

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

CISSA MARIA RIBEIRO SIQUEIRA

**EFEITOS DA EXPOSIÇÃO REPETITIVA NA FASE NEONATAL A ESTÍMULO
MECÂNICO DOLOROSO NA HIPERSENSIBILIDADE DE RATOS ADULTOS COM
NEUROPATIA PERIFÉRICA**

ALFENAS/MG

2025

CISSA MARIA RIBEIRO SIQUEIRA

**EFEITOS DA EXPOSIÇÃO REPETITIVA NA FASE NEONATAL A ESTÍMULO
MECÂNICO DOLOROSO NA HIPERSENSIBILIDADE DE RATOS ADULTOS COM
NEUROPATIA PERIFÉRICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Fisioterapia pela Universidade Federal de Alfenas.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Lourenço da Silva

ALFENAS/MG

2025

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Unidade Educacional Santa Clara

Siqueira, Cissa Maria Ribeiro.

Efeitos da exposição repetitiva na fase neonatal a estímulo mecânico doloroso na hipersensibilidade de ratos adultos com neuropatia periférica / Cissa Maria Ribeiro Siqueira. - Alfenas, MG, 2025.

26 f. : il. -

Orientador(a): Marcelo Lourenço da Silva.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Fisioterapia) -
Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2025.

Bibliografia.

1. Dor neonatal. 2. neuropatia periférica. 3. Hipernocicepção. I. Silva, Marcelo Lourenço da, orient. II. Título.

Ficha gerada automaticamente com os dados fornecidos pelo autor.

CISSA MARIA RIBEIRO SIQUEIRA

**EFEITOS DA EXPOSIÇÃO REPETITIVA NA FASE NEONATAL A ESTÍMULO
MECÂNICO DOLOROSO NA HIPERSENSIBILIDADE DE RATOS ADULTOS COM
NEUROPATIA PERIFÉRICA**

O Presidente da banca examinadora abaixo assina a aprovação da Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Fisioterapia pela Universidade Federal de Alfenas.

Aprovada em: 27 de novembro de 2025

Prof. Dr. Marcelo Lourenço da Silva
Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG)

Prof. Dr. Luiz Falconi Sobrinho
Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG)

Me. Natalie Lange Candido
Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG)

AGRADECIMENTOS

Esses cinco anos de graduação em Fisioterapia foram de intenso aprendizado e transformação. Compreendi que cuidar envolve mais do que aplicar as técnicas: é também entender o outro, acolher e estar presente em cada etapa do processo.

Quero agradecer a todos que trilharam esse caminho comigo: à minha família, que sempre me apoiou e fez de tudo para que eu pudesse estar aqui nesses cinco anos; aos meus professores, que foram verdadeiros mestres, transmitindo não só conhecimento, mas também valores, dedicação e amor pela profissão.

Aos amigos que a Fisioterapia me deu, que dividiram comigo risadas, ansiedades, estágios, provas e tantos outros momentos. Juntos, aprendemos que o caminho pode ser difícil, mas fica mais leve quando se tem boas companhias. Aos pacientes, que confiaram em mim mesmo quando eu ainda estava aprendendo. E a Deus, que me sustentou em cada passo, me deu força e me mostrou que tudo tem seu tempo e propósito.

Agradeço também ao Laboratório de Neurociência, Neuromodulação e Estudo da Dor (LANNED), que foi o passo inicial para a construção e o entendimento da pesquisa científica. Sou grata pela imensa troca de experiências e conhecimentos que contribuíram de forma essencial para o meu crescimento pessoal e acadêmico.

E, por fim, à Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG), instituição que foi o alicerce da minha formação profissional e pessoal. Foi dentro dela que vivi experiências transformadoras, construí aprendizados e encontrei pessoas que marcaram profundamente minha trajetória.

Foram anos de desafios, crescimento e descobertas. Hoje, ao olhar para toda essa caminhada, vejo que cada esforço valeu a pena. Levo comigo não apenas um diploma, mas uma missão: cuidar com empatia, tocar com respeito e transformar com amor.

RESUMO

A exposição repetitiva de recém-nascidos a estímulos dolorosos pode afetar o desenvolvimento do sistema somatossensorial desses indivíduos, resultando em alterações na percepção e modulação nociceptiva no período pós-natal. Estudos pré-clínicos demonstraram que ratos expostos a estímulos dolorosos durante a fase neonatal, também apresentaram alterações nos seus limiares nociceptivos quando alcançaram a idade adulta. No entanto, não se sabe se a exposição repetitiva de ratos neonatos a estímulos dolorosos nocivos, pode afetar a dor crônica desencadeada por neuropatia periférica induzida nesses animais durante a fase adulta. O objetivo desse estudo foi investigar se a hiperalgesia desencadeada por neuropatia periférica induzida em ratos durante a vida adulta, é alterada quando esses animais são expostos à estímulos dolorosos repetitivos durante sua fase neonatal. Para isso, ratos *Wistar* machos e fêmeas durante suas duas primeiras semanas de vida foram expostos a estímulos dolorosos por meio de agulhadas (*pinprick*) ou a estímulos táteis inócuos na pata. Após 70 dias do nascimento (idade adulta), esses animais foram submetidos à constrição crônica (CCI) do nervo isquiático na pata traseira direita para a indução da neuropatia periférica, ou CCI-Sham (sem CCI). No dia anterior e após 21 dias da CCI ou CCI-Sham, os animais tiveram seus limiares nociceptivos mecânicos mensurados pelo teste de von Frey. A exposição repetitiva a estímulos mecânicos dolorosos do tipo *pinprick* na fase neonatal não alterou os limiares nociceptivos mecânicos na vida adulta de ratos machos e fêmeas, mesmo após lesão por constrição crônica do nervo isquiático. Embora todos os animais com neuropatia periférica apresentassem redução dos limiares nociceptivos ao longo do tempo (pronocicepção), não houve diferença entre os grupos que receberam ou não o estímulo doloroso neonatal. Esses dados indicam que, em ratos a termo, a dor neonatal não modifica significativamente a hipersensibilidade neuropática na vida adulta, sugerindo que os efeitos da dor precoce dependem do estágio de desenvolvimento do sistema nervoso.

Palavras-chave: dor neonatal; neuropatia periférica; hipernocicepção.

ABSTRACT

Repetitive exposure of neonates to painful stimuli can affect the development of their somatosensory systems, resulting in changes in nociceptive perception and modulation in the postnatal period. Preclinical studies found rats received painful stimuli during the neonatal period also showed changes in their nociceptive thresholds when they reached adulthood. However, the effects of repetitive exposure to painful stimuli in neonatal rats on chronic pain triggered by peripheral neuropathy in these animals during adulthood are still unknown. The aim of this study was to investigate whether hyperalgesia triggered by peripheral neuropathy in adult rats is altered when these animals are exposed to repetitive painful stimuli during the neonatal period. For this, male and female Wistar rats were exposed to painful stimuli through pinprick or innocuous tactile stimuli during its first two weeks of life. Seventy days after birth (adulthood), these animals underwent either chronic constriction (CCI) of the sciatic nerve in the right hind paw to induce peripheral neuropathy, or CCI-Sham (without CCI). On the day before and 21 days after CCI or CCI-Sham, the mechanical nociceptive thresholds of the animals were measured using the von Frey test. Repetitive exposure to mechanical noxious stimuli of the pinprick type during the neonatal period did not alter mechanical nociceptive thresholds in adult male and female rats, even after chronic constriction injury of the sciatic nerve. Although all animals with peripheral neuropathy showed a reduction in nociceptive thresholds over time (pronociception), there was no difference between groups that received or did not receive neonatal noxious stimulation. These data indicate that, in full-term rats, neonatal pain does not significantly modify neuropathic hypersensitivity in adulthood, suggesting that the effects of early pain depend on the developmental stage of the nervous system.

Keywords: neonatal pain; peripheral neuropathy; hipernociception.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Delineamento experimental	18
Figura 2 - Efeitos dos estímulos nocivos dolorosos por meio de <i>pinprick</i> repetitivo (DPN 2–15) na fase neonatal sobre o limiar nociceptivo de retirada de pata mensurada pelo teste de von Frey em ratos adultos machos com neuropatia periférica	19
Figura 3 - Efeitos dos estímulos nocivos dolorosos por meio de <i>pinprick</i> repetitivo (DPN 2–15) na fase neonatal sobre o limiar nociceptivo de retirada de pata mensurada pelo teste de von Frey em ratos adultos fêmeas com neuropatia periférica	20

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Grupos Experimentais	16
---------------------------------------	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

UTIN	Unidade de Terapia Intensiva Neonatal
DPN	Dia pós-natal
CCI	Chronic Constriction Injury (lesão crônica por constrição do nervo isquiático)
Sham	Cirurgia simulada (sem constrição nervosa)
PP	Pinprick (estímulo doloroso mecânico neonatal)
CC	Controle do Pinprick (sem agulhada)
IP	Intraperitoneal ou intramuscular (contexto: via de administração)
CFA	Complete Freund's Adjuvant (adjuvante completo de Freund)
IASP	International Association for the Study of Pain (Associação Internacional para o Estudo da Dor)
E.P.M	Erro padrão da média
LANNED	Laboratório de Neurociência, Neuromodulação e Estudo da Dor

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
1.1	OBJETIVOS.....	13
1.1.1	Objetivo Geral.....	13
1.1.2	Objetivos Específicos.....	13
2	METODOLOGIA.....	13
2.1	ANIMAIS EXPERIMENTAIS.....	13
2.2	HIPERALGESIA INDUZIDA POR ESTÍMULO MECÂNICO.....	14
2.3	AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO MATERNO.....	14
2.4	AVALIAÇÃO DO GANHO DE PESO.....	14
2.5	INDUÇÃO DA NEUROPATIA PERIFÉRICA.....	14
2.6	LIMIAR NOCICEPTIVO MECÂNICO.....	15
2.7	GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	16
2.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	18
3	RESULTADOS.....	18
4	DISCUSSÃO.....	20
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	23
	REFERÊNCIAS.....	25

1 INTRODUÇÃO

A exposição repetitiva de neonatos a procedimentos invasivos que causam dor aguda, como agulhadas no calcanhar e injeções, durante sua permanência em Unidades de Terapia Intensiva Neonatal (UTIN) tem sido mostrado para causar alterações nos limiares nociceptivos desses indivíduos na fase pós-natal (Abdulkader et al., 2008; Hermann et al., 2006; Hohmeister et al., 2009; 2010). Criticamente, na primeira semana de vida um número relevante de procedimentos que envolvem dor é realizado nos recém-nascidos, sejam eles prematuros ou a termo. Porém, somente a partir da década de 90 é que foram observadas as implicações dos estímulos dolorosos aplicados durante o período neonatal (Pinheiro et al., 2015). Além disso, considerando que a incapacidade de verbalização associada à ausência de respostas específicas à dor durante as fases iniciais de vida são fatores críticos para estabelecer padrões para o uso de procedimentos que geram dor, a análise de parâmetros comportamentais e fisiológicos no neonato (Bueno et al., 2014) tornam-se impreteríveis.

Estudos clínicos demonstraram que crianças em idade escolar que nasceram a termo e foram submetidas a procedimentos dolorosos repetidos durante o tratamento em UTIN, apresentaram um aumento nos seus limiares nociceptivos basais (Hermann et al., 2006). De fato, essas experiências nocivas na fase neonatal podem afetar o funcionamento do sistema somatossensorial, uma vez que o sistema nervoso além de estar em processo de desenvolvimento após o nascimento, é plástico frente a mudanças do ambiente interno e externo (Beggs et al., 2002; Walker, 2013). Nesse cenário, estudos pré-clínicos têm analisado as respostas comportamentais nociceptivas de roedores na fase adulta que foram expostos a estímulos dolorosos repetitivos na fase neonatal, afim de compreender melhor a interface entre a alteração a longo prazo da sensibilidade à dor e as experiências precoces de dor neonatal. Evidências demonstraram que ratos adultos após exposição à dor na fase neonatal induzida por diferentes estímulos nocivos, apresentaram alterações nos seus limiares nociceptivos (de Carvalho et al., 2019; Ren et al., 2004; Ruda et al., 2000). Injeções únicas de substâncias inflamatórias, como adjuvante completo de Freund (CFA) ou carragenina, na pata traseira de ratos neonatais resultaram em aumentos e diminuições nos limiares nociceptivos basais na vida adulta (Ren et al., 2004; Ruda et al., 2000). Além disso, um estudo recente

realizado por Carvalho et al. (2019) demonstrou que animais neonatos submetidos ao *pinprick*, um método animal alusivo a situações na UTIN que induzem dor em neonatos, utilizado para investigar os efeitos a longo prazo da dor repetitiva, apresentaram na fase adulta, uma diminuição na latência de retirada e um aumento de lambidas na pata, respectivamente, a infusão intraplantar de CFA e formalina. Além disso, esses últimos autores, demonstraram que ratos fêmeas adultas submetidas ao *pinprick* durante o período neonatal, foram mais sensíveis ao teste de formalina quando comparado aos ratos machos submetidos as mesmas condições. Embora esses últimos estudos demonstrem que o estímulo repetitivo doloroso na fase neonatal altera a hipersensibilidade inflamatória na fase adulta de ratos, há uma falta de trabalhos demonstrando se a dor neonatal pode estar relacionada a um aumento na percepção da dor crônica em ratos adultos com neuropatia periférica por constrição do nervo isquiático.

A dor crônica de origem neuropática, que é uma resposta nociceptiva sabidamente causada por uma lesão ou uma doença que afeta o sistema somatossensorial (IASP, 2019), é caracterizada por sensações anormais desagradáveis (disestesia), hiperalgesia e dor em resposta a estímulos inócuos (alodinia) (Baron, 2006; Jaggi et al., 2011). De fato, em alguns indivíduos com dor neuropática, estímulos normalmente inofensivos, como toque leve, também são percebidos como dolorosos.

Sabe-se que das dores crônicas, a dor neuropática é responsável por uma grande parte da demanda aos serviços de saúde e, embora a sua prevalência exata permaneça desconhecida, estudos epidemiológicos estimam que esse tipo de dor crônica afete cerca de 7 a 10% da população mundial (Bouhassira et al., 2008; Colloca et al., 2017). No Brasil, os dados epidemiológicos apontam para uma incidência ainda maior de indivíduos com dor neuropática, cerca de 14,5% da população (Uddal et al., 2019). Nesse cenário, há um aumento exponencial de estudos experimentais investigando a intrincada fisiopatologia envolvida nas alterações nociceptivas implicadas na neuropatia periférica. Contudo, ainda é desconhecido se a percepção da dor crônica de origem neuropática em ratos adultos submetidos à lesão por constrição crônica (CCI, sigla do inglês *Chronic Constriction Injury*) do nervo isquiático, um modelo clássico usado para induzir dor neuropática (Bennett e Xie, 1988), pode ser alterada pela exposição ao *pinprick* repetitivo aplicado durante a fase neonatal.

Além disso, embora se saiba que a dor crônica é mais prevalente em mulheres do que em homens, o número de publicações utilizando animais fêmeas ainda permanece reduzido. Em um esforço para corrigir esse desequilíbrio e também investigar se a interface dor neonatal e tardia pode variar conforme o sexo, nós comparamos as respostas nociceptivas entre ratos machos e fêmeas com dor neuropática que foram expostos ao *pinprick* repetitivo durante a fase neonatal.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos da exposição repetitiva na fase neonatal a estímulo mecânico doloroso sobre a hipersensibilidade de ratos adultos com neuropatia periférica

1.1.2 Objetivos específicos

Analisar as respostas nociceptivas de ratos adultos machos e fêmeas submetidos a CCI ou CCI Sham que foram expostos na fase neonatal a estímulos dolorosos repetitivos induzido por *pinprick* ou a estímulos táteis inócuos.

2 METODOLOGIA

2.1. ANIMAIS EXPERIMENTAIS

Foram utilizados ratos e ratas *Wistar* a partir de 8 semanas de vida, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Alfnas e mantidos no biotério do Laboratório de Neurociência, Neuromodulação e Estudo da Dor (LANNED). Para o acasalamento, os animais (2 fêmeas e 1 macho) foram alojados em caixas de polipropileno adequadas à manutenção, tratados com ração comercial e água com livre acesso e mantidos em sala climatizada a 22 ± 1 °C em ciclo 12 horas claro-escuro. As ratas deram à luz no 21º dia de gestação. O dia do parto foi considerado como dia pós-natal 0 (DPN 0). No DPN1, após 24h do nascimento, as

ninhadas foram padronizadas em quatro fêmeas e quatro machos. Todos os procedimentos experimentais foram previamente encaminhados para aprovação da Comissão de Ética no uso em Animais da Universidade Federal de Alfenas (Processo: 0021/2023).

2.2 HIPERALGESIA INDUZIDA POR ESTÍMULO MECÂNICO

Do segundo dia até o décimo quinto dia pós natal (DPN2 á DPN15), os neonatos receberam o estímulo nocivo doloroso por meio do método *pinprick*, que consiste em induzir a dor por meio de uma agulhada (ponta de agulha-22G), a qual foi aplicada na região central da planta da pata com força suficiente para recuar a pele sem perfurá-la. O estímulo nocivo doloroso foi aplicado em duas séries de cinco repetições com intervalos de 10 segundos entre cada repetição e 2 min entre cada série (Hogan et al., 2004).

2.3 AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO MATERNO

As observações dos comportamentos maternos foram realizadas do segundo dia pós-natal ao décimo quinto dia pós-natal, durante o período matutino, antes dos filhotes serem submetidos ao *pinprick*. Foram observados os seguintes comportamentos: posição de cifose, posição passiva, sobre a ninhada, lambendo os filhotes, *self-grooming* maternal (estimulação das mamas através de auto- limpeza), fora do ninho alimentando, fora do ninho explorando e fora do ninho não explorando. As observações foram feitas a cada 3 minutos totalizando 50 observações diárias (Costa et al., 2013; Vilela et al., 2013).

2.4 AVALIAÇÃO DO GANHO DE PESO

O ganho de peso da ninhada foi verificado durante o período de lactação. Após a análise do comportamento materno e antes do isolamento neonatal, cada ninhada foi pesada e os pesos foram anotados diariamente para posterior análise.

2.5 INDUÇÃO DA NEUROPATIA PERIFÉRICA

A neuropatia periférica foi induzida por meio da lesão por constrição crônica (CCI) do nervo isquiático, a qual foi desenvolvida originalmente por Bennett e Xie, 1988. O modelo da CCI, consiste na realização de quatro ligaduras do nervo isquiático. Essa ligadura provoca um edema intraneural, isquemia focal e degeneração axonal. Como consequência, o modelo resulta em alodinia mecânica. Contudo, o modelo utilizado para induzir a neuropatia experimental será uma adaptação do modelo acima citado (Medeiros et al., 2020), no qual a lesão neuropática é realizada com uma simples ligadura do nervo isquiático, antes de sua ramificação.

Para a realização da CCI, os animais foram anestesiados através da administração por via intramuscular (IP) de uma solução na proporção de 0,1 ml de cetamina (92mg/kg) (Ketamina®) para 0,2ml de xilasina (9,2mg/kg) (Dopaser®). Então, foi realizada tricotomia da pata direita e a desinfecção local com iodopolividina. Em seguida, uma incisão longitudinal de 15 mm na altura da coxa, região dorso-lateral, em nível de trocânter/fêmur, no membro posterior direito, foi realizada. O nervo isquiático foi exposto através da dissecação dos músculos glúteo e bíceps femoral, seguida da ligadura com fio Cat-gut 4-0 no nervo isquiático da pata direita. As incisões na pele foram suturadas com o fio mononylon 5-0. Em seguida, a água oxigenada foi utilizada no membro posterior direito do roedor. O grupo controle “falso operado” (CCI Sham) foi submetido a todos os procedimentos cirúrgicos; entretanto, apenas com a exposição do nervo isquiático, mas sem a sua ligadura (sem a CCI).

2.6 LIMIAR NOCICEPTIVO MECÂNICO

Os testes nociceptivos foram realizados tanto em machos quanto em fêmeas a termo. Em particular, nas fêmeas foram realizados os esfregaços do lavado vaginal de cada uma delas, afim de verificar qual fase do ciclo estral que cada uma se encontrava, uma vez que, o estrogênio pode interferir na nocicepção.

Para a avaliação do limiar nociceptivo mecânico dos animais na vida adulta foi utilizado o von Frey eletrônico (North Coast Medical, Inc., Morgan Hill, CA). Os animais foram acondicionados em caixas de acrílico com a face dianteira transparente sobre uma tela de arame, proporcionando acesso às patas do animal. Após a ambientação dos animais por 15 minutos, a aplicação do estímulo mecânico

foi realizada de forma controlada pelo von Frey eletrônico, que registra automaticamente a força necessária para provocar a retirada da pata (comportamento nociceptivo). Cada pata foi testada em pelo menos seis avaliações, com intervalos de dez segundos entre elas, permitindo a determinação precisa do limiar mecânico. O equipamento ajusta a força do estímulo de forma contínua. Para as fêmeas será monitorado o ciclo para o teste ser realizado apenas no dia do diestro.

2.7 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os animais foram divididos em 8 grupos compostos por 8 animais, como descrito abaixo:

Quadro 1- Grupos experimentais

GRUPOS	METODOLOGIA
GRUPO 1	MACHOS A TERMO + CC + CCI SHAM
GRUPO 2	MACHOS A TERMO + CC + CCI
GRUPO 3	MACHOS A TERMO + PP + CCI SHAM
GRUPO 4	MACHOS A TERMO + PP + CCI
GRUPO 5	FÊMEAS A TERMO + CC + CCI SHAM
GRUPO 6	FÊMEAS A TERMO + CC + CCI
GRUPO 7	FÊMEAS A TERMO + PP + CCI SHAM
GRUPO 8	FÊMEAS A TERMO + PP + CCI

Fonte: A autora (2025).

Legenda:

CC - Controle do Pinprick (sem agulhada);

PP - Pinprick (estímulo doloroso mecânico neonatal);

CCI – *Chronic Constriction Injury* (lesão crônica por constrição do nervo isquiático);

Sham – cirurgia simulada (sem constrição nervosa);

2.7.1 Protocolo experimental: Estudo dos efeitos da exposição repetitiva na fase neonatal a estímulo mecânico doloroso sobre a hipersensibilidade de

ratos adultos machos e fêmeas com neuropatia periférica

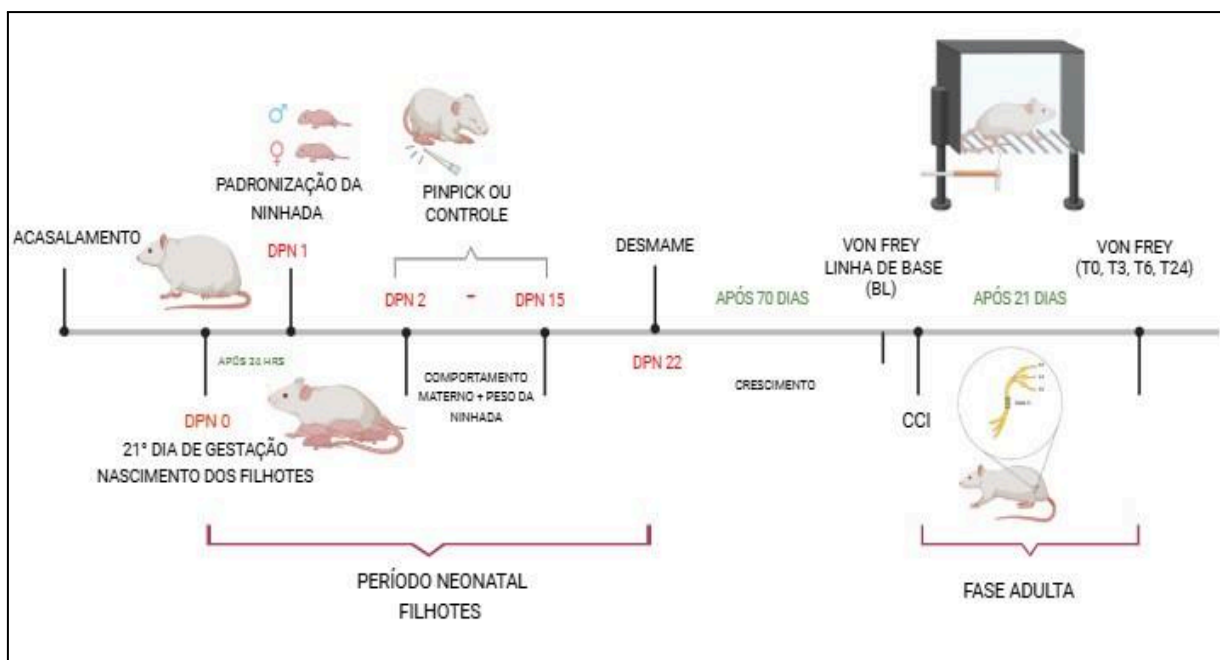
O presente protocolo teve como objetivo investigar a influência da exposição repetitiva na fase neonatal a estímulo mecânico doloroso sobre a hipersensibilidade na dor neuropática induzida na fase adulta. Para isso, ratos machos e fêmeas nascidos a termo foram submetidos aos estímulos nociceptivos por meio do método *pinprick* repetitivo ou táteis inócuos durante o período neonatal. Após padronização da ninhada no DPN2, as ninhadas foram submetidas ao *pinprick* diariamente até completarem DPN15, enquanto os animais do grupo controle receberam estímulos táteis inócuos, servindo como referência para o desenvolvimento normal. Os estímulos foram realizados no período da manhã, entre 9h30 e 10h30, sob condições ambientais controladas.

As ninhadas foram desmamadas no DPN22 e mantidas no biotério até atingirem a idade adulta (a partir de 70 dias de vida). As fêmeas foram separadas dos machos após duas semanas do desmame. O acasalamento das matrizes foi realizado de forma intercalada, mês sim e mês não, a fim de garantir o nascimento contínuo de filhotes para os protocolos experimentais subsequentes.

Na fase adulta, os animais provenientes das ninhadas previamente submetidas ou não ao estímulo nociceptivo neonatal foram divididos em grupos e submetidos à lesão do nervo isquiático pelo modelo de constrição crônica (CCI) para indução da neuropatia periférica. Após a cirurgia, os animais foram mantidos individualmente em caixas de recuperação por 21 dias. Em seguida, foram avaliados quanto à hipersensibilidade mecânica por meio do teste de von Frey eletrônico, permitindo determinar se a exposição neonatal à dor influenciou a resposta nociceptiva desencadeada pela lesão nervosa.

Dessa forma, o protocolo permitiu analisar, de maneira controlada, os efeitos de uma experiência dolorosa precoce sobre a modulação da dor neuropática na vida adulta, considerando tanto as diferenças relacionadas ao sexo quanto à maturidade sensorial ao nascimento.

Figura 1: Delineamento experimental



Fonte: A autora (2025)

2.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos nos testes nociceptivos foram expressos como média \pm erro padrão da média e analisados pelo *mixed model statistic*, seguido pelo teste pós-hoc de Tukey. $P \leq 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo em todas as análises.

3 RESULTADOS

3.1. Efeitos da exposição repetitiva na fase neonatal a estímulo mecânico doloroso sobre a hipersensibilidade de ratos adultos machos com neuropatia periférica

De acordo com a análise de efeitos mistos (*mixed effects*) seguida do teste pós-hoc de Tukey, houve diferença no tempo ($F_{4,28} = 60,57$; $p < 0,001$), mas não houve diferença nem no estímulo de dor neonatal ($F_{3,21} = 1.236$; $p > 0,05$), e nem na interação entre eles ($F_{12,83} = 0,6987$; $p > 0,05$) sobre o limiar nociceptivo de ratos machos com neuropatia periférica. O teste de pós-hoc de Tukey mostrou que todos

os animais apresentaram uma diminuição no limiar nociceptivo (pronocicepção) ao longo do tempo quando comparado com suas respectivas linhas de base ($p < 0,05$ em todos os casos). Porém, não houve diferença no limiar nociceptivo entre os grupos de animais ($p > 0,05$ em todos os casos).

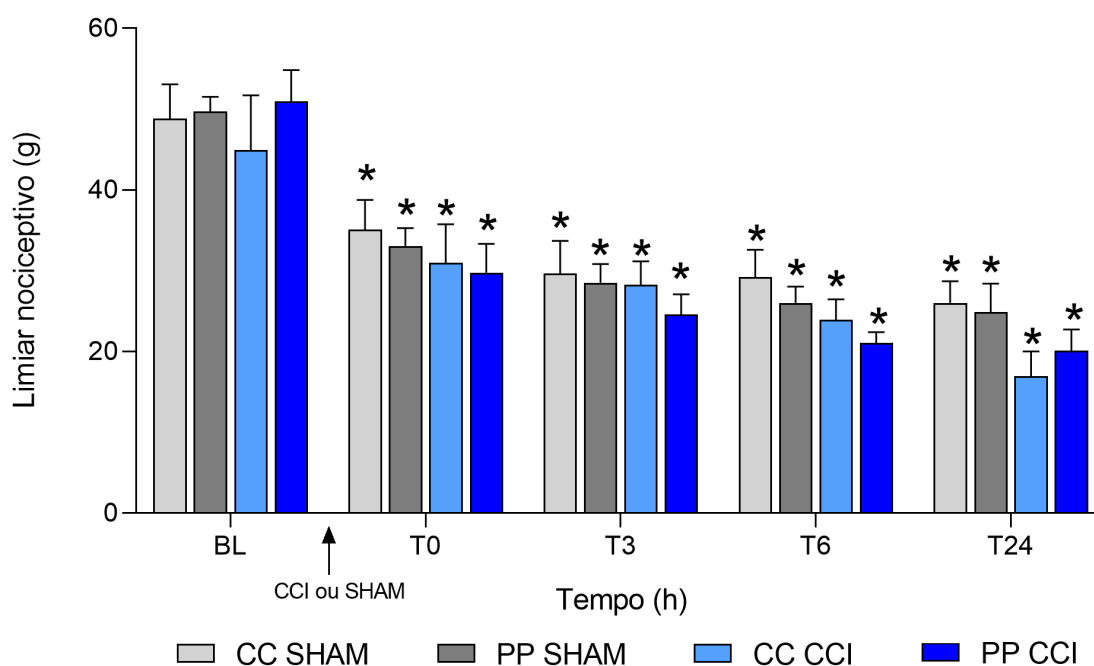


Figura 2. Efeitos dos estímulos nocivos dolorosos por meio de *pinprick* repetitivo (DPN 2–15) na fase neonatal sobre o limiar nociceptivo de retirada de pata mensurada pelo teste de von Frey em ratos adultos machos com neuropatia periférica. As barras representam a média \pm E.P.M; $n = 8$ por grupo; * $p < 0,05$ comparado com suas respectivas linhas de base, de acordo com o teste de efeitos mistos (*mixed effects*), seguido pelo pós-hoc de Tukey.

3.2. Efeitos da exposição repetitiva na fase neonatal a estímulo mecânico doloroso sobre a hipersensibilidade de ratos adultos fêmeas com neuropatia periférica

De acordo com a análise de efeitos misto (*mixed effects*) seguida do teste pós-hoc de Tukey, houve diferença no tempo ($F_{4,28} = 21,93$; $p < 0,001$), mas não houve diferença nem no estímulo de dor neonatal ($F_{3,21} = 0,8878$; $p > 0,05$), e nem na

interação entre eles ($F_{12,83} = 0,5109$; $p > 0,05$) sobre o limiar nociceptivo de ratos fêmeas, com neuropatia periférica. O teste de pós-hoc de Tukey mostrou que todos os animais apresentaram uma diminuição no limiar nociceptivo (pronocicepção) ao longo do tempo quando comparado com suas respectivas linhas de base ($p < 0,05$ em todos os casos). Porém, não houve diferença no limiar nociceptivo entre os grupos de animais ($p > 0,05$ em todos os casos).

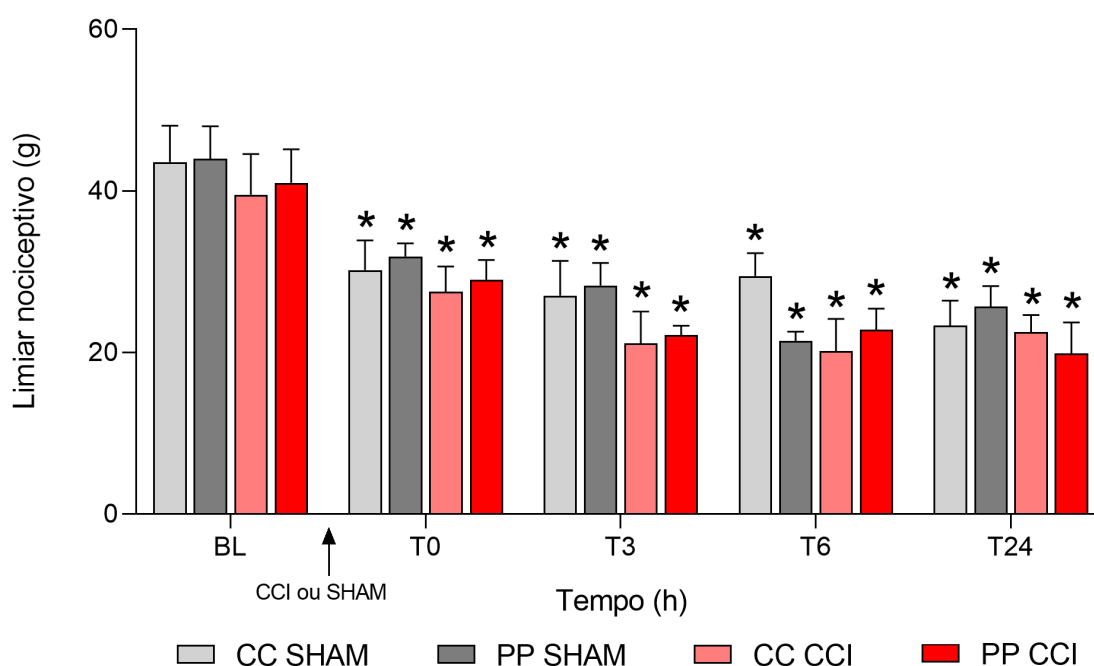


Figura 3. Efeitos dos estímulos nocivos dolorosos por meio de *pinprick* repetitivo (DPN 2–15) na fase neonatal sobre o limiar nociceptivo de retirada de pata mensurada pelo teste de von Frey em ratos adultos fêmeas com neuropatia periférica. As barras representam a média \pm E.P.M; $n = 8$ por grupo; * $p < 0,05$ comparado com suas respectivas linhas de base, de acordo com o teste de efeitos mistos (*mixed effects*), seguido pelo pós-hoc de Tukey.

4 DISCUSSÃO

O presente estudo investigou se a exposição repetitiva a estímulos mecânicos dolorosos durante a fase neonatal é capaz de alterar a hipersensibilidade à dor neuropática na vida adulta de ratos machos e fêmeas submetidos à lesão por constrição crônica (CCI) do nervo isquiático. De modo geral, observou-se que tanto

machos quanto fêmeas desenvolveram hipernocicepção após a CCI, confirmando a eficácia do modelo neuropático. No entanto, a exposição prévia ao estímulo doloroso repetitivo (pinprick) na fase neonatal não modificou significativamente os limiares nociceptivos desses animais na vida adulta, em comparação aos controles submetidos apenas à CCI. Esses achados indicam que, nas condições avaliadas, a experiência dolorosa precoce não alterou a magnitude da hipersensibilidade neuropática em ratos adultos.

Os resultados sugerem que a experiência dolorosa neonatal modula seletivamente respostas nociceptivas futuras, dependendo do tipo de estímulo (inflamatório ou neuropático) e do estágio de maturação neural. Nesse contexto, os animais previamente expostos ao pinprick neonatal apresentavam limiares mecânicos equivalentes aos controles, indicando que a dor neonatal não produziu uma hipersensibilidade persistente em condições basais.

Quando esses mesmos animais foram submetidos, já adultos, a estímulos inflamatórios, observou-se uma resposta mais intensa e duradoura nos indivíduos que haviam recebido o pinprick neonatal. Houve maior redução do limiar mecânico e aumento do tempo de comportamentos de dor, como lambe ou levantar a pata. Em alguns casos, fêmeas apresentaram respostas mais acentuadas, sugerindo influência de fatores hormonais na modulação da dor. A ausência de efeito sobre a dor neuropática no presente estudo reforça a hipótese de que os mecanismos de sensibilização periférica e central envolvidos na neuropatia são distintos daqueles ativados em modelos inflamatórios, envolvendo vias neuronais e neuroquímicas específicas.

Evidências pré-clínicas indicam que a exposição neonatal à dor pode induzir modificações estruturais e funcionais no sistema somatossensorial, especialmente na medula espinal dorsal e nas vias ascendentes da dor. Ruda et al. (2000) demonstraram que inflamações periféricas neonatais provocam reorganização sináptica nos neurônios do corno dorsal, aumentando arborização e excitabilidade neuronal. De modo semelhante, Ren et al. (2004) observaram que inflamações locais no período neonatal podem causar alterações persistentes na resposta à reinflamação na vida adulta, caracterizando uma forma de “memória nociceptiva” dependente de plasticidade neural. No entanto, a natureza e a duração do estímulo

nocivo parecem determinantes cruciais: enquanto insultos inflamatórios prolongados induzem reorganizações duradouras, estímulos breves e discretos, como o pinprick, podem não ser suficientes para gerar sensibilização de longa duração.

Os dados de de Carvalho et al. (2019) complementam essa interpretação, mostrando que a exposição neonatal repetitiva ao pinprick aumenta a hipersensibilidade mecânica em modelos inflamatórios, mas não altera a nocicepção basal em adultos. Em conjunto, esses resultados e os do presente trabalho reforçam a ideia de que a dor neonatal pode modular de forma seletiva respostas nociceptivas futuras, dependendo do tipo de estímulo doloroso subsequente e dos circuitos neurais recrutados. Enquanto os estímulos inflamatórios ativam predominantemente mecanismos imunes e gliais periféricos, a neuropatia envolve lesão direta de fibras aferentes primárias, o que pode mascarar ou anular possíveis efeitos residuais da exposição neonatal à dor.

Outro aspecto relevante observado foi a ausência de diferenças entre machos e fêmeas quanto à magnitude da hipersensibilidade neuropática ou à influência da dor neonatal prévia. Embora a literatura indique que a prevalência de dor crônica e neuropática é maior em mulheres (Bartley & Fillingim, 2013), estudos experimentais mostram que a resposta ao pinprick neonatal pode variar com o sexo. De Carvalho et al. (2019) relataram que fêmeas adultas expostas ao pinprick neonatal apresentaram respostas mais intensas ao teste de formalina, sugerindo efeito modulador dos hormônios sexuais na nocicepção inflamatória. No entanto, no contexto neuropático, a ausência de diferenças observadas aqui pode estar relacionada ao controle hormonal das fêmeas, testadas apenas durante o diestro, reduzindo a interferência do estrogênio. Assim, a influência do sexo parece depender tanto do tipo de dor quanto do momento hormonal em que o animal é avaliado.

Além disso, é relevante destacar que os estudos de Carvalho et al. (2019) foram realizados em ratos prematuros, enquanto o presente trabalho utilizou ratos a termo. Em animais prematuros, o sistema nociceptivo e as vias descendentes inibitórias ainda estão em desenvolvimento, o que os torna mais vulneráveis à sensibilização persistente. Já em ratos a termo, o sistema de modulação da dor é mais funcional, o que pode atenuar ou compensar os efeitos de estímulos neonatais

breves, explicando por que o pinprick neonatal não alterou a resposta neuropática em nosso modelo.

Do ponto de vista fisiopatológico, a ausência de efeito da dor neonatal sobre a hipersensibilidade neuropática pode refletir uma adaptação compensatória do sistema nervoso em desenvolvimento, que busca preservar a integridade funcional das vias nociceptivas. Durante o período pós-natal ocorre intensa remodelação sináptica e mielinização das fibras aferentes, permitindo a recuperação de perturbações induzidas por estímulos transitórios. Além disso, a exposição repetitiva, mas de curta duração, pode ter ativado mecanismos endógenos de analgesia ou tolerância, reduzindo a sensibilização central que normalmente se observaria após uma lesão prolongada.

Algumas limitações metodológicas devem ser consideradas. O uso de apenas uma intensidade e frequência do estímulo pinprick pode ter restringido a detecção de alterações mais sutis. Além disso, a análise se restringiu ao limiar mecânico avaliado pelo teste de von Frey, sem explorar outras modalidades sensoriais (térmica ou química) ou marcadores moleculares de plasticidade neural. Estudos futuros poderiam investigar diferentes intensidades de estímulos neonatais, associando análises histológicas e bioquímicas para revelar alterações em circuitos espinotalâmicos e corticais da dor neuropática.

Em síntese, os resultados do presente trabalho indicam que a exposição repetitiva a estímulos mecânicos dolorosos na fase neonatal não altera a hipersensibilidade neuropática na vida adulta, embora evidências anteriores sugiram que esse tipo de manipulação possa potencializar respostas inflamatórias. Esses achados contribuem para o entendimento da interação entre dor precoce e dor crônica, sugerindo que a memória nociceptiva gerada por experiências neonatais é específica ao tipo de estímulo doloroso subsequente e ressaltam a importância de considerar as diferenças entre mecanismos inflamatórios e neuropáticos na modulação nociceptiva.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo investigou os efeitos da exposição repetitiva a estímulos mecânicos dolorosos durante a fase neonatal sobre a hipersensibilidade neuropática na vida adulta de ratos machos e fêmeas. Os resultados demonstraram que, embora a lesão por constrição crônica (CCI) do nervo isquiático tenha produzido hipernocicepção em todos os grupos, a exposição neonatal ao estímulo doloroso do tipo pinprick não alterou significativamente os limiares nociceptivos na vida adulta, indicando que, nas condições avaliadas, a dor neonatal não modificou a magnitude da hipersensibilidade neuropática.

A ausência de efeito observado em ratos a termo difere parcialmente dos achados de de Carvalho et al. (2019), que, utilizando modelos de pinprick neonatal em ratos prematuros, relataram aumento da hipersensibilidade inflamatória em adultos, especialmente em fêmeas. Essa diferença reforça a importância do estágio de maturação do sistema nervoso na determinação das consequências da dor precoce. Enquanto o sistema nociceptivo imaturo de animais prematuros é mais vulnerável à sensibilização, o sistema já mais desenvolvido de ratos a termo pode ativar mecanismos compensatórios de plasticidade e analgesia endógena que atenuam efeitos duradouros.

Por fim, embora o modelo empregado tenha se mostrado eficaz para induzir dor neuropática, estudos futuros devem incluir diferentes intensidades de estímulos neonatais, múltiplas modalidades nociceptivas e marcadores moleculares de plasticidade, além de avaliar a influência do sexo e da maturação neonatal.

Em síntese, conclui-se que a exposição repetitiva a estímulos mecânicos dolorosos na fase neonatal não altera a hipersensibilidade neuropática na vida adulta de ratos a termo, mas, conforme sugerido por outros estudos, pode aumentar a vulnerabilidade a respostas inflamatórias em condições de imaturidade neural. Esses resultados mostram que a dor precoce influencia a dor crônica de forma específica, dependendo do tipo de estímulo e do estágio de desenvolvimento do sistema nervoso.

REFERÊNCIAS

- ABDULKADER, H.M.; FREER, Y.; GARRY, E.M.; FLEETWOOD-WALKER, S.M.; MCINTOSH, N. **Prematurity and neonatal noxious events exert lasting effects on infant pain behaviour.** *Early Human Development*, v. 84, p. 351–355, 2008.
- BARON, R. **Mechanisms of disease: neuropathic pain—a clinical perspective.** *Nature Clinical Practice Neurology*, v. 2, n. 2, p. 95–106, 2006.
- BARTLEY, E.J.; FILLINGIM, R.B. **Sex differences in pain: a brief review of clinical and experimental findings.** *British Journal of Anaesthesia*, v. 111, n. 1, p. 52–58, 2013.
- BEGGS, S.; TORSNEY, C.; DREW, L.J.; FITZGERALD, M. **The postnatal reorganization of primary afferent input and dorsal horn cell receptive fields in the rat spinal cord is an activity-dependent process.** *European Journal of Neuroscience*, v. 16, p. 1249–1258, 2002.
- 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. 87–107, 1988.
- BOUHASSIRA, D.; LANCRIN, M.; GUYOT, M.; MORSE, C.; MERCADIER, B.; BOUHASSIRA, M. **Prevalence of chronic pain with neuropathic characteristics in the general population.** *Pain*, v. 136, p. 380–387, 2008.
- BUENO, M. et al. **Neonatal pain assessment program II: an innovative strategy to increase knowledge translation.** *Rev Dor*, v.15, n. 2, p. 152-5, 2014.
- COLLOCA, L. et al. **Neuropathic pain.** *Nat Rev Dis Primers.*, v.16, p.1700-12, 2017.
- DE CARVALHO, R.C.; PRADO, L.; RISSARDO OLIVEIRA, N.C.; VILELA GIUSTI, F.C.; SANTOS VIEIRA, J.; GIUSTI-PAIVA, A.; DA SILVA, J.R.T.; DA SILVA, M.L. **Repeated neonatal needle-prick stimulation increases inflammatory mechanical hypersensitivity in adult rats.** *International Journal of Developmental Neuroscience*, v. 78, p. 191–197, nov. 2019.
- HERMANN, C.; HOHMEISTER, J.; DEMIRAKCA, S.; ZOHSEL, K.; FLOR, H.

Long-term alteration of pain sensitivity in school-aged children with early pain experiences. *Pain*, v. 125, p. 278–285, 2006.

HOHMEISTER, J.; DEMIRAKCA, S.; ZOHSEL, K.; FLOR, H.; HERMANN, C. **Responses to pain in school-aged children with experience in a neonatal intensive care unit: cognitive aspects and maternal influences.** *European Journal of Pain*, v. 13, p. 94–101, 2009.

HOHMEISTER, J.; KROLL, A.; WOLLGARTEN-HADAMEK, I.; ZOHSEL, K.; DEMIRAKCA, S.; FLOR, H.; HERMANN, C. **Cerebral processing of pain in school-aged children with neonatal nociceptive input: an exploratory fMRI study.** *Pain*, v. 150, p. 257–267, 2010.

I.A.S.P. IASP Terminology. [s. l.], 2019. Disponível em: <https://www.iasp-pain.org/resources/terminology/>. Acesso em: 15 out. 2025.

JAGGI, A.S.; GUPTA, A.; BALDWIN, R. **Experimental models of neuropathic pain.** *Fundamental & Clinical Pharmacology*, v. 25, p. 1–30, 2011.

PINHEIRO, I. O. et al. **Pain evaluation in newborns using the neonatal facial activity coding scale during blood gases analysis.** *Rev Dor*, v. 16, n. 3, p.176-80, 2015.

REN, K.; ANSELONI, V.; ZOU, S.P.; WADE, E.B.; NOVIKOVA, S.I.; ENNIS, M.; TRAUB, R.J.; LIDOW, M.S.; DUBNER, R.; LIDOW, M.S. **Characterization of basal and re-inflammation-associated long-term alteration in pain responsivity following short-lasting neonatal local inflammatory insult.** *Pain*, v. 110, p. 588–596, 2004.

RUDA, M.A.; LING, Q.D.; HOHMANN, A.G.; PENG, Y.B.; TACHIBANA, T. **Altered nociceptive neuronal circuits after neonatal peripheral inflammation.** *Science*, v. 289, p. 628–631, 2000.

WALKER, S.M. **Neonatal pain.** *Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain*, v. 13, p. 128–132, 2013.