, 2012;

KIYOMOTO, M.; SHINODA, M.; HONDA, K.; NAKAYA, Y.; DEZAWA, K.; KATAGIRI, A.; KAMAKURA, S.; INOUE, T.; IWATA, K. p38 phosphorylation in medullary microglia mediates ectopic orofacial inflammatory pain in rats. **Molecular Pain**, v. 11, n. 48, p. 1-11, 2015;

KIYOMOTO, M.; SHINODA, M.; OKADA-OGAWA, A.; NOMA, N.; SHIBUTA, K.; TSUBOI, Y.; SESSLE, B. J.; IMAMURA, Y.; IWATA, K. Fractalkine signaling in microglia contributes to ectopic orofacial pain following trapezius muscle inflammation. **The Journal of Neuroscience**, v. 33, n. 18, p. 7667-7680, 2013;

KRESLAVSKI, V. D.; FOMINA, I. R.; LOS, D. A.; CARPENTIER, R.; KUZNETSOV, V. V.; ALLAKHVERDIEV, S. I. Red and near infra red signaling: hypothesis and perspectives. **Journal of Photochemistry and Photobiology**, v. 13, n. 3, p. 190-203, 2012;

KRZYZANOWSKA, A.; AVENDAÑO, C. Behavioral testing in rodent models of orofacial neuropathic and inflammatory pain. **Brain and Behavior**, v. 2, n. 5, p. 678-697, 2012;

KUNER, R. Central mechanisms of pathological pain. **Nature Medicine**, v. 16, n. 11, p. 1258-1266, 2010;

KUNER, R. Spinal excitatory mechanisms of pathological pain. **Pain**, v. 156, n. 4, p. 11-17, 2015;

KUNER, R.; FLOR, H. Structural plasticity and reorganization in chronic pain. **Nature Reviews: Neuroscience**, v. 18, n. 1, p. 20-30, 2017;

LAAKSO, E.; CABOT, P. J. Nociceptive scores and endorphin-containing cells reduced by low-level laser therapy (LLLT) in inflamed paws of Wistar rat. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 23, n. 1, p. 32-35, 2005;

LAURO, C.; CATALANO, M.; TRETTEL, F.; LIMATOLA, C. Fractalkine in the nervous system: neuroprotective or neurotoxic molecule? **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 135, 141-148. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/nyas.12805>>. Acesso em 28 abr. 2017;

LE BARS, D.; GOZARIU, M.; CADDEN, S. W. Animal Models of Nociception. **Pharmacological Reviews**, v. 53, n. 4, p. 597-652, 2001;

LEE, S.; ZHAO, Y. Q.; RIBEIRO DA SILVA, A.; ZHANG, J. Distinctive response of CNS glial cells in orofacial pain associated with injury, infection and inflammation. **Molecular Pain**, v. 6, n. 79, p. 1 -18, 2010;

LIZARELLI, R. F. Z. **Protocolos clínicos odontológicos: uso do laser de baixa intensidade**. 4ª ed. São Carlos: MM Optics LTDA, 2010;

LUND, J. P.; SADEGHI, S.; ATHANASSIADIS, T.; CARAM SALAS, N.; AUCLAIR, F.; THIVIERGE, B.; ARSENAULT, I.; ROMPRÉ, P.; WESTBERG, K. G.; KOLTA, A. Assessment of the potential role of muscle spindle mechanoreceptor afferents in chronic muscle pain in the rat masseter muscle. **PLoS ONE**, v. 5, n. 6, 2010. Disponível em: <<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0011131>>. Acesso em 8 ago. 2015;

LUO, C.; KUNER, T.; KUNER, R. Synaptic plasticity in pathological pain. **Trends in Neuroscience**, v. 37, n. 6, p. 343-355, 2014;

MACFARLANE, T. V.; BLINKHORN, A. S.; DAVIES, R. M.; KINCEY, J.; WORTHINGTON, H. V. Orofacial pain in the community: prevalence and associated impact. **Community Dentistry Oral Epidemiology**, v. 30, n. 1, p. 52-60, 2002;

MACFARLANE, T.V., GLENNY, A.M., WORTHINGTON, H.V. Systematic review of population-based epidemiological studies of orofacial pain. **Journal of Dentistry**, v. 29, n. 7, p. 451-467, 2001;

MACFARLANE, T.V.; BEASLEY, M.; MACFARLANE, G.J. Self-Reported Facial Pain in UK Biobank Study: Prevalence and Associated Factors. **Journal of Oral Maxillofacial Research**, v. 5, n. 3, 2014. Disponível em: <<http://www.ejomr.org/JOMR/archives/2014/3/e2/v5n3e2ht.pdf>>. Acesso em 28 abr. 2017;

MACHADO, L. P. S.; NERY, C. G.; LELES, C. R.; NERY, M, B. M.; OKESON, J. P. The prevalence of clinical diagnostic groups in patients with temporomandibular disorders. **Cranio**, v. 27, n. 3, p. 194-199, 2009;

MAIA, M. L. M.; RIBEIRO, M. A. G.; MAIA, L. G. M.; STUGINSKI-BARBOSA, J.; COSTA, Y. M.; PORPORATTI, A. L.; CONTI, P. C. R.; BONJARDIM, L. R. Evaluation of low-level laser therapy effectiveness on the pain and masticatory performance of patients with myofascial pain. **Laser in Medical Science**, v. 29, n. 1, p. 29-35, 2014;

MANTINEO, M.; PINHEIRO, J. P.; MORGADO, A. M. Low level laser therapy on skeletal muscle inflammation: evaluation of irradiation parameters. **Journal of Biomedical Optics**, v. 19, n. 9, 2014. Disponível em:

<<http://biomedicaloptics.spiedigitallibrary.org/article.aspx?articleid=1905166>>. Acesso em 8 ago. 2015;

MARCHAND, F., PERRETI, M., McMAHON, S. B. Role of the immune system in chronic pain. **Nature Reviews: Neuroscience**, v. 6, n. 7, p. 521-532, 2005;

MARTIN, J. H. **Neuroanatomia: texto e atlas**. 4<sup>a</sup> ed. Porto Alegre: ARTMED McGraw Hill Education, 2013;

MARTIN, P.; LEIBOVICH, S. J. Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly. **Trends in Cell Biology**, v. 15, n. 11, p. 599-607, 2005;

MARTINS, R. J.; GARCIA, A. R.; GARBIN, C. A. S.; SUNDEFELD, M. L. M. M. Relação entre classe socioeconômica e fatores demográficos na ocorrência da disfunção temporomandibular. **Ciência. saúde coletiva**, v. 13, n. 2, 2008. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1413-81232008000900013](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81232008000900013)>. Acesso em 8 ago. 2015;

MAZZETTO, M. O.; CARRASCO, T. G.; BIDINELO, E. F.; PIZZO, R. C. A.; MAZZETTO, R. G. Low intensity laser application in temporomandibular disorders: a phase I double-blind study. **Cranio**, v. 25, n. 3, p. 186-192, 2007;

MELCHIOR, M. O.; VENEZIAN, G. C.; MACHADO, B. C. Z.; BORGES, R. F.; MAZZETTO, M. O. Does low intensity laser therapy reduce pain and change orofacial myofunctional conditions? **Cranio**, v. 31, n. 2, p. 133-139, 2013;

MELIS, M.; DI GIOSIA, M.; ZAWAWI, K. Low level laser therapy for the treatment of temporomandibular disorders: a systematic review of the literature. **Cranio**, v. 30, n. 4, p. 304-312, 2012;

MENSE, S. Muscle Pain: mechanisms and clinical significance. **Deutsches Arzteblatt International**, v. 105, n. 12, p. 214-219, 2008;

MENSE, S. Nociception from skeletal muscle in relation to clinical muscle pain. **Pain**, v. 54, n. 3, p. 241-289, 1993;

MIDWOOD, K. S.; WILLIAMS, L. V.; SCHWARSBAUER, J. E. Tissue repair and the dynamics of the extracellular matrix. **The International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 36, n. 6, p. 1031-1037, 2004;

MILLIGAN, E. D.; SLOANE, E. M.; WATKINS, L. R. Glia in pathological pain: a role for fractalkine. **Journal Neuroimmunology**, v. 198, n. 1, p. 113-120, 2008;

MILLIGAN, E. D.; ZAPATA, V.; CHACUR, M.; SCHOENIGER, D.; BIEDENKAPP, J.; O'CONNOR, K. A.; VERGE, G. M.; CHAPMAN, G.; GREEN, P.; FOSTER, A. C.; NAEVE, G. S.; MAIER, S. F.; WATKINS, L. R. Evidence that exogenous and endogenous fractalkine can induce spinal nociceptive facilitation in rats. **European Journal of Neuroscience**, v. 20, n. 9, p. 2294-2302, 2004;



MILLIGAN, E. D.; ZAPATA, V.; SCHOENIGER, D.; CHACUR, M.; GREEN, P.; POOLE, S.; MARTIN, D.; MAIER, S. F.; WATKINS, L. R. An initial investigation of spinal mechanisms underlying pain enhancement by fractalkine, a neuronally released chemokine. **European Journal of Neuroscience**, v. 22, n. 11, p. 2775-2782, 2005;

NADUR-ANDRADE, N.; DALE, C. S.; SANTOS, A. S.; SOARES, A. M.; DE LIMA, C. J.; ZAMUNER, E. Photobiostimulation reduces edema formation induced in mice by Lys-49 phospholipases A2 isolated from Bothrops moojeni venom. **Photochemical and Photobiological Sciences**, v. 13, n. 11, p. 1561-1567, 2014;

NISHIDE, N.; BABA, S.; HORI, N.; NISHIKAWA, H. Histological study of rat masseter muscle following experimental occlusal alteration. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 28, n. 3, p. 294-298, 2001;

NIU, K. Y.; RO, J. Y. Changes in intramuscular cytokine levels during masseter inflammation in male and female rats. **Neuroscience Letters**, v. 487, n. 2, p. 223-227, 2011;

NUÑEZ, S. C.; GARCEZ, A. S.; SUSUKI, S. S.; RIBEIRO, M. S. Management of mouth opening in patients with temporomandibular disorders through low-level laser therapy and transcutaneous electrical neural stimulation. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 24, n. 1, p. 45-49, 2006;

OKUMURA, M.; IWATA, K.; YASUDA, K.; INOUE, K.; SHINODA, M.; HONDA, K.; SHIBUTA, K.; YASUDA, M.; KONDO, E. Alternation of gene expression in trigeminal ganglion neurons following complete Freund's adjuvant and capsaicin injection into the rat face. **Journal of Molecular Neuroscience**, v. 42, n. 2, p. 200-209, 2010;

OLIVEIRA, A. S.; DIAS, E. M.; CONTATO, R. G.; BERZIN, F. Prevalence study of signs and symptoms of temporomandibular disorder in Brazilian college students. **Brazilian Oral Research**, v. 20, n. 1, p. 3-7, 2006;

OLIVEIRA, S. B.; SIQUEIRA, S. R. D. T.; SANVOVSKI, A. R.; AMARAL, L. M. T. B.; SIQUEIRA, J. T. T. Temporomandibular disorder in Brazilian patients: a preliminar study. **Journal of Clinical Psychology in Medical Settings**, v. 15, n. 4, p. 338-343, 2008;

OLIVEIRA, M. E.; SANTOS, F. M.; BONIFACIO, R. P.; FREITAS, M. F.; MARTINS, D. O.; CHACUR, M. Low level laser therapy alters satellite glial cell expression and reverses nociceptive behavior in rats with neuropathic pain. **Photochemical and Photobiological Sciences**, v. 16, n. 4, p. 547-554, 2017;

PAIVA-OLIVEIRA, E. L.; LIMA, N. C.; SILVA, P. H.; SOUSA, N. T. A.; BARBOSA, F. S.; ORSINI, M.; SILVA, J. G. Low level laser therapy (LLLT) reduces inflammatory infiltrate and enhances skeletal muscle repair: histomorphometric parameters. **Laser Physics**, v. 22, n. 9, p. 1425-1430, 2012;

PEREA, G.; ARAQUE, A. Communication between astrocytes and neurons: a complex language. **Journal of Physiology**, v. 96, n. 3, p. 199-207, 2002;

RANSOHOFF, R.; PERRY V. H. Microglial physiology: unique stimuli, specialized responses. **Annual Review of Immunology**, v. 27, n. 1, p. 119-145, 2009;

REIS, S. R.; MEDRADO, A. P.; MARCHIONNI, A. M.; FIGUEIRA, C.; FRACASSI, L. D.; KNOP, L. A. Effect of 670 nm laser therapy and dexamethasone on tissue repair: a histological and ultrastructural study. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 26, n. 4, p. 307-313, 2008;

RIZZI, C. F.; MAURIZ, J. L.; FREITAS CORREA, D. S.; MOREIRA, A. J.; ZETTLER, C. G.; FILIPIN, L. I.; MARRONI, N. P.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J. Effects of low level laser therapy (LLLT) on the nuclear factor (NF)- $\kappa\beta$  signaling pathway in traumatized muscle. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 38, n. 7, p. 704-713, 2006;

ROCHA, Q. P.; KRAYCHETE, D.C.; LEMONICA, L.; CARVALHO, L. R.; BARROS, G. A. M.; GARCIA, J. B. S.; SAKATA, R. K. Dor: aspectos atuais da sensibilização periférica e central. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 57, n. 1, p. 94-105, 2007;

RODRIGUES, J H.; MARQUES, M. M.; BIASOTTO-GONZALEZ, D. A.; MOREIRA, M. S. N. A.; BUSSADORI, S. K.; MESQUITA-FERRARI, R. A.; MARTINS, M. D. Evaluation of pain, jaw movements and psychosocial factors in elderly individuals with temporomandibular disorder under laser phototherapy. **Laser in Medical Science**, v. 30, n. 3, p. 953-959, 2015;

SALMOS-BRITO, J. A. L.; MENEZES, R. F.; TEIXEIRA, C. E. C.; GONZAGA, R. K. M.; RODRIGUES, B. H. M.; BRAZ, R.; BESSA-NOGUEIRA, R. V.; GERBI, M. E. M. M. Evaluation of low-level laser therapy in patients with acute and chronic temporomandibular disorders. **Laser in Medical Science**, v. 28, n. 1, p. 57-64, 2013;

SALOMAN, J. L.; NIU, K. Y.; RO, J. Y. Activation of peripheral delta-opioid receptors leads to anti-hyperalgesic responses in the masseter muscle of male and female rats. **Neuroscience**, v. 190, p. 379-385, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3156332>>. Acesso em 8 ago. 2015;

SCHAIBLE, H. G.; RICHTER, F.; Pathophysiology of pain. **Langenbeck's Archives of Surgery**, v. 389, n. 4, p. 237-243, 2004;

SCHIFFMAN, E.; OHRBACH, R.; TRUELOVE, E.; LOOK, J.; ANDERSON, G.; GOULET, J.P.; LIST, T.; SVENSSON, P.; GONZALEZ, Y.; LOBBEZOO, F.; MICHELOTTI, A.; BROOKS, S. L.; CEUSTERS, W.; DRANGSHOLT, M.; ETTLIN, D.; GAUL, C.; GOLDBERG, L. J.; HAYTHORNTHWAITTE, J. A.; HOLLENDER, L.; JENSEN, R.; JOHN, M. T.; DeLAAT, A.; DeLEEUW, R.; MAIXNER, W.; VAN DER MEULEN, M.; MURRAY, G. M.; NIXFORD, D. R.; PALLA, S.; PETERSSON, A.; PIONCHON, P.; SMITH, B.; VISSCHER, C. M.; ZAKRZEWSKA, J.; DWORKIN, S. F. Disorders (DC/TMD) for Clinical and Research Applications: Recommendations of the International RDC/TMD Consortium Network and Orofacial Pain Special Interest Group. **Journal of Oral Facial Pain and Headache**, v. 28, n. 1, p. 6-27, 2014;

SCHOLZ, J.; WOOLF, C. J. Can we conquer pain? **Nature Neuroscience**, v. 5, suppl, p. 1062-1067, 2002;

SCHOLZ, J.; WOOLF, C. J. The neuropathic pain triad: neuron, immune cells and glia. **Nature Neuroscience**, v. 10, n. 11, p. 1361-1368, 2007;

SCHWAEBLE, W. J.; STOVER, C. M.; SCHALL, T. J.; DAIRAGHI, D. J.; TRINDER, P. K.; LININGTON, C.; IGLESIAS, A.; SCHUBART, A.; LYNCH, N. J.; WEIHE, E.; SCHÄFER, M. K.. Neuronal expression of fractalkine in the presence and absence of inflammation. **Federation of European Biochemical Societies Letters**, v. 439, n. 3, p. 203-207, 1998;

SERVETTO, N.; CREMONEZZI, D.; SIMES, J. C.; DI PIETRO, A.; CAMPANA, V. R. Histomorphologic and ultrastructural recovery of myopathy in rats treated with low level laser therapy. **Laser in Medical Science**, v. 32, n. 4, p. 841-849, 2017;

SESSLE, B. J. Peripheral and central mechanisms of orofacial inflammatory pain. **International Review of Neurobiology**, v. 97, p. 179-206, 2011. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123851987000072>>. Acesso em 8 ago. 2015;

SHEFER, G.; PARTRIDGE, T. A.; HESLOP, L.; GROSS, J. G.; ORON, U.; HALEVY, O. Low energy laser irradiation promotes the survival and cells cycle entry of skeletal muscle satellite cells. **Journal of Cell Science**, v. 115, n. 7, p. 1461-1469, 2002;

SHIRANI, A. M.; GUTKNECHT, N.; TAGHIZADEH, M.; MIR, M. Low-level laser therapy and myofascial pain dysfunction syndrome: a randomized controlled clinical trial. **Laser in Medical Science**, v. 24, n. 5, p. 715-720, 2009;

SIQUEIRA, S. R.; VILELA, T. T.; FLORINDO, A. A. Prevalence of headache and orofacial pain in adults and elders in a Brazilian community: an epidemiological study. **Gerodontology**, v. 32, n. 2, p. 123-131, 2015;

SLUKA, K. A.; KALRA, A.; MOORE, S. A. Unilateral intramuscular injections of acidic saline produce a bilateral, long-lasting hyperalgesia. **Muscle Nerve**, v. 24, n. 1, p. 37-46, 2001;

SLUKA, K. A.; PRICE, M. P.; BREESE, N. M.; STUCKY, C. L.; WEMMIE, J. A.; WELSH, M. J. Chronic hyperalgesia induced by repeated acid injections in muscle is abolished by the loss of ASIC3, but not ASIC1. **Pain**, v. 106, n. 3, p. 229-239, 2003;

SONG, J. W.; LI, K.; LIANG, Z. W.; DAI, C.; SHEN, X. F.; GONG, Y. Z.; WANG, S.; HU, X. Y.; WANG, Z. Low-level laser facilitates alternatively activated macrophages/microglia polarization and promotes functional recovery after crush spinal cord injury in rats. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1-13, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41598-017-00553-6>>. Acesso em 9 mai. 2017;

SONG, S.; ZHOU, F.; CHEN, W. R. Low-level laser therapy regulates microglial function through Src-mediated signaling pathways: implications for neurodegenerative diseases. **Journal of Neuroinflammation**, v. 9, n. 219, p. 1-17, 2012;

SOUZA, G. R.; TALBOT, J.; LOTUFO, C. M.; CUNHA, F. Q.; FERREIRA, S. H. Fractalkine mediates inflammatory pain through activation of satellite glial cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America**, v. 110, n. 27, p. 11193-11198, 2013;

STELLA, N. Neuroscience. Inflammation to rebuild a brain. **Science**, v. 338, n. 6112, p. 1303-1304, 2012;

SUADICANI, S. O.; CHERKAS, P. S.; ZUCKERMAN, J.; SMITH, D. N.; SPRAY, D. C.; HANANI, M. Bidirectional calcium signaling between satellite glial cells and neurons in cultured mouse trigeminal ganglia. **Neuron Glia Biology**, v. 6, n. 1, p. 43-51, 2010;

SUGIYO, S.; TAKEMURA, M.; DUBNER, R.; REN, K. Trigeminal transition zone-rostral ventromedial medulla connections and facilitation of orofacial hyperalgesia after masseter inflammation in rats. **The Journal of Comparative Neurology**, v.493, n. 4, p. 510–523, 2005;

SVENSSON, P.; GRAVEN-NIELSEN, T. Craniofacial muscle pain: review of mechanisms and clinical manifestations. **Journal of Orofacial Pain**, v.15, n. 2, p. 117-135, 2001;

SWANSON, L. M. **Brain Maps: structure of the rat brain**. Amsterdam: Elsevier, 1992;

TAKEMURA, M.; SUGIYO, S.; MORITANI, M.; KOBAYASHI, M.; YONEHARA, N. Mechanisms of orofacial pain control in the central nervous system. **Archives of Histology and Cytology**, v. 69, n. 2, p. 79-100, 2006;

TAYLOR, A. M.; MEHRABANI, S.; LIU, S.; TAYLOR, A. J.; CAHILL, C. M. Topography of microglial activation in sensory and affect-related brain regions in chronic pain. **Journal of Neuroscience Research**, v. 95. n. 6, p. 1330-1335, 2017;

VALLEJO, R.; TILEY, D. M.; VOGEL, L.; BENYAMIN, R. The role of glia and the immune system in the development and maintenance of neuropathic pain. **Pain Practice**, v. 10, n. 3, p. 167-184, 2010;

VENEZIAN, G. C.; DA SILVA, M. A. M. R.; MAZZETTO, R. G.; MAZZETTO, M. O. Low level laser effects on pain to palpation and electromyographic activity in TMD patients: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. **Cranio**, v. 28, n. 2, p. 84-91, 2010;

VILLA, G.; CERUTI, S.; ZANARDELLI, M.; MAGNI, G.; JASMIN, L.; OHARA, P. T.; ABBRACCHIO, M. P. Temporomandibular joint inflammation activates glial and immune cells in both the trigeminal ganglia and in the spinal trigeminal nucleus. **Molecular Pain**, v. 6, n. 89, p. 1-14, 2010;

VIT, J. P.; JASMIN, L.; BHARGAVA, A.; OHARA, P. T. Satellite glial cells in the trigeminal ganglion as a determinant of orofacial neuropathic pain. **Neuron Glia Biology**, v. 2, n. 4, p. 247-257, 2006;

VON LEDEN, R. E.; COONEY, S. J.; FERRARA, T. M.; ZHAO, Y.; DALGARD, C. L.; ANDERS, J. J.; BYRNES, K. R. 808 nm wavelength light induces a dose-dependent alteration in microglial polarization and resultant microglial induced neurite growth. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 45, n. 4 , p. 253-263, 2013;

VOS, B. P.; HANS, G.; ADRIAENSEN, H. Behavioral assessment of facial pain in rats: face grooming patterns after painful and non-painful sensory disturbances in the territory of rat's infraorbital nerve. **Pain**, v. 76, n. 1, p. 173-178, 1998;

VOS, B. P.; STRASSMAN, A. M.; MACIEWICZ, R. J. Behavioral evidence of trigeminal neuropathic pain following chronic constriction injury to the rat's infraorbital nerve. **The Journal of Neuroscience**, v. 14, n. 5, p. 2708-2723, 1994;

WATKINS, L. R.; MILLIGAN, E. D.; MAIER, S. F. Glial activation: a driving force for pathological pain, **Trends in Neuroscience**, v. 24, n. 8, p. 450-455, 2001;

WIESELER-FRANK, J.; MAIER, S. F.; WATKINS, L. R. Glial activation and pathological pain. **Neurochemistry International**, v. 45, n. 2, p. 389-395, 2004;

WILLIAMS, A. C.; CRAIG, K. D. Updating the definition of pain. **Pain**, v. 157, n. 11, p. 2420-2423, 2016;

WOOLF, C. J.; MA, Q. Nociceptors – noxious stimulus detectors. **Neuron**, v. 55, n. 3, p. 353-364, 2007;

YE, L.; XIAO, L.; YANG, S. Y.; DUAN, J. J.; CHEN, Y.; CUI, Y. Cathepsin S in the spinal microglia contributes to remifentanyl-induced hyperalgesia in rats. **Neuroscience**, v. 344, p. 265-275, 2017. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306452216307308>>. Acesso em 20 abr. 2017;

ZHUO, M.; WU, G.; WU, L. J. Neuronal and microglial mechanisms of neuropathic pain. **Molecular Brain**, v. 4, n. 31, p. 3-12, 2011;

ZIMMERMAN, M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. **Pain**, v. 16, n. 2, p. 109-110, 1983.