

ELIZAMARA SANTOS GONÇALVES

**ENVOLVIMENTO DA SUBSTÂNCIA CINZENTA PERIAQUEDUTAL,
MEDULA ESPINAL E CÉLULAS DA GLIA NA ANALGESIA INDUZIDA POR
ESTIMULAÇÃO INSULAR EM RATOS COM NEUROPATIA PERIFÉRICA
EXPERIMENTAL**

Versão Original

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Sistemas do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Biologia Morfofuncional

Orientador (a): Profa. Dra. Camila Squarzoni Dale

RESUMO

GONÇALVES, E.S. **Envolvimento da substância cinzenta periaquedutal, medula espinal e células da glia na analgesia induzida por estimulação insular em ratos com neuropatia periférica experimental.** 2020. PGS 90 f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Sistemas- Área de Concentração: Biologia Morfofuncional) - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

Diferentes modalidades terapêuticas ainda falham no tratamento da dor em pacientes com neuropatias, sendo que metade dos pacientes permanecem refratários, independentemente do tipo de tratamento utilizado. Assim, alternativas terapêuticas como a estimulação elétrica encefálica, que tem mostrado grande potencial no tratamento de diferentes doenças, deve ter seu estudo aprofundado e aprimorado. Neste sentido, o modelo experimental de Estimulação Elétrica do Córtex Insular (EECI), desenvolvido por nosso grupo, apresentou resultados promissores no que se refere à reversão de dor em ratos com neuropatia periférica dolorosa, reforçando o potencial da neuroestimulação insular como alternativa terapêutica. No entanto, para que sua aplicabilidade clínica seja confirmada, ainda se faz necessário compreender os mecanismos pelos quais a EECI induz analgesia, bem quais os melhores parâmetros capazes de induzir este efeito. Neste contexto, este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de diferentes frequências de EECI na sensibilidade dolorosa mecânica e térmica e na atividade locomotora de ratos submetidos a um modelo de dor neuropática induzida por constrição crônica do nervo isquiático (CCI). Ainda, o efeito da EECI sobre a ativação de astrócitos e microglia na substância cinzenta periaquedutal (PAG) e medula espinal, também foi avaliado. Para tanto, ratos Sprague Dawley machos (CEUA 5874130618), com constrição crônica do nervo isquiático (CCI) na coxa direita foram submetidos a EECI no córtex insular posterior esquerdo (em cinco estimulações diárias consecutivas; 15 min por sessão, a 10, 60, 80 ou 100 Hz, 210 μ s, 1V), sendo avaliados no modelo de pressão de patas, filamentos de von Frey, placa quente e no teste de campo aberto. A ativação de astrócitos e microglia foi avaliada por imuno-histoquímica para GFAP e IBA. Os resultados aqui obtidos demonstram que as diferentes frequências de EECI (10, 60, 80 e 100Hz) foram capazes de alterar a sensibilidade mecânica e térmica de animais com CCI, sendo que a EECI com 60Hz se mostrou mais eficaz em induzir analgesia em animais com dor neuropática quando comparada as outras frequências, sem interferir na atividade locomotora geral dos animais. A EECI 60Hz ainda interferiu na imunomarcagem de astrócitos e microglia na PAG, com alterações específicas em astrócitos na medula espinal, não sendo capaz de

alterar a imunomarcção de microglia na medula espinal, o que reforça a aplicabilidade da EECI 60Hz no tratamento de dor na clínica.

Palavras-chave: Dor neuropática. Antinociceção. Córtex insular. Glia. PAG. Estimulação.

ABSTRACT

GONÇALVES, E.S. **Envolvimento da substância cinzenta periaquedutal, medula espinal e células da glia na analgesia induzida por estimulação insular em ratos com neuropatia periférica experimental.** 2020. PGS 90f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Sistemas- Área de Concentração: Biologia Morfofuncional) - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

Different therapeutic modalities still fail to treat pain in patients with neuropathies, with half of the patients remaining refractory, regardless of the type of treatment used. Thus, therapeutic alternatives such as electrical brain stimulation, which has shown great potential in treating different diseases, must be of further studied. In this context, the Electrical Stimulation of the Insular Cortex (ESI) model developed by our group, presented promising results regarding the reversal of pain in rats with painful peripheral neuropathy, reinforcing the potential of ESI as a therapeutic alternative. However, for its clinical applicability to be confirmed, it is still necessary to understand the mechanisms by which ESI induces analgesia, as well as the best parameters capable of inducing this effect. In this context, this study aimed to evaluate the effect of different frequencies of ESI on the painful mechanical and thermal sensitivity and general locomotor activity of rats submitted to a model of neuropathic pain induced by chronic sciatic nerve constriction (ICC). Also, the effect of ESI on the activation of microglia and astrocytes in the periaqueductal gray matter (PAG) and spinal cord, was also evaluated. For that, male Sprague Dawley rats (CEUA 5874130618), submitted to chronic constriction injury (CCI) in the right thigh, were submitted to ESI in the left posterior insular cortex (in five consecutive daily stimulation; 15 min per session, at 10, 60, 80 or 100 Hz, 210 μ s, 1V), being evaluated in the paw pressure model, von Frey filaments, hot plate and in open field test. Astrocytes and microglia activation was assessed by immunohistochemistry for GFAP and IBA. The results obtained herein demonstrate that the different frequencies of ESI (10, 60, 80 and 100Hz) were able to change mechanical and thermal sensibility of animals with CCI, and ESI with 60Hz was more effective to induce analgesia in animals with neuropathic pain when compared to other frequencies, without impairment in animals' general locomotor activity. The ESI 60Hz also interfered in the immunomarking of astrocytes and microglia in PAG with specific changes in astrocytes in the spinal cord, without changes of microglia, what reinforces ESI 60Hz applicability as a therapeutic in pain clinic.

Keywords: Pain. Neuropathic pain. Antinociception. Insular cortex. Glia. Stimulation.
PAG

1 INTRODUÇÃO

1.1 Dor e o processo nociceptivo

A mais recente definição de dor publicada pela Associação Internacional para o Estudo da Dor, (IASP), descreve a dor como “Uma experiência sensorial e emocional desagradável, associada, ou semelhante àquela associada, a uma lesão tecidual real ou potencial” (RAJA, SRINIVASA N. et al, 2020, De Santana et al., 2020). Dor advém subjetivamente da nocicepção, sendo postulado que a nocicepção refere-se a manifestação neurofisiológica gerada por estímulos nocivos, enquanto que a dor envolve também a percepção subjetiva do estímulo aversivo (MILLAN, 1999; SCHAIBLE; RICHTER, 2004), e pode ser dividida em categorias distintas, assim compreendidas: fisiológica ou nociceptiva; inflamatória e patológica, na qual se insere a dor neuropática.

A dor fisiológica tem função de alerta, fornecendo informações sobre ocorrência ou perigo de lesões, é um sinal característico dos mecanismos de proteção do organismo contra danos teciduais (RAJA ET al., 1999). A dor inflamatória é gerada pela estimulação inespecífica da inervação sensitiva e pela ação de mediadores químicos liberados durante um processo inflamatório. Já a dor neuropática se distingue das anteriores por apresentar características crônicas e não agudas, principalmente devido à existência de plasticidade neuronal no processo de percepção de dor, caracterizado como sensibilização periférica e central, sendo resultante de lesões no sistema nervoso periférico (SNP), medula espinal e/ou encéfalo, e que geram alodínia (dor em resposta a estímulos não lesivos), dor espontânea e hiperalgesia (dor exacerbada em resposta a estímulos lesivos) (SCHAIBLE; RICHTER, 2004).

Na nocicepção há codificação dos estímulos nocivos mecânicos, térmicos ou químicos para impulsos elétricos no sistema nervoso pelos nociceptores, as terminações nervosas livres especializadas de fibras aferentes primárias do tipo fibras C, amielínicas, e fibras A δ , mielinizadas, de alto limiar de ativação, que atingem principalmente as lâminas I e II da coluna posterior da medula espinal (CPME) (SCHAIBLE; RICHTER, 2004; KUNER, FLOR, 2016), fazendo sinapses com neurônios de projeção que levam a informação para centros superiores do sistema nervoso central (JESSEL; KELLY, 1991; KUNER, FLOR, 2016). O trato espinotalâmico é uma das principais projeções supraespinhais para condução da informação nociceptiva (Jessel; Kelly, 1991). Em

núcleos específicos do tálamo, tais como, núcleo ventral póstero-lateral (VPL) e ventral póstero-medial (VPM) se relaciona o componente discriminativo da dor, já os componentes afetivos da dor, estão relacionados ao núcleo lateral central e complexo intralaminar, onde ocorre a recepção, integração e transferência da informação nociceptiva para o córtex encefálico, local onde a informação é somatotopicamente organizada (CRAIG; DOSTROVSKY, 1999), sendo os córtices insular posterior e somatossensorial-II os principais alvos do trato espinotalâmico (GAURIAU; BERNARD, 2004).

O processamento e a percepção da dor fisiológica e patológica podem ser regulados em diferentes áreas da via nociceptiva, pela ação de diversos neurotransmissores e neuropeptídios (KUNER, FLOR, 2018). De acordo com a Teoria de Comporta de Melzack e Wall, acerca da regulação da informação nociceptiva na medula espinal, interneurônios inibitórios na substância gelatinosa da CPME, quando ativados por fibras A β , geram inibição pré-sináptica em neurônios presentes na medula espinal, regulando os potenciais de ação nociceptivos que ascendem pelo trato espinotalâmico (MELZACK; WALL, 1965; BEAR, 2008).

No que se refere ao processo de regulação da dor, tem sido demonstrado na literatura o envolvimento de importantes estruturas corticais, evidenciando circuitos inibitórios descendentes que se originam de áreas como Tálamo, Córtex do Cíngulo Anterior (ACC) e PAG, que se projetam para o bulbo e ponte, seguindo para medula espinal para induzir analgesia, inclusive nos casos de dor crônica (RAINOV et al., 1997; GARCIA- LARREA et al., 1999; NGUYEN et al. 2000; SENAPATI et al., 2005a; SENAPATI et al., 2005b; FAGUNDES- PEREYRA et al., 2010; OSSIPOV et al., 2010; QUINTERO, 2013; WANG et al., 2011; NAMKUNG et al., 2017).

1.2 Dor Neuropática

A dor neuropática desenvolvida pela “lesão primária ou disfunção do sistema nervoso somatossensorial”, onde a dor perde seu caráter fisiológico, adquirindo características crônicas (IASP, 1986; BACKONJA, 2003; KUNER FLOR, 2018), e pode decorrer de traumas mecânicos, síndromes metabólicas como diabetes, ou mesmo de doenças infecciosas, bacterianas e pelo vírus HIV, sendo o desenvolvimento da neuropatia periférica crônica influenciado por polimorfismos genéticos, gênero, idade ou infecções (COSTIGAN et al., 2009; YAN et al., 2017).

A lesão persistente modifica estruturalmente o sistema nervoso (COSTIGAN et al., 2009), induzindo sensibilização periférica e central (DWORKIN et al., 2003), possibilitando o aumento ou diminuição da facilitação e inibição da transmissão sináptica, potenciais ectópicos e reestruturação da circuitaria sináptica (COSTIGAN et al., 2009). A sensibilização central envolve o aumento da função neuronal individual (celular) e dos circuitos nociceptivos (multicelulares, neuronais e gliais) causados por aumento da excitabilidade da membrana, eficácia sináptica e também pela diminuição da inibição do sistema nervoso somatossensorial e plasticidade em resposta a inflamação periférica, atividade anormal ou lesão nervosa que ocorrem após estímulo nociceptivo intenso ou repetitivo (Wall and Melzack's, 2013) alterando a percepção da dor, resultando em fenótipos complexos de neuropatia que irão se manifestar pela ocorrência de dor espontânea, alodínia e hiperalgesia (COSTIGAN ET AL., 2009; YAN et al., 2017; ALVES, LIN, 2018), característicos da dor neuropática.

A dor com característica neuropática atinge até 10% das pessoas (VAN HECKE et al., 2014) e, em relação a dor crônica, esta afeta cerca de 30-50% da população mundial, sendo 40% dos homens e mulheres no Brasil (SOUZA et al., 2017), número que chama a atenção, principalmente frente à ineficácia de grande parte dos tratamentos para este tipo de dor, incluindo analgésicos, opióides, antidepressivos, anticonvulsivantes, antagonistas de receptores NMDA e anti-inflamatórios não-esteroidais (COLLINS et al., 2010; YAN et al., 2017). Neste caso, vale salientar que novas terapêuticas se fazem necessárias, uma vez que 40% dos pacientes são refratários aos tratamentos disponíveis na clínica médica (HANSSON et al., 2009).

Nesse contexto, a estimulação elétrica encefálica surgiu como uma terapia não farmacológica promissora para o tratamento de dor neuropática.

1.3 Estimulação elétrica encefálica

O conceito de que a dor pode ser alterada por modulação cortical é confirmada por muitos procedimentos experimentais e da clínica médica (TSUBOKAWAE ET AL., 1991; RAINOV et al., 1997; GARCIA-LARREA et al., 1999; NGUYEN et al., 2000; SENAPATI et al., 2005A; SENAPATI et al., 2005B; FAGUNDES-PEREYRA et al., 2010). Foi demonstrado que a estimulação elétrica do córtex motor (ECM) induz antinocicepção em ratos *naive*, devido à inibição de núcleos talâmicos e a desinibição da PAG, sendo esse efeito mediado pelo VPM em ratos submetidos ao modelo de dor

neuropática induzido por CCI (PAGANO et al., 2011). Ainda, outros métodos não invasivos têm gerado resultados satisfatórios no controle da dor, como a estimulação magnética transcraniana (EMT) (GARCIA-LARREA ET AL., 1999) e a estimulação transcraniana por corrente contínua (ETCC), tanto em pacientes (FONTAINE et al., 2009; SOLER et al. 2010; GALHARDONI et al., 2015), como em animais (SPEZIA ADACHI et al., 2012, SILVA et al., 2015).

Mais recentemente, os estudos de neuroestimulação se voltaram para áreas corticais e límbicas (MOORE, 2014), levando em consideração as diferentes dimensões sensitivo-discriminativa, cognitivo-avaliativa e afetivo-emocional da dor. (TSUBOKAWA et al., 1991;; FAGUNDES-PEREYRA et al., 2010; JUNG et al., 2016) (FONTAINE et al., 2009; GALHARDONI et al., 2015. Diferentes tratamentos neuroestimulatórios também influenciam o estado de atividade de células gliais, sejam astrócitos ou micróglia, na medula espinal, PAG e em regiões encefálicas, o que se relaciona às alterações plásticas observadas em modelos de dor, doença de Parkinson e outras condições (SILVA et al., 2012; MONAI et al 2016; CACACE et al., 2017).

Neste cenário, a busca contínua por novos e eficazes alvos corticais para neuroestimulação mostrou a ínsula como alvo potencial para neuromodulação, uma vez que é a região mais frequentemente ativada em estudos de neuroimagem funcional em humanos saudáveis e em pacientes com dor neuropática (PEYRON et al., 2000; GARCIA-LARREA, 2013), bem como sua parte posterior que está diretamente relacionada a diferentes síndromes de dor crônica, por exemplo dor central pós-Acidente Vascular Cerebral (GARCIA-LARREA, 2013; ISNARD et al., 2011; KLIT et al., 2009) e a modulação do nível de neurotransmissores no córtex insular posterior é diretamente relacionado a geração de fenótipos dolorosos.

Dados do nosso grupo demonstraram a inocuidade da EMT da ínsula posterior superior em voluntários saudáveis, mostrou-se segura e bem tolerada (CIAMPI DE ANDRADE et al, 2012). Outro trabalho do nosso grupo mostra que uma única sessão de EECI posterior de ratos com dor neuropática induz analgesia mecânica, sendo esse feito dependente de receptores opióides e canabinóides do tipo I (DIMOV et al., 2018). Em nosso mais recente trabalho avaliamos a eficácia de um protocolo de cinco sessões de EECI para o tratamento de dor neuropática em ratos, sendo uma sessão diária durante cinco dias, onde demonstramos que a antinocicepção gerada pela EECI perdura de forma sustentada durante todo período experimental avaliado, demonstrando ainda um envolvimento parcial da sinalização GABAérgica no SNC (ALONSO-MATIELO et al.,

in revision), reforçando a segurança e viabilidade dessa técnica como tratamento para dor neuropática. Os mecanismos envolvidos neste tipo de tratamento são alvos deste trabalho.

1.4 Córtex insular

O córtex insular é dividido em ínsula anterior (agranular) e posterior (granular) pelo sulco central da ínsula (NAMKUNG et al., 2017). A ínsula anterior se projeta reciprocamente com córtex do cíngulo anterior ACC, amígdala e córtex pré-frontal medial; e a ínsula posterior com córtex do cíngulo medial (MCC) áreas sensoriais como tálamo áreas corticais (TAN et al., 2016; NAMKUNG et al., 2017).

Em humanos foram demonstradas ligações do córtex insular com estruturas cerebrais envolvidas na via descendente analgésica (TRACEY; MANTYH, 2007), sendo essa região a mais frequentemente ativada, em estudos de neuroimagem funcional, em humanos saudáveis e em pacientes com dor neuropática (PEYRON et al., 2000; GARCIA-LARREA, 2013). Essas conexões extensivas explicam porque córtex insular tem sido implicado em uma gama diversificada de funções, incluindo o processamento doloroso (NIEUWENHUYS, RUDOLF, 2012).

O córtex insular desempenha um papel importante em vários aspectos da sensação dolorosa, mediando a modulação das dimensões sensitivo-discriminativa, cognitivo-avaliativa e afetivo-motivacional da dor (WYNFORD-THOMAS; POWELL, 2017), constituindo a matriz da dor que é ativada por estímulos nociceptivos (HURLEY et al., 1991; SHI; CASSELL, 1998b; BECHARA et al., 2005; OSSIPOV et al., 2010; STARR et al., 2009; MORAGA-AMARO; STEHBERG et al., 2012 GARCIA-LARREA; PEYRON, 2013).

A literatura sugere que as respostas de dor podem ser somatotopicamente organizadas na ínsula (MAZZOLA et al., 2009), de forma que diferentes regiões possuam diferentes funções: a região da ínsula anterior agranular é indicada como uma interface entre redes de dor sensoriais e límbicas (MESULAM; MUFSON, 1982; CRAIG, 2003b), na qual está envolvida com os aspectos afetivos do processo nociceptivo por receber principalmente, aferências do núcleo medial talâmico (LU et al., 2016). Enquanto que a parte posterior da ínsula, que corresponde ao córtex insular granular, recebe aferentes diretos dos núcleos talâmicos posteriores e está envolvido no processamento sensorial discriminativo da dor (MAZZOLA et al., 2009; MAZZOLA, L.; MAUGUIERE, F.; ISNARD 2019). A região posterior é indicada como fundamental na manutenção da dor

crônica, pois possui vias de *feedback* positivo que envolvem a medula espinal e podem afetar os processos de sensibilização central (LU et al., 2016). Da mesma forma, a dor crônica é capaz de gerar alterações anatômicas e funcionais na ínsula posterior, fato que é correlacionado com diferentes desordens cognitivas e afetivas (LU et al., 2016)

Além disso, postula-se que a percepção dolorosa é fortemente modulada pelo estado de atividade do córtex insular: a literatura mostra que ocorre a ativação da ínsula após diferentes tipos de estímulos dolorosos (JASMIN et al., 2003; ISNARD et al., 2010; ZHUO et al. 2008), e de diferentes intensidades (STARR et al., 2009). O aumento da atividade da ínsula frente à dor está relacionado a um intenso processo de plasticidade sináptica induzido pela dor neuropática que se assemelha aos processos de sinalização observados na potenciação de longo prazo (LTP), pela potenciação de receptores AMPA, regulação de receptores NMDA (NMDAR) dentre outros (QIU et al., 2013; ZHUO, 2016) e que é correlacionado com a ativação de áreas pró-nociceptivas ou inibição do sistema descendente inibitório de dor (JASMIN et al., 2003).

As subdivisões anatômicas mais aceitas do córtex insular de ratos, com base na citoarquitetura do plano ventro-dorsal, incluem três regiões: o córtex insular agranular (IA), o córtex insular disgranular (ID) e o córtex insular granular (IG) (CECHETO; SAPER, 1987, GOGOLLA, 2017), sendo sua porção posterior fortemente relacionada a funções sensoriais, incluindo a dor (GAURIAU; BERNARD, 2004; RODGERS et al., 2008).

Todas as subdivisões possuem interconexões, tanto nos planos rostro-caudal, quanto dorso-ventral (GOGOLLA, 2017) e apresentam projeções para regiões corticais, como ACC (LU et al., 2016) e estruturas do tronco encefálico que são fundamentais na modulação do processo nociceptivo, como o bulbo rostral ventro-medial (RVM) e a PAG (SATO et al., 2012). Essa conexão do córtex insular com a PAG bem como os mecanismos envolvidos no processo de modulação da dor mediada por essa estrutura na medula espinal são alvos desse trabalho.

1.5 Substância cinzenta periaquedutal e a via descendente inibitória de dor

A PAG é uma região do mesencéfalo que circunda o aqueduto cerebral. Sua parte rostral coincide com a comissura posterior e sua região caudal está situada ao nível do núcleo tegumentar dorsal (BEHBEHANI, 1995; FAULL, OLIVIA K. et al, 2019). A mesma recebe aferências de diferentes origens, tais como hipotálamo, córtex frontal,

córtex insular, amígdala, locus coeruleus, formação reticular, CPME (BASBAUM, 1991) e projeta-se para o RVM e medula espinal (SANDKUHLER, 1996, KIM, JONG-HYUN et al. 2018; LIU, JIAO et al, 2019) constituindo um importante sistema central descendente inibitório de dor endógeno (BASBAUM AND FIELDS, 1978; FIELDS E BASBAUM, 1978).

Com base no entendimento de suas subdivisões anatômicas a PAG é organizada anatomicamente em quatro colunas longitudinais paralelas ao aqueduto (CARRIVE, 1993; FAULL, OLIVIA K. et al, 2019). As quatro colunas são denominadas dorsomedial (dmPAG), dorsolateral (dlPAG), lateral (lPAG) e ventrolateral (vlPAG). Todos, exceto a dlPAG, se projetam diretamente para o tronco encefálico inferior. Aferências do córtex pré-frontal medial projetam-se para dlPAG, córtex dorsomedial e córtex do cíngulo, principalmente para a vlPAG (CLAS LINNMAN et al 2012). Muitos estudos com animais evidenciam que essas conexões fazem com que a PAG esteja de fato envolvida em várias funções neurobiológicas como controle da ansiedade, medo, vocalização, lordose, função cardiovascular, comportamento reprodutivo e modulação da dor (BEHBEHANI, 1995). A lPAG coordena ativamente analgesia não opióide, comportamentos defensivos e tem efeito hipertensivo. Já a vlPAG coordena analgesia opióide, comportamento defensivo passivo e tem efeito hipotensor. A estimulação da dlPAG de ratos evoca estratégias de enfrentamento, como comportamento de luta e fuga, taquicardia, analgesia não mediada por opióides e hipertensão. Por outro lado, a estimulação da vlPAG evoca comportamento de enfrentamento passivo como hipotensão, quiescência, bradicardia e analgesia mediada por opióides (BANDLER et al. 2000; BEHBEHANI 1995).

Embora a modulação descendente inibitória de dor tenha sido definida mais claramente que outras respostas comportamentais, todas essas funções primitivas desempenham defesa homeostática da resposta do indivíduo, integrando informações periféricas e centrais, sendo essas funções segregadas dentro da PAG como por exemplo, ansiedade e dor (WALL and MELZACK, 1999; PAXINOS E MAI, 2004; MENDES GOMES et. al, 2011).

Ainda, são identificados diferentes níveis na PAG determinados pelas coordenadas estereotáxicas com base na distância rostro-caudal do bregma, determinando níveis rostrais (A, B e C) e caudais (D, E, F) da PAG (COMOLI et al., 2003).

1.6 Células da glia

As células da glia representam a mais abundante população de células do sistema nervoso, superando amplamente o número de neurônios, sendo definidas como representantes do sistema imune no SNC e SNP (MACHELSKA, CELIK, 2016). Ela é formada pela macroglia (oligodentrócitos e astrócitos) e pela microglia (GOSSELIN et al., 2010; HAYDON, 2001; VALLEJO et al., 2010).

Lesões de nervos periféricos devido a trauma, doença ou intervenção cirúrgica, geralmente resultam em alterações neuroplásticas no SNC e dor (BERGER et al., 2011). Tais mudanças incluem a ativação de células gliais endógenas do SNC, como microglia (STREIT ET AL., 1999; HANISCH E KETTENMANN, 2007; GRAEBER E STREIT, 2010) e astrócitos (RIDET et al., 1997; PEKNY E NILSSON, 2005 ; SOFRONIEW E VINTERS, 2010; Anderson et al., 2014; PEKNY E PEKNA, 2014). As células gliais ativadas facilitam a neurotransmissão da dor e induzem a sensibilização central dos neurônios espinhais localizados na CPME. As sinapses do SNC são encapsuladas pela glia que, por sua vez, sintetiza e libera neurotransmissores expressando uma série de receptores para muitos destes neurotransmissores e neuromoduladores, além de produzir transportadores que captam 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).

Vários mecanismos pelos quais as células gliais são ativadas têm sido sugeridos, incluindo-se mediadores químicos, tais como, substância P (SP), peptídeo relacionado com o gene da calcitonina (CGRP), óxido nítrico (NO), agentes purinérgicos (ATP-adenosina trifosfato), glutamato e peptídeos endógenos opióides, que são liberados no momento da lesão e estão presentes em casos de dor neuropática (HAYDON, 2001; GOSSELIN et al., 2010; YOON et al., 2012). Astrócitos são as células mais presentes no sistema nervoso e hoje, sabe-se que tem papel importante na formação de sinapses e na regulação e homeostase das células neuronais.

Estas células, assim como células microgliais, são ativadas frente diferentes estímulos, inclusive em casos de dor crônica (ETO et al., 2017). A astrocitose reativa marca a ativação astrocitária, mecanismo que também ocorre na dor crônica (REN, 2010),

conferindo alterações celulares, morfológicas e de metabolismo dos astrócitos na via nociceptiva, que pode decorrer de sinais neuronais mediados por neurotransmissores e neuropeptídios, tais como glutamato e SP, sendo essa ativação necessária para indução e manutenção da dor crônica (WIESELER-FRANK et al., 2004; GOSSELIN et al., 2010).

A ativação de astrócitos na CPME foi identificada em modelos animais de constrição crônica de nervos periféricos (GARRISON et al., 1994; REN, 2010) e está relacionada à patogênese da alodínea mecânica associada a dor neuropática (KIM et al., 2016).

8. CONCLUSÕES

A estimulação elétrica do córtex insular induz antinocicepção em ratos com CCI, sem afetar a atividade locomotora geral dos animais, por mecanismos que envolvem a inibição da ativação astrocitária na PAG.

Referências*

ALVES, J. M.; LIN, K. Neuropathic Pain: A Review of Interneuronal Disinhibition. **Archives of Neuroscience**, v. 5, n. 1, 2018.

ADACHI, LAUREN NAOMI SPEZIA et al. Reversal of chronic stress-induced pain by transcranial direct current stimulation (tDCS) in an animal model. **Brain research**, v. 1489, p. 17-26, 2012.

AUSTIN, P.J. et al. Chronic constriction of the sciatic nerve and pain hypersensitivity testing in rats. **Journal of visualized experiments: JoVE**, n. 61, 2012.

BACKONJA, M. M. Defining neuropathic pain. **Anesthesia and Analgesia**, v. 97, n. 3, p. 785-790, 2003.

BASBAUM, A. I. et al. The spectrum of fiber loss in a model of neuropathic pain in the rat: an electron microscopic study. **Pain**, v. 47, n. 3, p. 359-367, 1991.

BEAR, M. F. et al. Neurociências: desvendando o sistema nervoso. **Artmed Editora**, 2008

BECHARA, A.; DAMASIO, A. The somatic marker hypothesis: a neural theory of economic decision. **Games and Economic Behavior**, v. 52, p. 336-372, 2005.

BEHBEHANI, Michael M. Functional characteristics of the midbrain periaqueductal gray. **Progress in neurobiology**, v. 46, n. 6, p. 575-605, 1995.

BENNETT, G. J.; XIE, Y.-K. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. **Pain**, v. 33, p. 87benn-107, 1988.

BONICA, John J. et al. **Textbook of pain**. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1999.

CACACE, F. et al. Intermittent theta-burst stimulation rescues dopamine-dependent corticostriatal synaptic plasticity and motor behavior in experimental parkinsonism: Possible role of glial activity. **Movement Disorders**, v. 32, n. 7, p. 1035-1046, 2017.

CARRIVE, Pascal. The periaqueductal gray and defensive behavior: functional representation and neuronal organization. **Behavioural brain research**, v. 58, n. 1-2, p. 27-47, 1993.

CECHETTO, D. F.; SAPER, C. B. Evidence for a viscerotopic sensory representation in the cortex and thalamus in the rat. **Journal of Comparative Neurology**, v. 262, p. 27-45, 1987.

CHAPLAN, Sandra R. et al. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. **Journal of neuroscience methods**, v. 53, n. 1, p. 55-63, 1994.

CHOUCHOU, Florian et al. How the insula speaks to the heart: Cardiac responses to insular stimulation in humans. **Human Brain Mapping**, v. 40, n. 9, p. 2611-2622, 2019.

CIAMPI de ANDRADE, D. et al. Into the Island: A new technique of non-invasive cortical stimulation of the insula. **Neurophysiologie Clinique/Clinical Neurophysiology**, v. 42, n. 6, p. 363-368, 2012.

COGGESHALL, Richard E.; CARLTON, Susan M. Receptor localization in the mammalian dorsal horn and primary afferent neurons. **Brain Research Reviews**, v. 24, n. 1, p. 28-66, 1997.

COLLINS, S. et al. NMDA Receptor Antagonists for the Treatment of Neuropathic Pain. **Pain medicine**, v. 11, n. 11, 2010

COMOLI, Eliane et al. A direct projection from superior colliculus to substantia nigra for detecting salient visual events. **Nature neuroscience**, v. 6, n. 9, p. 974, 2003.

COSTIGAN, M. et al. Neuropathic pain: a maladaptive response of the nervous system to damage. **Annual review of neuroscience**, v. 32, p. 1, 2009

CRAIG, A. D.; DOSTROVSKY J. O. Medulla to thalamus. In: P.D.M. Wall, (Ed.), **Textbook of Pain**, London: Churchill Livingstone. p. 183-214. 1999.

CRAIG, Cora L. et al. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. **Medicine & science in sports & exercise**, v. 35, n. 8, p. 1381-1395, 2003.
CRUCCU, G. et al. EFNS guidelines on neurostimulation therapy for neuropathic pain. **European Journal of Neurology**, v. 14, n. 9, p. 952-970, 2007

DALE, Jahrane et al. Scaling up cortical control inhibits pain. **Cell reports**, v. 23, n. 5, p. 1301-1313, 2018.

DE LIMA, M. N. M. et al. Reversal of age-related deficits in object recognition memory in rats with l-deprenyl. **Experimental gerontology**, v. 40, n. 6, p. 506-511, 2005.

DIMOV, L.F. et al. Electrical stimulation of the insular cortex as a novel target for the relief of refractory pain: An experimental approach in rodents **Behavioural Brain Research**, v. 346, p. 86-95, 2018.

FAGUNDES-PEREYRA, W. J. et al. Motor cortex electric stimulation for the treatment of neuropathic pain. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v. 68, n. 6, p. 923-929, 2010.

FAULL, Olivia K. et al. The midbrain periaqueductal gray as an integrative and interoceptive neural structure for breathing. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, 2019.

FONOFF, Erich Talamoni et al. Antinociception induced by epidural motor cortex stimulation in naive conscious rats is mediated by the opioid system. **Behavioural brain research**, v. 196, n. 1, p. 63-70, 2009.

FONTAINE, D. et al. Efficacy and safety of motor cortex stimulation for chronic neuropathic pain: critical review of the literature. **Journal of Neurosurgery**, v. 110, p. 251-256, 2009.

Ni H-D, Yao M, Huang B, Xu L-S, Zheng Y, Chu Y-X, Wang H-Q, Liu M-J, Xu S-J and Li H-B. Glial activation in the periaqueductal gray promotes descending facilitation of neuropathic pain through the p38 MAPK signaling pathway. *Journal of Neuroscience Research* 2016; 94: 50-61. DOI: 10.1002/jnr.23672.

GALHARDONI R. et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation in chronic pain: a review of the literature. *Arch Phys Med Rehabil.* 96(4):S156-72. 2015.

GARCIA-LARREA L. et al. Electrical stimulation of motor cortex for pain control: a combined PET-scan and electrophysiological study. *Pain.* 83: 259–73. 1999.

GARCIA-LARREA, L.; PEYRON, R. Pain matrices and neuropathic pain matrices: a review. *Pain*, v. 154, p. S29-S43, 2013.

GARRISON, et al. GFAP expression in lumbar spinal cord of naive and neuropathic rats treated with MK-801. *Experimental neurology*, v. 129, n. 2, p. 237-243, 1994.

GAURIAU, C.; BERNARD, J.-F. Posterior triangular thalamic neurons convey nociceptive messages to the secondary somatosensory and insular cortices in the rat. *The Journal of Neuroscience*, v. 24, n. 3, p. 752-761, 2004.

GEE, Lucy E. et al. The effects of subthalamic deep brain stimulation on mechanical and thermal thresholds in 6 OHDA-lesioned rats. *European Journal of Neuroscience*, v. 42, n. 4, p. 2061-2069, 2015.

GOGOLLA, N. The insular cortex. *Current Biology*, v. 27, n. 12, p. R580-R586, 2017.

GOSSELIN, Romain-Daniel et al. Glial cells and chronic pain. *The Neuroscientist*, v. 16, n. 5, p. 519-531, 2010.

HANSSON P. T. et al. Toward a definition of pharmacoresistant neuropathic pain. *Eur J Pain.*13(5):439-40. 2009.

HAYDON, Philip G. GLIA: listening and talking to the synapse. *Nature Reviews Neuroscience*, v. 2, n. 3, p. 185, 2001.

HEAD, Henry; HOLMES, Gordon. Sensory disturbances from cerebral lesions. *Brain*, v. 34, n. 2-3, p. 102-254, 1911.

HURLEY, K. M. et al. Efferent projections of the infralimbic cortex of the rat. *Journal of Comparative Neurology*, v. 308, n. 2, p. 249-276, 1991.

IASP (International Association for the Study of Pain). IASP Taxonomy – Introduction to the 1986 list.(1986). Disponível em: <IASP 1986 <http://www.iasppain.org/Content/NavigationMenu/GeneralResourceLinks/PainDefinitions/# Peripheralneuropathicpain>> Acesso em: 30.janeiro.2019

ISNARD, J. et al. Does the insula tell our brain that we are in pain? *Pain.*152(4):946-51. 2011.

JACOB, J. J. C.; RAMABADRAN, K. Enhancement of a nociceptive reaction by opioid antagonists in mice. **British journal of pharmacology**, v. 64, n. 1, p. 91-98, 1978.

JASMIN, L. et al. Analgesia and hyperalgesia from GABA mediated modulation of the cerebral cortex. *Nature*, v. 424, p. 316-320, 2003.

JASMIN, L.; WU, M.; OHARA, P. GABA puts a stop to pain. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord*, v. 3, p. 487-505, 2004

JESSEL, T. M.; KELLY, D. D. Pain and Analgesia. In: KANDELL, E.R.; SCHWARTZ, J.H.; JESSEL, T.M. (Ed.) **Principles of Neural Science**, New York: Elsevier. p. 385-399. 1991.

JUNG, H.H. et al. Rostral Agranular Insular Cortex Lesion with Motor Cortex Stimulation Enhances Pain Modulation Effect on Neuropathic Pain Model. **Neural plasticity**, v. 2016, 2016.

KIM, Jong-Hyun et al. Yin-and-yang bifurcation of opioidergic circuits for descending analgesia at the midbrain of the mouse. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 115, n. 43, p. 11078-11083, 2018.

KIM, S. K. et al. Cortical astrocytes rewire somatosensory cortical circuits for peripheral neuropathic pain. *The Journal of clinical investigation*, v. 126, n. 5, p. 1983-1997, 2016.

KLAUMANN, Paulo Roberto; WOUK, A. F. P. F.; SILLAS, Thiago. Patofisiologia da dor. **Archives of veterinary science**, v. 13, n. 1, 2008.

KLIT, H. et al. Central post-stroke pain : clinical characteristics, pathophysiology, and management. **Lancet Neurol**. 8, 857-868. 2009.

KUHAR, Michael J.; PERT, Candace B.; SNYDER, Solomon H. Regional distribution of opiate receptor binding in monkey and human brain. **Nature**, 1973.

KUNER, R.; FLOR, H. Neural Circuits of Chronic Pain. **Neuroscience**, v. 387, p. 1-3, 2018

KUNER, Rohini; FLOR, Herta. Structural plasticity and reorganisation in chronic pain. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 18, n. 1, p. 20, 2017.

LAZORTHES, Y. et al. Motor cortex stimulation for neuropathic pain. In: *Operative Neuromodulation*. **Springer Vienna**. p. 37-44. 2007.

LEWIS, Vahn A.; GEBHART, G. F. Evaluation of the periaqueductal central gray (PAG) as a morphine-specific locus of action and examination of morphine-induced and stimulation-produced analgesia at coincident PAG loci. **Brain research**, v. 124, n. 2, p. 283-303, 1977.

LINNMAN, Clas et al. Neuroimaging of the periaqueductal gray: state of the field. **Neuroimage**, v. 60, n. 1, p. 505-522, 2012.

LIU, Jiao et al. Global DNA 5-hydroxymethylcytosine and 5-formylcytosine contents are decreased in the early stage of hepatocellular carcinoma. **Hepatology**, v. 69, n. 1, p. 196-208, 2019.

LU, C. et al. Insular Cortex is Critical for the Perception, Modulation, and Chronification of Pain. **Neuroscience bulletin**, v. 32, n. 2, p. 191-201, 2016.

LU, C. et al. Insular Cortex is Critical for the Perception, Modulation, and Chronification of Pain. **Neuroscience bulletin**, v. 32, n. 2, p. 191-201, 2016.

MA, Z. et al. Neuromodulators signal through astrocytes to alter neural circuit activity and behaviour. *Nature*, v. 539, n. 7629, p. 428, 2016.

MACHADO, A. G. et al. Cerebral stimulation for the affective component of neuropathic pain. *Neuromodulation: Technology at the Neural Interface*, v. 16, n. 6, p. 514-518, 2013.

MACHELSKA, Halina; CELIK, Melih Ö. Recent advances in understanding neuropathic pain: glia, sex differences, and epigenetics. **F1000Research**, v. 5, 2016.

MANSOUR, Alfred et al. Mu, delta, and kappa opioid receptor mRNA expression in the rat CNS: an in situ hybridization study. **Journal of Comparative Neurology**, v. 350, n. 3, p. 412-438, 1994.

MAZZOLA, L. et al., Somatotopic organization of pain responses to direct electrical stimulation of the human insular cortex. **Pain**, v. 146, n. 1, p. 99-104, 2009.

MAZZOLA, Laure et al. Vestibular responses to direct stimulation of the human insular cortex. **Annals of neurology**, v. 76, n. 4, p. 609-619, 2014.

MELZACK, R. et al. Pain mechanisms: a new theory. **Science**, v. 150, n. 3699, p. 971-979, 1965.

MESULAM, M.-Marsel; MUFSON, Elliott J. Insula of the old world monkey. III: Efferent cortical output and comments on function. **Journal of Comparative Neurology**, v. 212, n. 1, p. 38-52, 1982.

MILLAN, Mark J. The induction of pain: an integrative review. **Progress in neurobiology**, v. 57, n. 1, p. 1-164, 1999.

MONAI, H. et al. Calcium imaging reveals glial involvement in transcranial direct current stimulation-induced plasticity in mouse brain. **Nature communications**, v. 7, p. 11100, 2016.

MOORE, N. Z. et al. Central neuromodulation for refractory pain. **Neurosurgery Clinics**, v. 25, n. 1, p. 77-83, 2014.

MORAGA-AMARO, R.; STEHBERG, J. The Insular Cortex and the Amygdala: Shared Functions and Interactions. In: FERRY, B. (Ed.). **The Amygdala – A Discrete Multitasking Manager**. Rijeka: InTech. p. 231-256. 2012.

NAMKUNG, H.O. et al. The Insula: An Underestimated Brain Area in Clinical Neuroscience, Psychiatry, and Neurology. **Trends in Neurosciences**, 2017.

NGUYEN, J.P. et al. Motor cortex stimulation in the treatment of central and neuropathic pain. **Archives of Medical Research**, v. 31, n. 3, p., 263-265, 2000.

NI, H. et al. Glial activation in the periaqueductal gray promotes descending facilitation of neuropathic pain through the p38 MAPK signaling pathway. **Journal of neuroscience research**, v. 94, n. 1, p. 50-61, 2016.

NIEUWENHUYS, Rudolf. **Chemoarchitecture of the Brain**. Springer Science & Business Media, 2012.

NORTH, R. ALAN; EGAN, TERRY M. Actions and distributions of opioid peptides in peripheral tissues. **British medical bulletin**, v. 39, n. 1, p. 71-75, 1983.

OSSIPOV, M.H. et al. Central modulation of pain. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 120, n. 11, p. 3779-3787, 2010.

PAGANO, Rosana L. et al. Transdural motor cortex stimulation reverses neuropathic pain in rats: a profile of neuronal activation. **European Journal of Pain**, v. 15, n. 3, p. 268. e1-268. e14, 2011.

PALAZZO, Enza et al. Moving towards supraspinal TRPV1 receptors for chronic pain relief. **Molecular pain**, v. 6, n. 1, p. 66, 2010.

PAXINOS, G. W.; WATSON, C. The rat brain in stereotaxic coordinates. San Diego: **Academic Press**, 2005.

PEYRON, R. et al. Functional imaging of brain responses to pain. A review and metaanalysis. **NeurophysiolClin**, v. 30, p. 263-288, 2000.

QIU, S. et al. An increase in synaptic NMDA receptors in the insular cortex contributes to neuropathic pain. **Sci. Signal.**, v. 6, n. 275, p. ra34-ra34, 2013.

QUINTERO, G. C. Advances in cortical modulation of pain. **Journal of pain research**, v. 6, p. 713, 2013.

RAINOV, N.G. et al. Epidural electrical stimulation of the motor cortex in patients with facial neuralgia. **Clinical Neurology and Neurosurgery**, v. 99, n. 3, p. 205-209, 1997.

RAJA, Srinivasa N. Peripheral mechanisms of nociception. **Text book of Pain**, p. 11-57, 1999. RANDALL, L. O.; SELITTO, J. J. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. **Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie**, v. 111, n. 4, p. 409-419, 1957.

RAJA, Srinivasa N. et al. The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. **Pain**, 2020

REINECKE, Holger et al. Peripheral arterial disease and critical limb ischaemia: still poor outcomes and lack of guideline adherence. **European heart journal**, v. 36, n. 15, p. 932-938, 2015.

REN, K. Emerging role of astroglia in pain hypersensitivity. **Japanese Dental Science Review**, v. 46, n. 1, p. 86-92, 2010.

REYNOLDS, David V. Surgery in the rat during electrical analgesia induced by focal brain stimulation. **Science**, v. 164, n. 3878, p. 444-445, 1969.

RODGERS, K.M et al. Auditory, somatosensory, and multisensory insular cortex in the rat. **Cerebral Cortex**, v. 18, p. 2941- 2951, 2008.

SANDKÜHLER, J. The organization and function of endogenous antinociceptive systems. **Progress in neurobiology**, v. 50, n. 1, p. 49-81, 1996.

SATO, F.A. et al. Projections from the insular cortex to pain-receptive trigeminal caudal subnucleus (medullary dorsal horn) and other lower brainstem areas in rats. **Neuroscience**, v. 233, p. 9-27, 2013.

SCHAIBLE, Hans-Georg; RICHTER, Frank. Pathophysiology of pain. **Langenbeck's archives of surgery**, v. 389, n. 4, p. 237-243, 2004.

SENAPATI, C.J. et al. Electrical stimulation of the primary somatosensory cortex inhibits spinal dorsal horn neuron activity. **Brain Research**, v. 1057, n. 1, p. 134-140, 2005a.

SENAPATI, C.J. et al. Spinal dorsal horn neuron response to mechanical stimuli is decreased by electrical stimulation of the primary motor cortex. **Brain Research**, v. 1036, p. 173-9, 2005b.

SHI, C.; CASSELL, M. Cascade projections from somatosensory cortex to the rat basolateral amygdala via the parietal insular cortex. **Journal of Comparative Neurology**, v. 399, p. 469491, 1998b.

SILVA, G.D. et al. The spinal anti-inflammatory mechanism of motor cortex stimulation: cause of success and refractoriness in neuropathic pain?. **Journal of neuroinflammation**, v. 12, n. 1, p. 10, 2015.

SOLER, Maria Dolors et al. Effectiveness of transcranial direct current stimulation and visual illusion on neuropathic pain in spinal cord injury. **Brain**, v. 133, n. 9, p. 2565-2577, 2010.

SOUZA, Juliana Barcellos de et al. Prevalence of chronic pain, treatments, perception, and interference on life activities: Brazilian population-based survey. **Pain Research and Management**, v. 2017, 2017.

STAROWICZ, Katarzyna; FINN, David P. Cannabinoids and pain: sites and mechanisms of action. In: **Advances in Pharmacology**. Academic Press, 2017. p. 437-475.

STARR, C.J. et al. Roles of the insular cortex in the modulation of pain: insights from brain lesions. **The Journal of Neuroscience**, v.29, n. 9, p. 2684-2694, 2009.

STEHBERG, J. et al. The visceral sector of the thalamic reticular nucleus in the rat. **Neuroscience**, v. 106, p. 745-755.39. 2001.

TAN, L. L. et al. A pathway from midcingulate cortex to posterior insula gates nociceptive hypersensitivity. **Nature neuroscience**, v. 20, n. 11, p. 1591, 2017.

TATEM, K. S. et al. Behavioral and locomotor measurements using an open field activity monitoring system for skeletal muscle diseases. **Journal of visualized experiments: JoVE**, n. 91, 2014.

TERRY, W. S. Habituation and dishabituation of rats' exploration of a novel environment. **Animal Learning & Behavior**, v. 7, n. 4, p. 525-536, 1979.

TOBALDINI, Glaucia et al. Dopaminergic mechanisms in periaqueductal gray-mediated antinociception. **Behavioural pharmacology**, v. 29, n. 2, p. 225-233, 2018.

TRACEY, Irene; MANTYH, Patrick W. The cerebral signature for pain perception and its modulation. **Neuron**, v. 55, n. 3, p. 377-391, 2007.

TREEDE, Rolf-Detlef. The International Association for the Study of Pain definition of pain: as valid in 2018 as in 1979, but in need of regularly updated footnotes. **Pain reports**, v. 3, n. 2, 2018.

TRIPPE, J. et al. Theta burst and conventional low-frequency rTMS differentially affect GABAergic neurotransmission in the rat cortex. **Experimental brain research**, v. 199, n. 34, p. 411, 2009.

TSUBOKAWA et al. Chronic motor cortex stimulation for the treatment of central pain. **Acta Neurochirurgica**, v. 52, 1991.

VAN HECKE, O. et al. Torrance, N. Neuropathic pain in the general population: a systematic review of epidemiological studies. **PAIN®**, v. 155, n. 4, p. 654-662, 2014.

VOLKOW, Nora D.; MCLELLAN, A. Thomas. Opioid abuse in chronic pain—misconceptions and mitigation strategies. **New England Journal of Medicine**, v. 374, n. 13, p. 1253-1263, 2016.

WANG, H. et al. Identification of an adenylyl cyclase inhibitor for treating neuropathic and inflammatory pain. **Science translational medicine**, v. 3, n. 65, p. 65ra3-65ra3, 2011

WATKINS, Linda R.; MILLIGAN, Erin D.; MAIER, Steven F. Glial activation: a driving force for pathological pain. **Trends in neurosciences**, v. 24, n. 8, p. 450-455, 2001.

WIESELER-FRANK, J. et al. Glial activation and pathological pain. **Neurochemistry international**, v. 45, n. 2-3, p. 389-395, 2004.

WYNFORD-THOMAS, R.; POWELL, R. Navigating the Island of Reil: how to understand the insular cortex. 2017

YAKSH, Tony L. et al. The spinal biology in humans and animals of pain states generated by persistent small afferent input. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 96, n. 14, p. 7680-7686, 1999.

YAMASHITA, Akira et al. Astrocytic activation in the anterior cingulate cortex is critical for sleep disorder under neuropathic pain. **Synapse**, v. 68, n. 6, p. 235-247, 2014.

YAN, Y. YI et al. Research progress of mechanisms and drug therapy for neuropathic pain. **Life Sciences**, v. 190, n. September, p. 68–77, 2017.

YIN, Q. et al. Spinal NF- κ B and chemokine ligand 5 expression during spinal glial cell activation in a neuropathic pain model. **PloS one**, v. 10, n. 1, p. e0115120, 2015.

YOON, B. E.; WOO, J.; LEE, C. J. Astrocytes as GABA-ergic and GABA-ceptive cells. **Neurochemical Research**, v. 37, n. 11, p. 2474–2479, 2012.

ZHOU, Haocheng et al. A novel neuromodulation strategy to enhance the prefrontal control to treat pain. **Molecular pain**, v. 15, p. 1744806919845739, 2019.

ZHUO, M. Contribution of synaptic plasticity in the insular cortex to chronic pain. **Neuroscience**, v. 338, p. 220–229, 2016.

ZHUO, M. Cortical excitation and chronic pain. **Trends in neurosciences**, v. 31, n. 4, p. 199207, 2008.

ZHUO, M. Neuronal mechanism for neuropathic pain. **Molecular pain**, v. 3, n. 1, p. 14, 2007.

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