



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
DOUTORADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

ISABELA AZEVEDO FREIRE SANTOS

**INFLUÊNCIA DA ESTIMULAÇÃO TÁTIL NOCIVA E DO USO DA
SACAROSE INTRA-ORAL NO DESENVOLVIMENTO SENSORIO-MOTOR
EM MODELO EXPERIMENTAL DE DOR NEONATAL**

ARACAJU

2018

	<p>ISABELA AZEVEDO INFLUÊNCIA DA ESTIMULAÇÃO TÁTIL NOCIVA E DO USO DA</p> <p>FREIRE SANTOS SACAROSE INTRA-ORAL NO DESENVOLVIMENTO SENSORIO-</p> <p>MOTOR EM MODELO EXPERIMENTAL DE DOR NEONATAL</p> <p>2018</p>
--	---

ISABELA AZEVEDO FREIRE SANTOS

**INFLUÊNCIA DA ESTIMULAÇÃO TÁTIL NOCIVA E DO USO DA
SACAROSE INTRA-ORAL NO DESENVOLVIMENTO SENSORIO-MOTOR
EM MODELO EXPERIMENTAL DE DOR NEONATAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciências da Saúde da Universidade Federal de
Sergipe como requisito parcial à obtenção do grau
de Doutora em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Josimari Melo
DeSantana

Co-orientador: Prof. Dr. Leandro Marques de
Souza

**ARACAJU
2018**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA BISAU
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

Santos, Isabela Azevedo Freire

S237i Influência da estimulação tátil nociva e do uso da sacarose intra-oral no desenvolvimento sensório-motor em modelo experimental de dor neonatal / Isabela Azevedo Freire Santos; orientadora Josimari Melo de Santana. – Aracaju, 2018.

79 f.: il.

Tese (doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Sergipe, 2018.

1. Dor. 2. Recém-nascidos. 3. Crianças – Desenvolvimento. 4. Sacarose. I. Santana, Josimari Melo de, orient. II. Título.

CDU 61

ISABELA AZEVEDO FREIRE SANTOS

**INFLUÊNCIA DA ESTIMULAÇÃO TÁTIL NOCIVA E DO USO DA
SACAROSE INTRA-ORAL NO DESENVOLVIMENTO SENSORIO-MOTOR
EM MODELO EXPERIMENTAL DE DOR NEONATAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial à obtenção do grau de Doutora em Ciências da Saúde.

Aprovada em: ____/____/____

Prof.^a Dr.^a Luciana Sayuri Sanada

Prof.^a Dr.^a Karina Laurenti Sato

Prof. Dr. Vitor Ulisses de Melo

Prof. Dr. Valter Joviniano de Santana Filho

Prof.^a. Dr.^a. Josimari Melo de Santana

PARECER

Dedico esta tese à minha tia, Margareth Rangel
(*in memoriam*), por seu exemplo de dedicação e
amor no cuidado de neonatos e crianças.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, à força maior que nos guia, protege e ampara. Gratidão à Nossa Senhora pela luz, força e amparo constantes nessa longa jornada e aos Amigos Espirituais, em especial Eugênia-Aspásia e Matheus-Anacleto, que nos acompanham a todo momento e nos permitem viver experiências repletas de aprendizado.

Ao líder espiritual Benjamin Teixeira de Aguiar pelo exemplo de disciplina, dedicação, de fé e pelo estímulo à concretização dos nossos objetivos a serviço do bem, através da docência e da ciência.

Agradeço à minha orientadora, Prof^a. Dr^a Josimari Melo de Santana, pela atenção, dedicação, confiança e companheirismo proporcionados em momentos ímpares ao longo destes 8 anos em que faço parte do LAPENE. Obrigada por cada oportunidade, ensinamento, partilhas de experiências profissionais e do dia-a-dia, e, principalmente, por me inspirar a dedicação à ciência e à carreira acadêmica.

À toda equipe de colegas do LAPENE que me auxiliaram direta ou indiretamente na conclusão desta etapa. Agradeço, em especial, à Jéssica Medeiros, Michelly Cardoso e Thiago Abner pelo auxílio na execução da pesquisa, desde a elaboração do projeto até a sua fase final.

Aos professores, alunos e colegas de trabalho que, com palavras de incentivo e simples gestos de carinho e estímulo, me ajudaram a vencer as resistências e dificuldades desta jornada.

Aos meus amigos, em especial os que compõem o Instituto Salto Quântico (ISQ) e os da época da faculdade (POCANs) que me proporcionaram momentos de boas risadas, de reforço à fé e de consolidação do conceito de amizade em momentos de maior dificuldade ao longo destes 4 anos.

À minha amiga-irmã Juliana Góes, pelo apoio constante, pela cooperação científica e pelos bons momentos que vivemos nestes 4 anos. O companheirismo, as conversas sinceras e esclarecedoras, os instantes de alegria, trabalho e lazer foram fundamentais para que eu conseguisse chegar aqui hoje. Muito obrigada!

À minha filha de quatro patas, Chanel, pela fidelidade e carinho constantes, ao ficar deitada aos meus pés nas longas noites de trabalho em frente ao computador.

Ao meu filho pelos laços do coração, Miguel, pelo carinho, pelas brincadeiras que me ajudavam a desviar o foco do trabalho e pelo sorriso sincero de criança que me restabeleceu nos momentos de maior cansaço.

Ao meu amado Thiago Abner, que me acompanha mais timidamente desde a época da faculdade e de forma mais intensa nestes últimos anos. A sua atenção, as suas broncas, o seu apoio, enfim, o seu amor me fez mais forte e capaz de chegar até o fim. Amo você eternamente!

Por último, mas não menos importante, gostaria de agradecer àquela que foi sempre a principal incentivadora do meu trabalho: a minha família. Às pessoas ligadas não só pelo sangue, mas também pelo coração, que incondicionalmente estiveram ao meu lado, que vibraram a cada vitória e que sempre me ensinaram a persistir a fim de alcançar um ideal, o meu agradecimento repleto de amor. Muito obrigada a todos!

A dor construtiva não está na decepção, na desgraça, na frustração ou na miséria, mas sim na força que se faz para se levantar, no esforço que se aplica para se encontrar motivação, energia e inspiração para seguir adiante, sorrir e ser feliz.

(Eugênia-Aspásia)

RESUMO

Influência da estimulação tátil nociva e do uso da sacarose intraoral no desenvolvimento sensório-motor em modelo experimental de dor neonatal. Isabela Azevedo Freire Santos. 2018.

Introdução: Recém-nascidos pré-termo são constantemente expostos a procedimentos dolorosos em Unidades de Terapia Intensiva. Apesar disto, as repercussões da dor neonatal em longo prazo e o uso da sacarose como analgésico para dores relacionadas a estes procedimentos são pouco difundidas. **Objetivos:** 1) Realizar síntese dos dados existentes na literatura (revisão sistemática) a respeito dos efeitos da dor neonatal no desenvolvimento motor em longo prazo; 2) Avaliar os efeitos da sacarose nas funções sensitiva e motora em modelo experimental de dor neonatal desde o nascimento à fase adulta. **Método:** 1) Busca sistemática de estudos em quatro bases de dados (PubMed, Scopus, Scielo e LILACS) realizada por dois investigadores através dos descritores “Infant, newborn”, “Infant, premature”, “Pain” e “Motor skills”. Para a avaliação metodológica desses estudos, foi utilizada a Newcastle-Ottawa Assessment Scale (NOS). 2) Estudo experimental realizado em ratos filhotes (n=38; 18 machos e 20 fêmeas) submetidos ao modelo experimental de dor neonatal. Os animais foram divididos em quatro grupos: 1) Estimulação tátil nociva + intervenção com sacarose (n=9; 5 machos e 4 fêmeas); 2) Estimulação tátil nociva + intervenção com morfina (n=9; 5 machos e 4 fêmeas); 3) Estimulação tátil nociva + intervenção com água potável (n=9; 3 machos e 6 fêmeas); 4) Controle (estimulação tátil não-nociva) (n=11; 5 machos e 6 fêmeas). Foram avaliados latência térmica (placa quente), limiar de retirada da pata (filamentos von Frey), força muscular (*grip strenght meter*) e velocidade de deslocamento (monitor de atividades) aos 15, 30, 60 e 90 dias pós-natais. Nos dias 32, 62 e 92, o modelo experimental de dor neonatal foi reinduzido nestes animais, sendo em seguida reavaliadas a latência térmica e limiar de retirada da pata. **Resultados:** 1) Onze artigos foram encontrados, porém após aplicação dos critérios de exclusão, apenas dois artigos foram selecionados. Foram observados baixos escores (NOS ≤ 5) para as coortes analisadas. Foi evidenciada relação direta entre o número de procedimentos dolorosos realizados em neonatos prematuros e menores índices de desenvolvimento motor e cognitivo destes indivíduos aos 18 meses de vida. Foi relatada a reação comportamental à dor neonatal como fator preditivo para melhor qualidade das atividades motoras aos 8 meses. 2) Houve maior latência térmica aos 15 dias nos animais machos do grupo sacarose e menor latência em fêmeas tratadas com sacarose aos 60 dias em relação ao grupo controle. Houve maior limiar de retirada da pata nos animais dos grupos morfina, água e sacarose em relação ao controle. Foram observadas diminuição da latência térmica e do limiar de retirada da pata, aumento da força de preensão e redução da velocidade ao longo do tempo em todos os grupos. Na comparação entre os sexos, evidenciou-se que a partir dos 60 dias pós-natais os animais dos grupos sacarose apresentaram maior latência térmica (machos em relação às fêmeas) e maior velocidade de deslocamento (fêmeas em relação aos machos). Nos grupos morfina e controle, houve maior limiar de retirada da pata em fêmeas e machos, respectivamente. Não houve diferença entre os sexos nos demais grupos. **Conclusão:** A baixa qualidade metodológica e a escassez de estudos publicados permitem afirmar, de forma limitada, que há influência da dor neonatal no desenvolvimento motor desde os primeiros dias de vida até a fase inicial da infância. Sugere-se que a sacarose e morfina possuem efeitos analgésico em curto prazo e anti-hiperalgésico em longo prazo. Recomenda-se a realização de novos estudos para melhor esclarecer os efeitos da sacarose e suas repercussões dependentes do sexo ao longo da vida.

Descritores: Dor; Recém-nascido; Desenvolvimento infantil; Sacarose.

ABSTRACT

Influence of tactile noxious stimulation and intraoral sucrose use on sensorimotor development in an experimental model of neonatal pain. Isabela Azevedo Freire Santos. 2018.

Background: Preterm newborns are daily exposed to painful procedures at Intensive Care Units. Despite this, repercussions of neonatal pain in long term and the use of oral sucrose to relieve pain related to these procedures are not well evidenced. **Objectives:** 1) To synthesize existing data in the literature (systematic review) regarding the effects of neonatal pain on motor development in long term; 2) To evaluate the effects of sucrose on sensory and motor functions in an experimental model of neonatal pain from birth to adulthood. **Method:** A systematic search of studies was performed in four databases (PubMed, Scopus, Scielo e LILACS) by two investigators, with the key-words “Infant, newborn”, “Infant, premature”, “Pain” and “Motor skills”. For methodological assessment, Newcastle-Ottawa Assessment Scale (NOS) was used. 2) An experimental study was performed in rat pups (n=38; 18 male and 20 female) submitted to the experimental model of neonatal pain. Animals were allocated in four groups: 1) Tactile noxious stimulation + sucrose intervention (n=9; 5 male and 4 female); 2) Tactile noxious stimulation + morphine intervention (n=9; 5 male and 4 female); 3) Tactile noxious stimulation + drinking water intervention (n=9; 3 male and 6 female); 4) Control (tactile and non-noxious stimulation) (n=11; 5 male and 6 female). Thermal latency (hot plate), paw withdrawal threshold (von Frey filaments), muscle strength (grip strength) and locomotion speed (activity monitor) were evaluated at 15, 30, 60 and 90 post-natal days. On days 32, 62 and 92, experimental model of neonatal pain was reinduced in these animals and paw withdrawal threshold and thermal latency were reassessed. **Results:** 1) Eleven studies were found, however after risk of bias assessment, only two studies were selected. Low scores on NOS scale ($NOS \leq 5$) were observed on the analyzed cohorts. A relation between the number of painful procedures performed in premature neonates and lower motor and cognitive development index of these subjects with 18 months was observed. Additionally, pain reactivity was reported as a predictive factor for the quality of motor activities at the age of 8 months. 2) There was higher thermal latency at 15 days in sucrose male animals and lower latency in females treated with sucrose at 60 days in relation to the control group. There was a higher paw withdrawal threshold in the animals of the morphine, water and sucrose groups in relation to the control. It was observed a decrease on thermal latency and paw withdrawal threshold, increase in grip strength, and decrease in speed over time in all groups. When comparing gender at 60th postnatal day, sucrose-treated animals presented higher thermal latency (males than females) and higher locomotion speed (females than males). In the morphine and control groups, there was a higher paw withdrawal threshold in females and males, respectively. There were no differences between sexes in other groups. **Conclusion:** Low methodological quality and the absence of published studies permit to affirm, on a limited extent, that neonatal pain influences motor development from the first days of life until the early childhood. It is suggested that sucrose and morphine have analgesic effects in short term and antihyperalgesic effect in long term. Further studies are recommended to better understand the effects of sucrose and its effects on different sexes throughout life.

Key-words: Pain; Newborn; Child Development; Sucrose.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1. Dor neonatal	18
2.2. Repercussões da dor neonatal	20
2.3. Dor neonatal e dimorfismo sexual.....	23
2.4. Manejo da dor neonatal	24
3. OBJETIVOS	29
3.1. Objetivo Geral.....	29
3.2. Objetivos Específicos.....	29
Capítulo 1 - INFLUÊNCIA DA DOR NEONATAL NO DESENVOLVIMENTO MOTOR DURANTE A INFÂNCIA	30
Capítulo 2 - INFLUÊNCIA DA SACAROSE NAS FUNÇÕES SENSITIVA E MOTORA EM MODELO EXPERIMENTAL DE DOR NEONATAL	37
1. INTRODUÇÃO	39
2. MATERIAIS E MÉTODOS	41
2.1. <i>Animais</i>	41
2.2. <i>Intervenção e grupos experimentais</i>	41
2.3. <i>Avaliação Comportamental</i>	42
2.4. <i>Delineamento experimental</i>	44
2.5. <i>Análise Estatística</i>	45
3. RESULTADOS	46
3.1. <i>Hiperalgisia Térmica</i>	46
3.2. <i>Hiperalgisia Mecânica Primária</i>	47
3.3. <i>Velocidade de deslocamento</i>	49
3.4. <i>Força de preensão</i>	50
4. DISCUSSÃO	53
5. CONCLUSÃO	59
4. CONCLUSÕES GERAIS	65

REFERÊNCIAS GERAIS	66
ANEXO A - Artigo publicado em <i>Pain Medicine</i>	77
ANEXO B - Comprovante de submissão na <i>International Journal of Developmental Neuroscience</i>	78
ANEXO C - Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa em Animais (CEPA/UFS)	79

1. INTRODUÇÃO

A Convenção das Nações Unidas sobre os Direitos da Criança reconhece que a população infantil é um segmento vulnerável da sociedade, com direito à atenção especial em todos os aspectos, incluindo os cuidados em saúde. A dor na infância (entre zero e 11 anos) (Papalia e Feldman, 2013) abrange esse espectro de cuidado, uma vez que a avaliação e o tratamento deste sinal envolvem razões éticas e humanitárias voltadas para o alívio momentâneo, assim como para a prevenção de incapacidades e consequências negativas associadas à dor em idades avançadas (Franck e Lefrak, 2001; Young *et al.*, 2017).

O período neonatal, compreendido desde o nascimento até o primeiro mês de vida, compõe a primeira etapa da infância, quando a habilidade em expressar verbalmente a dor ainda não se encontra estabelecida (Papalia e Feldman, 2013; Fitzgerald, 2015). Contudo, a percepção de estímulos nociceptivos ocorre desde o primeiro trimestre de vida embrionária com a formação de estruturas medulares e periféricas, além da maturação de áreas encefálicas associadas à percepção e analgesia no período pós-natal (Fitzgerald, 2005; 2015).

Dessa forma, a dor apresenta-se no embrião e no neonato anteriormente ao desenvolvimento de vias neurais para o seu controle, o que intensifica o impacto e desproporção deste sinal em crianças quando comparada àquela manifestada em adultos (Finley *et al.*, 2006; Fitzgerald, 2015; Young *et al.*, 2017). Adicionalmente, é comprovado que bebês são cerca de 30% a 50% mais sensíveis a estímulos dolorosos do que adultos e que possuem menor tolerância à dor quando comparados a crianças mais velhas (Young *et al.*, 2017).

No ambiente hospitalar, a dor neonatal é manifestada constantemente devido à realização de intervenções, desde as minimamente ou não invasivas até intervenções cirúrgicas comuns nesta faixa etária, como a correção de persistência do canal arterial, craniotomia, cirurgias oftalmológicas, laparotomia, gastrostomia, inserção de cateter central, dentre outras (Brummelte *et al.*, 2012). Nestes ambientes, as Unidades de Terapia Intensiva Neonatal (UTINs) concentram grande parte da frequência de procedimentos dolorosos em recém-nascidos (RNs) prematuros (Young *et al.*, 2017). Estudos epidemiológicos afirmam que neonatos internados nestas unidades são submetidos, em média, a 11 procedimentos dolorosos por dia, não estando inclusos neste número a grande quantidade de tentativas malsucedidas na realização destas práticas (Carbajal *et al.*, 2008; Roofthoof *et al.*, 2014).

Dentre os procedimentos evidenciados como causa de dor, encontram-se punção venosa ou arterial, aspiração traqueal ou nasal, inserção de sonda gástrica, remoção de curativos ou eletrodos, manejo de drenos e feridas, intubação e extubação traqueal, injeção subcutânea, ventilação mecânica e manejos respiratórios (Carbajal *et al.*, 2008). Estas ações estão relacionadas à dor como sinalização da presença de injúria tecidual e/ou a ocorrência de estresse no neonato, caracterizado, principalmente, por alterações comportamentais decorrentes da manipulação excessiva e pelo distanciamento do contato com os pais ou cuidadores (Chrousos e Gold, 1992; Anand e Craig, 1996; Cong *et al.*, 2017).

Os efeitos causados pela dor neonatal envolvem alterações sensoriais, cognitivas, emocionais e/ou motoras presentes de forma aguda nos sistemas corporais dos seres humanos e animais desde os primeiros dias de vida (Lidow, 2002; Walker, 2013; Sanada *et al.*, 2014; Schwaller e Fitzgerald, 2014; Valeri *et al.*, 2015). O conhecimento destas repercussões e dos mecanismos neurais envolvidos no processo doloroso durante o período inicial da vida tem sido aprimorado nos últimos anos (Sanada *et al.*, 2014; Goksan *et al.*, 2015). Entretanto, a evidência de que estas consequências podem se estender até anos subsequentes do desenvolvimento ainda são pouco conhecidas pelos pesquisadores, sendo consideradas de extrema importância para o estudo da maturação sensório-motora durante a infância (Fitzgerald, 2015).

Um outro aspecto importante dentre as repercussões da dor neonatal ao longo da vida diz respeito ao dimorfismo sexual, ou seja, as diferenças existentes entre indivíduos do sexo masculino e feminino. As divergências quanto à percepção e modulação da dor entre os sexos é amplamente comprovada por fatores hormonais, genéticos, afetivo-motivacionais e socioculturais presentes em adultos (Mogil, 2012). Contudo, ao buscar evidências sobre este tema em neonatos e crianças, encontram-se discordâncias quanto à existência de correlação entre o sexo e a manifestação de dor e/ou parâmetros fisiológicos referentes a esta.

Estudos clínicos mostram não haver diferença de manifestações comportamentais de dor entre meninos e meninas (Fuller, 2002; Gibbins *et al.*, 2008; Valeri *et al.*, 2014), enquanto estudos experimentais afirmam existir diferença entre animais machos e fêmeas no que concerne às variáveis sensório-motoras relacionadas à hiperalgesia induzida por modelo de dor neonatal (estimulação tátil e nociva) (Page *et al.*, 2005; Page *et al.*, 2013; Carmo *et al.*, 2016) e modelo de dor crônica inflamatória (Page *et al.*, 2005; Page *et al.*, 2013; Carmo *et al.*, 2016; Ferrari *et al.*, 2017). Por se tratar de um conflito de evidências,

a dor e o dimorfismo sexual no período neonatal constituem também uma lacuna a ser sanada por estudos futuros.

A fim de minimizar os efeitos agudos e crônicos ocasionados pela experiência nociceptiva durante a fase neonatal, o manejo da dor ocorre através de estratégias farmacológicas e não farmacológicas. Opióides como morfina e fentanil são os mais utilizados para sedoanalgesia em UTINs (Walker, 2014; American Academy of Pediatrics, 2016), bem como paracetamol, ibuprofeno, midazolam, clonidina e lidocaína (Playfor *et al.*, 2006; American Academy of Pediatrics, 2016), pertencentes a outras classes de fármacos utilizadas em menor escala nesses ambientes. Os efeitos colaterais, tais como depressão respiratória, comprometimento motor em longo prazo e o desenvolvimento de tolerância analgésica (Walker, 2014), causados pela administração destas substâncias, estimularam o aprimoramento de abordagens não farmacológicas para a dor infantil (Golianu *et al.*, 2007).

Dentre as abordagens não-farmacológicas mais comuns, encontram-se massagem, musicoterapia, técnicas de distração, contato materno (método canguru), amamentação, contenção facilitada/enrolamento e sucção não nutritiva (com e sem a administração de substâncias adocicadas) (Golianu *et al.*, 2007; Motta e Cunha, 2015). Esta última é estudada como modalidade analgésica através da administração de sacarose intraoral em seres humanos e animais, com investigação de seus efeitos comportamentais e aplicabilidade em neonatos (Anseloni *et al.*, 2002; Johnston *et al.*, 2002; Holsti e Grunau, 2010; Stevens *et al.*, 2016).

Apesar da eficácia analgésica da sacarose já ser comprovada por estudos prévios reportados em recente revisão sistemática (Stevens *et al.*, 2016), este tema ainda carece de informações a respeito da dose de administração, mecanismo de ação, esclarecimento sobre o efeito calmante e/ou analgésico desta substância e as consequências em longo prazo deste tipo de intervenção para manejo da dor em neonatos (American Academy of Pediatrics, 2016).

O efeito em longo prazo da dor em RNs e da administração de sacarose via oral, bem como a relação destas variáveis com o dimorfismo sexual constituem ainda uma lacuna na prática clínica. Hipotetiza-se que a dor neonatal influencia aspectos comportamentais do desenvolvimento sensório-motor que podem persistir até a fase adulta, e que as características inerentes ao sexo possuem ação direta nestes aspectos maturacionais. Acredita-se também que a administração de sacarose intraoral atua no Sistema Nervoso Central (SNC), reduzindo hiperalgesia e atenuando prejuízos motores,

em curto e longo prazos, adquiridos após a experiência sensorial nociceptiva durante a fase inicial da vida. A partir disto, a realização de estudos de caráter experimental é necessária a fim de contribuir com evidências a cerca deste tema.

Além de estudos experimentais, faz-se também necessário o desenvolvimento de estudos de revisão em torno do conhecimento dos efeitos em longo prazo da dor neonatal na aquisição de habilidades motoras em seres humanos. A síntese de informações referentes a este tema é encontrada em estudo previamente publicado (Valeri *et al.*, 2015) que reporta desfechos gerais (incluindo variáveis motoras) causados pela dor no início da vida, porém não discorre detalhadamente sobre estes efeitos no desempenho e/ou desenvolvimento motor. Esta síntese de dados a respeito do desenvolvimento motor de crianças submetidas a procedimentos dolorosos contribui para a prática clínica, como por exemplo, para a aplicação de estratégias de analgesia, bem como auxilia na geração de hipóteses a serem constatadas em estudos experimentais, o que configura o caráter translacional deste tema.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Dor neonatal

A dor é definida como uma experiência sensorial e emocional desagradável descrita pelo indivíduo que a sente (Merskey e Bogduk, 1994). Considerada um parâmetro subjetivo, a dor é comumente subjugada em populações que possuem maior dificuldade em realizar o autorrelato, a exemplo dos neonatos (Fitzgerald, 2015), sendo considerada um fator de discussão e preocupação no âmbito da saúde. Isto se deve à deficiência na prevenção e tratamento deste sinal, ocasionada por diversos fatores como dificuldade na avaliação através da comunicação verbal, precaução excessiva quanto aos efeitos colaterais dos fármacos analgésicos e anestésicos e, principalmente, a falta de conhecimento em torno das manifestações e consequências da experiência dolorosa nesta porção da população (Finley *et al.*, 2006).

Apesar dos impasses referentes à dor neonatal, a Sociedade Brasileira de Pediatria em conjunto com o Conselho Nacional dos Direitos da Criança e do Adolescente (CONANDA) garantiu, em 1995, o direito de não sentir dor a indivíduos nessa faixa etária, quando existem meios para evitá-la (Brasil, 1995). Dessa forma, deu-se maior destaque ao estudo deste sinal em neonatos, bem como o desenvolvimento de estratégias para contorná-lo.

Recém-nascidos, sejam eles pretermo ou a termo, apresentam, desde a fase embrionária, características referentes aos fenômenos de transdução, transmissão, percepção e modulação da dor (Lemos e Ambiel, 2010). O primeiro, referente à detecção inicial de um estímulo nociceptivo e transformação em sinal neuronal, distingue-se pela presença de nociceptores polimodais no gânglio da raiz dorsal da medula espinhal nas primeiras semanas gestacionais. Neste período, estão presentes também receptores e canais específicos para transdução do sinal nociceptor, tais como receptor de potencial transitório vaniloide 1 (TRPV1), purinoceptor do canal de íons controlados por ligante três (P2X3) e canais de sódio controlados por voltagem de subunidade alfa ($Na_v 1.8$) (Fitzgerald, 2005).

A partir da captação dos estímulos químicos, mecânicos e térmicos por estes nociceptores, ocorre a transmissão do impulso nervoso ao SNC. Esta etapa é executada pelas fibras A de largo diâmetro e C não-mielinizadas, que já se encontram desenvolvidas até a 30ª semana de gestação (Fitzgerald, 2005; Lemos e Ambiel, 2010). Com esta condução, os neurônios do corno dorsal da medula são

hiperexcitados, característica peculiar do período neonatal, em que a excitabilidade neuronal na medula espinhal é elevada, enquanto a capacidade de discriminação sensorial e a localização espacial são reduzidas (Fitzgerald, 2005).

No mecanismo de percepção dolorosa ocorre a condução do impulso nervoso desde a medula espinhal até centros corticais superiores. Destes, destacam-se o córtex somatossensorial, córtex motor, córtex cingulado anterior, córtex insular, lobo parietal, tálamo e hipocampo (Fitzgerald, 2015). A ativação de áreas referentes à sensibilidade em conjunto com as responsáveis pela motricidade, memória e afetividade enfatizam que a sensação de dor é uma experiência complexa que envolve os componentes sensorial-discriminativo, afetivo-emocional e cognitivo-interpretativo, manifestados desde o período embrionário e acentuados após o nascimento (Lemos e Ambiel, 2010).

A modulação da dor, definida como supressão do estímulo doloroso por mecanismos neurais específicos, é considerada um ponto relevante no estudo da dor neonatal. Ao nascimento, as vias descendentes inibitórias encontram-se imaturas, ou seja, não há completa expressão funcional dos interneurônios inibitórios medulares, que encontram-se em período de maturação lenta e gradual (Lemos e Ambiel, 2010). Adicionalmente, estudos experimentais revelam que três sistemas responsáveis pela analgesia também encontram-se imaturos nos primeiros dias de vida: 1) o sistema opioidérgico apresenta reduzida atividade dos receptores μ e da ativação da substância cinzenta periaquedutal até o 21º dia pós-natal; 2) o sistema serotoninérgico apresenta padrão de ativação incompleto (baixos níveis de serotonina e maturação incompleta dos receptores 5HT) até o 21º dia pós-natal e 3) o sistema noradrenérgico apresenta maturação dos receptores α -2 adrenérgicos somente a partir do 15º dia pós-natal (Fitzgerald, 2005).

Esta redução do controle inibitório da dor e o caráter excitatório do SNC ocorrido na transmissão e percepção conferem a maior magnitude da experiência dolorosa na fase inicial da vida, ou seja, neonatos percebem os estímulos dolorosos com maior intensidade quando comparados a adultos (Lemos e Ambiel, 2010). Este fato reforça a necessidade do estudo da dor neonatal, no que concerne a suas características, epidemiologia e formas de controle em ambientes onde se mostra mais incidente.

As Unidades de Terapia Intensiva Neonatal (UTINs) são os ambientes de maior incidência de realização de procedimentos dolorosos em RNs. Dentre as principais causas de estímulo nociceptivo nestes locais, destaca-se a punção venosa no calcanhar como a mais frequentemente realizada em UTINs (Carbajal *et al.*, 2008; Courtois *et al.*, 2016). É importante destacar que a frequência de realização destes procedimentos está intimamente relacionada à maior ocorrência de dor e estresse em neonatos.

O estudo epidemiológico mais recente realizado em UTINs francesas detectou a execução de em média 2 procedimentos dolorosos por neonato no período de um dia de internamento em UTI (Courtois *et al.*, 2016). Apesar da redução deste número de procedimentos quando comparada a estudo realizado previamente (Carbajal *et al.*, 2008), em que eram evidenciados 16 procedimentos dolorosos por neonato a cada dia de hospitalização, a frequência elevada destes estímulos realizados sem analgesia ou com analgesia insuficiente promove um alerta para o impacto da dor neonatal em diversos aspectos da vida do recém-nascido.

2.2. Repercussões da dor neonatal

O aprofundamento do conhecimento dos mecanismos, repercussões clínicas e funcionais da dor em RNs em curto e longo prazo é de suma importância diante do contexto atual de saúde. As consequências provocadas pela estimulação nociceptiva na fase inicial da vida ocorrem nos componentes motor, sensorial, cognitivo e emocional da criança (Young *et al.*, 2017).

Descobertas neste campo da ciência abrangem estudos que descrevem as alterações provocadas pela dor em neonatos. Ao observar a relação entre as atividades de rotina em UTIN e o desenvolvimento cerebral em prematuros, Brummelte *et al.* (2012) evidenciaram, a partir de exames de imagem e dosagem de neurotransmissores, que, quanto maior o número de procedimentos dolorosos realizados no neonato durante a hospitalização, maior era a redução da substância branca e da maturação da substância cinzenta subcortical, o que está relacionado a menor mielinização e conseqüentemente à menor condução do impulso nervoso nestas crianças. Também por meio de neuroimagem (ressonância magnética funcional), estudo prévio evidenciou a atividade do córtex somatossensorial primário, córtex cingulado anterior, tálamo e região insular em neonatos e adultos durante a estimulação dolorosa (Goksan *et al.*, 2015).

Mudanças no sistema sensorial ocasionadas pelo aumento da atividade nociceptiva são relatadas de forma mais frequente na literatura por se tratar do primeiro sistema a ser atingido pela ocorrência da dor. O aumento na liberação de cortisol, maior ativação do córtex somatossensorial e ampliação da resposta cortical ao estímulo nocivo são algumas das consequências desse dano ao SNC (Walker, 2013). Como resultado destas alterações cerebrais, ocorre redução do limiar sensitivo cutâneo e do limiar de dor por pressão, aumento da sensibilidade térmica e maior risco em desenvolver dor crônica em idade mais avançada devido à sensibilização do SNC (Walker, 2013; Young *et al.*, 2017), ambas consideradas consequências negativas para o desenvolvimento sensório-motor do ser humano até o sétimo ano de vida.

As alterações motoras associadas ao processo doloroso envolvem mudanças no desempenho motor, tais como alteração de velocidade e execução da marcha, comprometimento das habilidades perceptivo-visuais e atraso no crescimento corporal (Vinall *et al.*, 2012; Ranger *et al.*, 2013; Sanada *et al.*, 2014). Estudo realizado por Grunau *et al.* (2009) prediz atraso no desenvolvimento motor e cognitivo de bebês nascidos prematuros quando avaliados aos 8 e 18 meses de idade cronológica corrigida e comparados às crianças na mesma faixa etária que não foram hospitalizadas nessas unidades. Este atraso motor nos primeiros anos de vida é atribuído por estes autores ao elevado número de procedimentos dolorosos realizados na UTIN em conjunto com o tempo elevado de ventilação mecânica e permanência nestas unidades (Grunau *et al.*, 2009).

Evidências também surgiram a partir de experimentos com animais, em que foram descobertas alterações sensoriais no padrão de marcha e na ativação de células gliais do córtex somatossensorial, motor, pré-frontal, cíngulo anterior e região insular desde o período pós-injúria neonatal até a fase adulta (180 dias após o nascimento), mostrando o prolongamento das consequências da dor neonatal nos animais pelos anos subsequentes de vida (Sanada *et al.*, 2014).

Alterações cognitivas também foram investigadas em crianças submetidas à experiência dolorosa, sendo evidenciada a redução dos níveis de atenção e alerta e o atraso na aquisição destas habilidades (Tu *et al.*, 2007; Montiroso *et al.*, 2012). Estes dados reforçam a natureza múltipla dos comprometimentos do desenvolvimento, ou seja, não são somente os aspectos físicos que estão relacionados à experiência negativa causada pela dor nos primeiros dias de vida, mas também aspectos

relacionados ao raciocínio, memória, dedução lógica, dentre outras funções cognitivas comandadas pelo SNC (Tu *et al.*, 2007; Montiroso *et al.*, 2012).

Catastrofização e somatização da dor, aumento da expressão corporal diante do estímulo doloroso, redução da afetividade e sintomas de ansiedade e depressão são listados como distúrbios comportamentais presentes em neonatos submetidos a estímulos dolorosos (Vinall *et al.*, 2013; Walker, 2013). Além de parâmetros comportamentais, a observação de variáveis fisiológicas também é considerada preditora de dor neonatal. O aumento da frequência cardíaca (FC), pressão arterial (PA) e da hipoxemia, assim como a oscilação da pressão intratorácica e intracraniana são observados em neonatos hospitalizados quando submetidos a procedimentos invasivos (Dittz e Malloy-Diniz, 2006; Valeri *et al.*, 2015).

O conjunto de alterações e prejuízos em diversos níveis decorrentes da estimulação dolorosa no período neonatal pode ser justificada pela Teoria Sinativa da Organização Neurocomportamental do Recém-Nascido, elaborada pela psiquiatra Heidelise Als (Als, 1982). Esta teoria descreve a organização comportamental do neonato e o seu desenvolvimento em relação ao equilíbrio entre a interação da criança com o ambiente e os subsistemas neurocomportamentais.

Esses subsistemas amadurecem sequencialmente e são interdependentes, apresentando disfunções quando submetidos a processos dolorosos ou a uma hiperestimulação. Neste caso, o desequilíbrio provocado pela dor gera instabilidade nos sistemas autônomo (movimentos peristálticos, alteração do padrão respiratório), motor (movimentos desordenados, alterações de tônus), comportamental (alteração do ciclo sono-vigília), atenção-interação (estado de alerta) e regulador (manutenção da homeostase) (Dittz e Malloy-Diniz, 2006).

As repercussões estruturais, fisiológicas e comportamentais da dor neonatal a curto prazo são consolidadas na literatura atual. Entretanto, evidências a respeito dos efeitos da nocicepção na fase inicial da vida e suas consequências em períodos tardios do desenvolvimento (infância, adolescência e fase adulta) são escassas. A dificuldade em realizar estudos prospectivos (*follow-up*) com o objetivo de investigar os efeitos comportamentais em longo prazo da experiência dolorosa desde o período neonatal até a vida adulta em seres humanos, estimula a realização deste estudo em animais. A relevância da pesquisa sobre a dor neonatal e seus fatores associados dá-se pela contribuição para o aprimoramento do manejo da dor em UTINs, bem como a estimulação precoce de habilidades potencialmente prejudicadas por este fenômeno.

2.3. Dor neonatal e dimorfismo sexual

O dimorfismo sexual é definido como o conjunto de diferenças marcantes existentes entre os sexos. Estas diferenças não dizem respeito a órgãos sexuais, mas sim a outras características físicas e comportamentais que diferem um sexo do outro, a exemplo da percepção e manifestação da dor (Mogil, 2012). Pesquisas sobre dor neonatal e dimorfismo sexual apresentam ideias conflitantes, ao evidenciar sinais distintos em machos e fêmeas e/ou ausência de diferença entre os sexos (Guinsburg *et al.*, 2000; Bartocci *et al.*, 2006; Gibbins *et al.*, 2008; Knaepen *et al.*, 2012; Page *et al.*, 2013; Sellam *et al.*, 2013; Lima *et al.*, 2014; Valeri *et al.*, 2014; Carmo *et al.*, 2016; Burke e Trang, 2017).

Estudos experimentais mostram que filhotes do sexo masculino submetidos a diferentes tipos de modelos de dor neonatal (dor inflamatória, dor pós-cirúrgica e punção por agulha) possuem maior limiar mecânico (Knaepen *et al.*, 2012; Page *et al.*, 2013; Burke e Trang, 2017) e térmico (Burke e Trang, 2017), maior limiar sensitivo, peso corporal (kg) e força muscular (N) (Carmo *et al.*, 2016), aumento da proliferação celular e da concentração do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no hipocampo (Lima *et al.*, 2014). Diferentes estudos mostram que os filhotes do sexo feminino, quando submetidos a estes mesmos modelos, apresentam maior limiar de retirada da pata (Lima *et al.*, 2014; Carmo *et al.*, 2016), menor nível de ansiedade (Lima *et al.*, 2014) e menor hiperalgesia em resposta ao teste da formalina (Page *et al.*, 2013).

Estudos clínicos apresentam os seguintes dados comportamentais em bebês do sexo masculino: aumento da FC no 1º minuto após a estimulação dolorosa (Valeri *et al.*, 2014), alterações fisiológicas (FC, frequência respiratória e saturação periférica de oxigênio) em maior amplitude (Sellam *et al.*, 2013) e maior ativação cortical durante punção por agulha (Bartocci *et al.*, 2006). Em neonatos do sexo feminino, somente foi encontrado relato de maior atividade facial durante procedimentos dolorosos (Guinsburg *et al.*, 2000). Em contrapartida, estudo realizado por Gibbins *et al.* (2008) afirma não encontrar diferença entre os sexos em neonatos prematuros de diferentes idades gestacionais. Contudo, devido ao reduzido número de estudos que refutem a ideia de haver diferença entre os sexos, esta informação permanece inconclusiva na literatura.

A partir deste apanhado das evidências em torno do dimorfismo sexual e sua relação com a dor neonatal, é possível perceber a divergência e ausência de consenso

sobre este tema. Especula-se a existência de relação entre estas características divergentes entre os machos e fêmeas e hormônios sexuais (testosterona e progesterona), atuantes no estabelecimento destas diferenças. Desta forma, a investigação da influência do sexo nas repercussões causadas pela dor neonatal ao longo da vida é considerada um tópico relevante.

2.4. Manejo da dor neonatal

O manejo da dor no período neonatal baseia-se na identificação da presença deste sinal, sendo o primeiro passo para a abordagem ideal. O objetivo principal do controle da dor do RN é a utilização de intervenções que minimizem a sua intensidade e duração, ajudando na recuperação e reorganização dessa experiência estressante (Motta e Cunha, 2015). Inicialmente, a dor pode ser evitada a partir da diminuição do número de procedimentos realizados, redução do número de interrupções do repouso do neonato, além da eliminação de procedimentos desnecessários e repetição dos mesmos após tentativas sem sucesso (American Academy of Pediatrics, 2016).

Uma vez que esta mudança de rotina em UTINs é de difícil execução, estratégias farmacológicas e não-farmacológicas podem ser utilizadas para o manejo da dor (American Academy of Pediatrics, 2016). Dentre os agentes farmacológicos mais comumente utilizados para analgesia em RNs, estão os opioides, representados pela morfina e fentanil. O efeito analgésico destes fármacos é amplamente comprovado, sendo a morfina o principal opiáceo presente em protocolos de analgesia para neonatos criticamente enfermos (Kesavan, 2015). Os principais efeitos do uso da morfina compreendem redução das respostas comportamentais e hormonais do estresse e da dor no período pós-operatório (Bouwmeester *et al.*, 2003), maior sincronia do paciente com o ventilador mecânico, com consequente melhoria da oxigenação (Dyke *et al.*, 1995) e sedação efetiva de neonatos sob ventilação mecânica invasiva (Quinn *et al.*, 1993).

Apesar de ser o componente analgésico mais utilizado em UTINs devido a sua eficácia, os efeitos adversos promovidos pela morfina, tais como depressão respiratória, maior tempo de duração da ventilação mecânica, desenvolvimento de dependência e tolerância analgésica, hipotensão, bradicardia, constipação, retenção urinária, além de apoptose de micróglia e neurônios, menor peso corporal e circunferência da cabeça reduzida em prematuros (Attarian *et al.*, 2014; American Academy of Pediatrics, 2016) geram controvérsias quanto ao seu uso e estimulam

diversificação das estratégias de analgesia, como uso de outras substâncias e/ou métodos não farmacológicos .

Dentre a gama de substâncias utilizadas para manejo da dor neonatal estão metadona, quetamina, propofol e dexmedetomidina, ainda pouco aplicadas devido à escassez de comprovação dos efeitos adversos e neurotóxicos (American Academy of Pediatrics, 2016). Paracetamol e anti-inflamatórios não esteroidais podem ser prescritos para neonatos, apresentando uso restrito devido ao alto índice de insuficiência hepática e renal, disfunção plaquetária e desenvolvimento de hipertensão pulmonar (American Academy of Pediatrics, 2016). Para controle local da dor, os agentes anestésicos tópicos, como lidocaína e tetracaína, são aplicados durante a inserção de cateter, punção venosa e arterial. Precauções quanto ao uso destes fármacos são tomadas a fim de evitar irritação local da pele, toxicidade e metahemoglobinemia (American Academy of Pediatrics, 2016).

Devido à ocorrência destas reações adversas com o uso destes fármacos analgésicos e anestésicos, estratégias não farmacológicas têm sido desenvolvidas. Os procedimentos mais eficazes para controle da dor em neonatos já comprovados cientificamente são uso de substâncias adocicadas (sacarose, glicose e frutose) por via oral, sucção não-nutritiva, amamentação, contato pele a pele, Método Canguru, contenção facilitada/enrolamento, massoterapia, musicoterapia, acupuntura e diminuição da estimulação tátil (Golianu *et al.*, 2007; Linhares e Doca, 2010; Motta e Cunha, 2015; Lago *et al.*, 2017).

O método mais difundido e recomendado pela Academia Americana de Pediatria para o manejo da dor em RNs é a administração de substâncias adocicadas por via oral (American Academy of Pediatrics, 2016). Revisões sistemáticas e metanálises reportam o efeito analgésico da sacarose ou glicose em neonatos, reiterando apenas a limitação do conhecimento do efeitos em longo prazo desta substância e da comprovação em seres humanos de reações adversas já descobertas em modelos animais, tais como aumento do peso, alteração da microbiota intestinal e indução de intolerância à glicose (Holsti e Grunau, 2010; Gao *et al.*, 2016; Stevens *et al.*, 2016; Harrison *et al.*, 2017; Sylvetsky *et al.*, 2017).

A escolha por substâncias de sabor doce para analgesia justifica-se pelo fato deste constituir o primeiro tipo de estímulo gustativo apresentado à criança desde a fase embrionária. Afirma-se que a sensação de prazer ocasionada pelo sabor doce é inata ao ser humano, uma vez que a habilidade de detectá-lo se desenvolve a partir

das primeiras semanas gestacionais (Ventura e Mennella, 2011). O leite materno e as frutas são considerados alimentos adocicados apresentados repetidamente à criança no início da vida. Com a estimulação gustativa contínua, as crianças começam a desenvolver suas preferências pelos sabores expostos nas fases pré e pós-natal, o que favorece a palatabilidade e efeito analgésico ocasionado pela sacarose (Ventura e Mennella, 2011).

Ensaio clínico realizados em neonatos submetidos a procedimentos dolorosos afirmam que a analgesia provocada pela substância adocicada ocorre quando este método é utilizado isoladamente (Gaspardo *et al.*, 2008; Hsieh *et al.*, 2017; Mahmud *et al.*, 2017) ou combinado a outras estratégias como termoterapia (calor radiante da incubadora) (Gray *et al.*, 2015), enrolamento (Leng *et al.*, 2016) e sucção não-nutritiva (Leng *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2017). A não-observação do efeito analgésico da sacarose também é reportada em ensaios clínicos prévios (Simonse *et al.*, 2012; Banga *et al.*, 2016; Cook *et al.*, 2017; Şener Taplak e Erdem, 2017), o que configura a lacuna existente em estudos com seres humanos.

A redução da dor ocasionada pela administração de sacarose via oral pode ser justificada pelo conceito de palatabilidade, que consiste na capacidade de reconhecer uma substância e/ou alimento como palatável (de gosto agradável) e que causa prazer ao ser ingerido (Bhattacharjee e Mathur, 2005). Este fenômeno vinculado à ingestão de alimentos hedônicos (palatáveis) é caracterizado pelo seu efeito anti-hiperalgésico e analgésico (Kanarek e Homoleski, 2000; Foo e Mason, 2009), sendo denominado analgesia por ingestão de alimentos (Foo e Mason, 2011).

Estudos com animais evidenciam o efeito de alimentos com diferentes sabores na redução do efeito nociceptivo em modelo de inflamação induzido por lipopolissacarídeo (LPS) e de náusea induzido por quinina (Foo e Mason, 2009; Foo e Mason, 2011). Constata-se que a ingestão de solução adocicada (sacarose ou sacarina) ou água potável são capazes de aumentar o limiar sensitivo cutâneo e térmico em animais induzidos com LPS, o que não ocorre após a ingestão de solução com sabor salgado (cloreto de sódio) ou amargo (quinina) (Foo e Mason, 2009).

O mecanismo neurofisiológico envolvido na analgesia ocasionada pela ingestão de alimentos inicia com a ativação da via gustativa ascendente, caracterizada pela sensibilização das papilas gustativas na cavidade oral, no momento em que o alimento hedônico é ingerido (Damiani e Damiani, 2011). Após este reconhecimento, os estímulos aferentes são conduzidos pelos nervos intermédio/ facial (VII par

craniano) e glossofaríngeo (IX par craniano) até a porção caudal do tronco encefálico, especificamente para o núcleo do trato solitário (NTS) e núcleo parabraquial (NPb) (Anseloni *et al.*, 2005). Em seguida, a aferência sensorial é ativada no tálamo (núcleo talâmico e estria terminal) e finaliza com a percepção do estímulo em áreas superiores, como o córtex insular, hipotálamo e amígdala (Anseloni *et al.*, 2005).

Com a percepção da aferência sensorial provocada pela sacarose ingerida, é ativada a via descendente de analgesia induzida pelo alimento. Nesta, são estimulados receptores opioides localizados na substância cinzenta periaquedutal (PAG, do inglês, *periaqueductal grey*), porção rostroventromedial do bulbo (RVM), núcleo magno da rafe (Anseloni *et al.*, 2005) e corno dorsal da medula espinhal (Gibbins e Stevens, 2001). Receptores GABA-A (benzodiazepínicos) também compõem esta via descendente de controle da dor, sendo ativados nos núcleos da base (globo pálido) e tronco encefálico (Bhattacharjee e Mathur, 2005).

Além destes, estudos experimentais baseados em bloqueio farmacológico sistêmico específico para receptores colinérgicos (muscarínicos e nicotínicos) (Irusta *et al.*, 2001), serotoninérgicos (5-HT_{2A}) (Miyase *et al.*, 2005; Rebouças *et al.*, 2005), noradrenérgicos (α -1) (Rebouças *et al.*, 2005) e opioides (μ ₁) (De Freitas *et al.*, 2012) expõem o envolvimento destes receptores na analgesia provocada pela sacarose. .

Associada à analgesia induzida pela sacarose, foi verificada, em estudos prévios, ocorrência de prevenção da perda de memória em curto prazo pelo aumento da concentração de encefalina, endorfina e BDNF no hipocampo após ingestão de substância adocicada por ratos filhotes (Nuseir *et al.*, 2015; Nuseir *et al.*, 2017). Estas evidências mostram que a redução da hiperalgesia ocorre de forma imediata após administração de sacarose intraoral devido à ativação de via descendente específica.

Estudo publicado recentemente (Tremblay *et al.*, 2017) é o primeiro a detalhar os efeitos em longo prazo do uso da sacarose intraoral em animais filhotes submetidos à estimulação nociceptiva. Contrariamente ao que já foi publicado sobre a temática, os autores evidenciaram que a sacarose não promove proteção neuronal, e pode apresentar efeito oposto. Esta afirmação baseia-se na observação da redução da substância branca no corpo caloso, estria terminal do tálamo e fímbria do hipocampo, assim como da substância cinzenta cortical e subcortical no hipocampo e cerebelo. Este fato mostra que as controvérsias quanto aos efeitos da sacarose em curto e longo prazos podem ser encontradas em estudos clínicos e pré-clínicos.

O presente apanhado de informações sobre a dor neonatal, suas repercussões e manejo evidencia a lacuna científica existente sobre os efeitos sensório-motores em longo prazo, a influência do dimorfismo sexual na dor neonatal, bem como o efeito uso de substância adocicada (sacarose) como analgésico em neonatos. Com isso, a realização de estudos de revisão, estudos clínicos e pré-clínicos é considerada fundamental, a fim de contribuir com evidências de alta qualidade metodológica e consequente aprimoramento do conhecimento, mensuração e manejo da dor em neonatos.

A dificuldade em realizar estudos prospectivos de longa duração em seres humanos, a fim de acompanhar o desenvolvimento desde o nascimento à fase adulta, estimula a realização de estudos experimentais de caráter translacional. A partir destes estudos, é possível obter resultados que visem a prevenção de incapacidades e consequências negativas causadas pelo estímulo nocivo, através de estratégias de analgesia somadas à intervenção precoce, que objetiva a melhoria do desenvolvimento neuropsicomotor desde a fase neonatal.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Verificar a influência da estimulação tátil nociva e do uso da sacarose intraoral no desenvolvimento sensório-motor em modelo experimental de dor neonatal do nascimento até a fase adulta.

3.2. Objetivos Específicos

- Realizar síntese dos dados existentes na literatura (revisão sistemática) a respeito dos efeitos da dor neonatal em longo prazo;
- Avaliar o efeito comportamental do uso da sacarose intraoral no desenvolvimento sensório-motor em modelo experimental de dor neonatal do nascimento à fase adulta;
- Comparar o efeito comportamental do uso da sacarose intraoral com a administração de morfina neste modelo experimental;
- Comparar o efeito comportamental do uso da sacarose intraoral com a água potável neste modelo experimental;
- Verificar o papel do dimorfismo sexual na dor neonatal e suas repercussões em curto e longo prazos.

Capítulo 1

INFLUÊNCIA DA DOR NEONATAL NO DESENVOLVIMENTO MOTOR DURANTE A INFÂNCIA

Artigo publicado na *Pain Medicine*

Conceito Qualis B1 na Medicina I

Fator de impacto 2,339

(ANEXO A)

Caro Editor,

O período neonatal compreende o primeiro estágio da infância, quando a habilidade de expressar a dor verbalmente ainda não é estabelecida (Papalia e Feldman, 2013). Contudo, a percepção do estímulo nociceptivo desenvolve-se após o primeiro trimestre gestacional, com a formação da medula espinhal, de estruturas periféricas e com a maturação de áreas cerebrais associadas à percepção dolorosa (Fitzgerald, 2005).

Os efeitos causados pela dor neonatal envolvem alterações sensoriais, cognitivas, emocionais e motoras que estão presentes durante os primeiros dias de vida (Lidow, 2002; Walker, 2013; Schwaller e Fitzgerald, 2014; Valeri *et al.*, 2015). Apesar disto, evidências que mostrem a influência destes efeitos no desenvolvimento até a fase adulta são escassas, particularmente no que concerne à performance motora (Sanada *et al.*, 2014). Poucos estudos investigaram este assunto, apesar de sua relevância para o bem-estar físico e psicológico de bebês e crianças.

Uma revisão sistemática realizada em quatro bases de dados eletrônicas (PubMed/Medline, Scopus, Scielo e LILACS) entre dezembro de 2014 e junho de 2015 resultou em apenas dois estudos sobre o tema. Os MeSh termos e seus sinônimos foram combinados com uso dos operadores booleanos AND e OR, resultando na seguinte estratégia de busca: ((“Infant, Newborn” [mesh terms]) OR (“Infant, Premature” [mesh terms]) AND (“Pain” [mesh terms]) AND (“Motor Skills” [mesh terms])). A Figura 1 representa o fluxograma da busca nas bases de dados.

Estes dois estudos foram conduzidos pelo mesmo autor e executados em Unidades de Terapia Intensiva Neonatal (UTINs) no Canadá (Grunau *et al.*, 2006; Grunau *et al.*, 2009). Duzentos e quarenta e seis (n=246) neonatos e crianças foram acompanhados em diferentes estágios do desenvolvimento nos dois estudos; 35 destes foram observados com 32 semanas de idade gestacional (prematuros) e aos 4 e 8 meses de vida (Grunau *et al.*, 2006), e 211 destas crianças foram avaliadas aos 8 e 18 meses de idade (Grunau *et al.*, 2009).

Todos os sujeitos incluídos nestes estudos do tipo coorte foram expostos à dor durante procedimentos específicos realizados em UTINs, como coleta de sangue (Grunau *et al.*, 2006) e procedimentos invasivos (punção venosa, intubação, injeção intramuscular). O grupo controle foi composto por crianças a termo que não foram admitidas em UTINs ou expostas a estímulos dolorosos e foram avaliadas em domicílio (Grunau *et al.*, 2009).

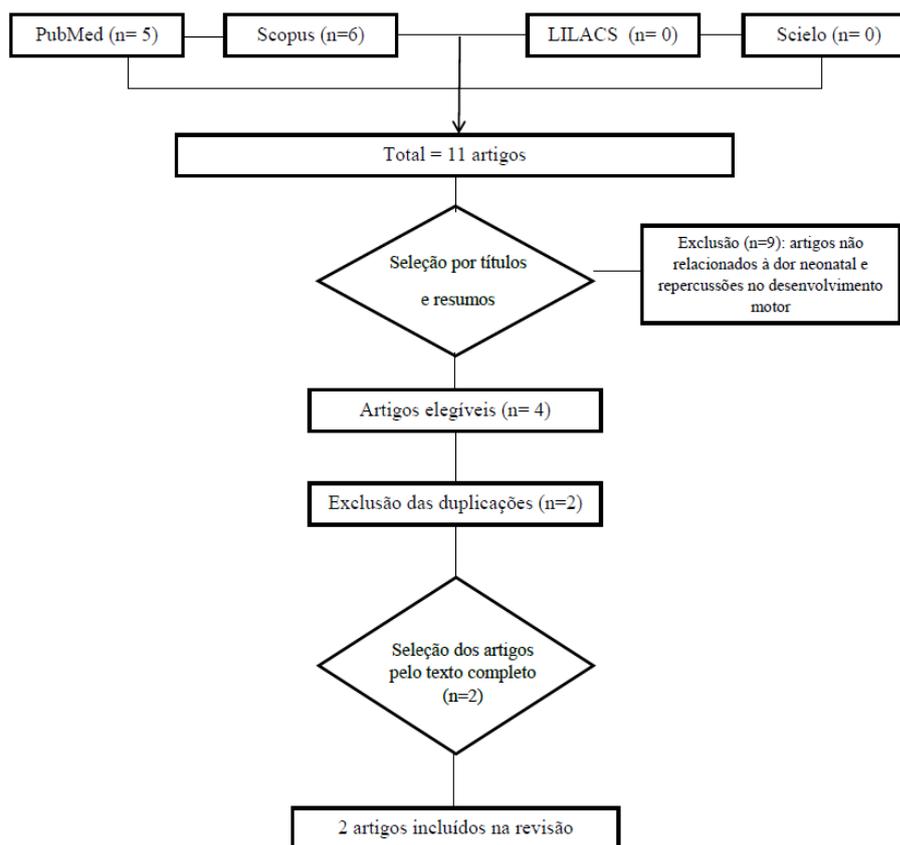


Figura 1. Fluxograma da busca nas bases de dados.

Registros em prontuários foram analisados e os seguintes dados foram extraídos: desenvolvimento motor e cognitivo (Grunau *et al.*, 2006; Grunau *et al.*, 2009), medidas de reação à dor, qualidade da atividade motora, estado de alerta (Grunau *et al.*, 2006; Grunau *et al.*, 2009), estresse parental e interação entre pais e crianças (Grunau *et al.*, 2009). Reação à dor, qualidade da atividade motora e desenvolvimento motor foram considerados diretamente relacionados à nocicepção e habilidades motoras. Os instrumentos utilizados para mensurar estes parâmetros, bem como os desfechos encontrados são descritos na Tabela 1.

Em ambos os estudos, a 2ª edição da Escala de Desenvolvimento Infantil de Bayley (BSID-II) foi utilizada para mensurar o desenvolvimento psicomotor e cognitivo das crianças (Grunau *et al.*, 2006; Grunau *et al.*, 2009). No estudo mais recente (Grunau *et al.*, 2009), os índices relacionados ao desenvolvimento psicomotor (PDIs) avaliados aos 8 e 18 meses foram inversamente proporcionais ao número de procedimentos invasivos durante o período neonatal. Adicionalmente, o índice de desenvolvimento mental (MDI) das crianças com 18 meses também foi negativamente influenciado pela repetição de procedimentos invasivos na UTIN.

Em contraste, o primeiro estudo (Grunau *et al.*, 2006) mostrou correlação não significativa entre o nível do BSID-II e as medidas de reação à dor (comportamental e autonômica). Contudo, outro instrumento, denominado Avaliação dos Movimentos da Criança (MAI), foi utilizado para mensurar a qualidade da atividade motora da criança em 3 fases distintas do crescimento (32 semanas pós-gestacionais, 4 meses e 8 meses de idade). Esta escala possui 4 componentes (tônus muscular, reflexos primitivos, reações automáticas e movimentos voluntários eliciados) que foram mensurados.

Após avaliações, uma correlação inversa foi encontrada entre risco de desenvolvimento anormal aos 8 meses (escores elevados na escala MAI, alterações do tônus muscular e presença de reflexos primitivos) e respostas comportamentais à dor foram detectadas. Reações autonômicas durante coleta de sangue (estímulo doloroso) foram representadas pela relação direta entre atividade elétrica cardíaca e a integração de reflexos primitivos apresentados por crianças aos 4 meses (Grunau *et al.*, 2006).

A avaliação metodológica desses estudos foi conduzida a partir da *Newcastle-Ottawa Quality Assessment Scale* (NOS) (Wells *et al.*, 2011). O alto risco de viés dos estudos incluídos resultou da seleção da coorte não-exposta, mostrando que o desfecho de interesse não foi representado no início do estudo (Grunau *et al.*, 2006; Grunau *et al.*, 2009), e para a comparabilidade da coorte baseada no desenho e análise (Grunau *et al.*, 2006).

Similarmente a estes resultados, estudo mostra que crianças prematuras submetidas a estímulos dolorosos apresentam redução da maturação da substância branca subcortical e da mielinização de vias descendentes (Brummelte *et al.*, 2012), o que pode resultar em pior desenvolvimento motor durante a infância.

A baixa qualidade e o número reduzido de artigos publicados torna difícil a elaboração de conclusões ou a confirmação de hipóteses sobre este tema. Contudo, baseando-se nos dados extraídos destes estudos, é possível sugerir que a dor neonatal influencia o desenvolvimento motor desde os primeiros dias de vida até a primeira infância (18 meses). Isto indica a importância de adequar a mensuração e o manejo da dor em UTINs, a fim de evitar complicações futuras relacionadas a performance motora. Além disto, são escassas as evidências acerca dos efeitos da dor neonatal a longo prazo, ou seja, em fases mais tardias da infância, adolescência e fase adulta, o que reforça a importância da realização de pesquisas nesta área.

Tabela 1. Características dos estudos incluídos

Autor/ Ano	Amostra	Estímulo doloroso	Período de avaliação	Variáveis	Instrumentos de avaliação	Desfechos
Grunau et al., 2006	35 bebês pretermo	Coleta de sangue	32 semanas pós- natal 4 meses 8 meses	Qualidade da atividade motora	MAI	Aos 8 meses: correlação inversa entre reações à dor e desenvolvimento motor anormal, tônus muscular e reflexos primitivos ($r \geq 0,47$; $p \leq 0,004$)
				Desenvolvi- mento motor e cognitivo	BSID-II	Aos 4 e 8 meses: Não há correlação entre dor e índice de desenvolvimento motor (MDI) e cognitivo (PDI)
				Expressão facial (reação comportam- ental à dor)	NFCS	Aos 4 meses: correlação inversa entre expressão facial e movimentos voluntários eliciados (MAI) ($r = -0,42$; $p = 0,03$)
				Atividade eletrocardio- gráfica (reatividade autônômica à dor)	ECG	Aos 8 meses: Atividade cardíaca diretamente relacionada à integração de reflexos primitivos ($r = 0,52$; $p = 0,07$)
Grunau et al., 2009	211 bebês pretermo ($n = 137$) e a termo ($n = 74$)	Procedimentos invasivos na pele	8 meses 18 meses	Desenvolvi- mento motor e cognitivo	BSID-II	Aos 8 e 18 meses: relação inversa entre o número de procedimentos invasivos e o MDI. ($\beta \geq 0,33$; $p \leq 0,016$)
						Aos 18 meses: Relação inversa entre o número de procedimentos invasivos e PDI ($\beta = \geq 0,34$; $p \leq 0,012$)

BSID-II: Escala Bayley de Desenvolvimento Infantil 2ª Edição; ECG: eletrocardiograma; MAI: Avaliação dos Movimentos da Criança; MDI: Índice de Desenvolvimento Mental; NFCS: Sistema de Codificação da Atividade Facial Neonatal; PDI: Índice de Desenvolvimento Psicomotor

Estudos futuros que investiguem desfechos motores (aquisição de habilidades motoras, coordenação e performance motora, por exemplo) ao longo do tempo em neonatos que receberam ou não estímulo nociceptivo devem controlar fatores que geram viés, tais como a influência do contato parental e o ambiente. Faz-se importante também a investigação da correlação entre a intensidade e o número de procedimentos dolorosos realizados em UTINs com o desenvolvimento motor em estágios tardios da infância.

ISABELA F. AZEVEDO-SANTOS, PT, MSC,*

LUCAS V. LIMA, PT, MSC,* JOSIMARI M. DESANTANA, PT, PHD*^{†,‡}

**Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde;*

†Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas

‡Departamento de Fisioterapia, Aracaju, SE

Universidade Federal de Sergipe, Brasil

BRUMMELTE, S. et al. Procedural pain and brain development in premature newborns. **Annals of neurology**, v. 71, n. 3, p. 385-396, 2012. ISSN 1531-8249.

FITZGERALD, M. The development of nociceptive circuits. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 6, n. 7, p. 507-520, 2005. ISSN 1471-003X.

GRUNAU, R. E. et al. Biobehavioural reactivity to pain in preterm infants: a marker of neuromotor development. **Developmental Medicine & Child Neurology**, v. 48, n. 06, p. 471-476, 2006. ISSN 1469-8749.

GRUNAU, R. E. et al. Neonatal pain, parenting stress and interaction, in relation to cognitive and motor development at 8 and 18 months in preterm infants. **Pain**, v. 143, n. 1, p. 138-146, 2009. ISSN 0304-3959.

LIDOW, M. S. Long-term effects of neonatal pain on nociceptive systems. **Pain**, v. 99, n. 3, p. 377-383, 2002. ISSN 0304-3959.

PAPALIA, D. E.; FELDMAN, R. D. **Desenvolvimento humano**. Artmed Editora, 2013. ISBN 8580552176.

SANADA, L. S. et al. Cortex glial cells activation, associated with lowered mechanical thresholds and motor dysfunction, persists into adulthood after neonatal pain. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 35, p. 55-63, 2014. ISSN 0736-5748.

SCHWALLER, F.; FITZGERALD, M. The consequences of pain in early life: Injury-induced plasticity in developing pain pathways. **European journal of neuroscience**, v. 39, n. 3, p. 344-352, 2014. ISSN 1460-9568.

VALERI, B. O.; HOLSTI, L.; LINHARES, M. B. Neonatal pain and developmental outcomes in children born preterm: a systematic review. **The Clinical journal of pain**, v. 31, n. 4, p. 355-362, 2015. ISSN 0749-8047.

WALKER, S. M. Biological and neurodevelopmental implications of neonatal pain. **Clinics in perinatology**, v. 40, n. 3, p. 471-491, 2013. ISSN 0095-5108.

WELLS, G. et al. **The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for assessing the quality of nonrandomised studies in meta-analyses**. Ottawa: Ottawa Hospital Research Institute; 2011: oxford. asp 2011.

Capítulo 2

**INFLUÊNCIA DA SACAROSE NAS FUNÇÕES SENSITIVA E MOTORA EM
MODELO EXPERIMENTAL DE DOR NEONATAL**

Artigo submetido na *International Journal of Developmental Neuroscience*

Conceito Qualis B1 na Medicina I

Fator de impacto 2,046

(ANEXO B)

RESUMO

Introdução: Recém-nascidos pré-termo são constantemente expostos a procedimentos dolorosos em Unidades de Terapia Intensiva. Apesar disto, as repercussões da dor neonatal em longo prazo e o uso da sacarose como analgésico para dores relacionadas a estes procedimentos são pouco difundidas. **Objetivo:** Avaliar os efeitos da sacarose nas funções sensitiva e motora em modelo experimental de dor neonatal desde o nascimento à fase adulta e verificar o papel do dimorfismo sexual na dor neonatal e suas repercussões em curto e longo prazos. **Método:** Estudo experimental realizado em ratos filhotes (n=38; 18 machos e 20 fêmeas) submetidos ao modelo experimental de dor neonatal. Os animais foram divididos em quatro grupos: 1) Estimulação tátil nociva + intervenção com sacarose (n=9; 5 machos e 4 fêmeas); 2) Estimulação tátil nociva + intervenção com morfina (n=9; 5 machos e 4 fêmeas); 3) Estimulação tátil nociva + intervenção com água potável (n=9; 3 machos e 6 fêmeas); 4) Controle (estimulação tátil não-nociva) (n=11; 5 machos e 6 fêmeas). Foram avaliados latência térmica (placa quente), limiar de retirada da pata (filamentos von Frey), força muscular (*grip strenght meter*) e velocidade de deslocamento (monitor de atividades) aos 15, 30, 60 e 90 dias pós-natais. Nos dias 32, 62 e 92, o modelo experimental de dor neonatal foi reinduzido nestes animais, sendo em seguida reavaliadas a latência térmica e limiar de retirada da pata. **Resultados:** Houve maior latência térmica aos 15 dias nos animais machos do grupo sacarose e menor latência em fêmeas tratadas com sacarose aos 60 dias em relação ao grupo controle. Houve maior limiar de retirada da pata nos animais dos grupos morfina, água e sacarose em relação ao controle. Foram observadas diminuição da latência térmica e do limiar de retirada da pata, aumento da força de preensão e redução da velocidade ao longo do tempo em todos os grupos. Na comparação entre os sexos, evidenciou-se que a partir dos 60 dias pós-natais os animais dos grupos sacarose apresentaram maior latência térmica (machos em relação às fêmeas) e maior velocidade de deslocamento (fêmeas em relação aos machos). Nos grupos morfina e controle, houve maior limiar de retirada da pata em fêmeas e machos, respectivamente. Não houve diferença entre os sexos nos demais grupos. **Conclusão:** Sugere-se que a sacarose e morfina possuem efeitos analgésico em curto prazo e anti-hiperalgésico em longo prazo. Recomenda-se a realização de novos estudos para melhor esclarecer os efeitos da sacarose e suas repercussões dependentes do sexo ao longo da vida.

Descritores: Dor; Recém-nascido; Desenvolvimento infantil; Sacarose.

1. INTRODUÇÃO

Recém-nascidos pré-termo, ou seja, crianças nascidas antes de 37 semanas gestacionais, apresentam maior risco de complicações no período neonatal (Organização Mundial Da Saúde, 2016). Estes bebês são frequentemente encaminhados para Unidades de Terapia Intensiva Neonatal (UTINs), sendo diariamente expostos a vários procedimentos dolorosos (Anand *et al.*, 1999), como punção venosa, retirada de curativos, intubação e extubação traqueal, dentre outras (Carbajal *et al.*, 2008).

Apesar de evidências mostrarem que a dor neonatal é prejudicial ao desenvolvimento infantil (Grunau, 2013), apenas um terço das medidas analgésicas são realizadas de maneira correta (Simons *et al.*, 2003), resultando em dor aguda, dor crônica e estresse prolongado durante uma janela crítica associada ao desenvolvimento cerebral (Anand, 2000). Como consequência deste manejo inadequado, a dor persistente nos primeiros dias de vida pode acarretar em choro, distúrbio do sono ou do estado de vigília, aumento do consumo de oxigênio, alteração da ventilação-perfusão e aumento da acidez gástrica em curto prazo (Sweet e Mcgrath, 1998; Asmerom *et al.*, 2013). Já em longo prazo, a dor pode acarretar em respostas exageradas à dor na infância tardia (memória de dor) (Taddio *et al.*, 1997; Grunau *et al.*, 2009).

Atualmente, as intervenções para a atenuação da experiência dolorosa em recém-nascidos dentro das UTINs são divididas em farmacológicas e não farmacológicas (Walker, 2014). Dentre os fármacos utilizados, os opioides são os fármacos de escolha para analgesia de dores de intensidade moderada a grave, sendo também utilizados benzodiazepínico, anestésico local, dentre outros (Nandi e Fitzgerald, 2005; American Academy of Pediatrics, 2016). Contudo, os efeitos negativos em longo prazo destas substâncias, tais como atraso motor, cognitivo e depressão respiratória, já estão bem esclarecidos na literatura (De Graaf *et al.*, 2011; Walker, 2014; American Academy of Pediatrics, 2016).

Como intervenção não farmacológica, a sacarose intraoral vem sendo amplamente utilizada e tem se mostrado eficaz no controle da dor de recém-nascidos, principalmente para a dor associada a procedimentos de rotina (Anand, 2000; Stevens *et al.*, 2016). Sua eficiência vem sendo comparada aos efeitos gerados pelo aleitamento materno durante procedimentos dolorosos, seja durante a amamentação ou através da mamadeira (Simons *et al.*, 2012), além de ser estudada em associação com outras intervenções não farmacológicas, como o calor radiante (Gray *et al.*, 2015) e a sucção não-nutritiva (Liu *et al.*, 2017).

Os efeitos da sacarose em curto prazo como analgesia, redução do choro e taquicardia (Haouari *et al.*, 1995; Blass, 1997; Stevens *et al.*, 2016) já estão bem estabelecidos na literatura. A ação analgésica da sacarose pode ser explicada pela estimulação da via gustativa ascendente, iniciada com o reconhecimento do sabor adocicado pelas papilas gustativas, condução do estímulo pelos nervos intermédio/facial e glossofaríngeo até o tronco cerebral, tálamo, córtex insular, hipotálamo e amígdala (Anseloni *et al.*, 2005; Damiani e Damiani, 2011). Após a chegada do estímulo gustativo nos centros superiores, ocorre a ativação de receptores opioides na substância cinzenta periaquedutal, porção rostroventromedial do bulbo, núcleo magno da rafe e corno dorsal da medula espinhal (Gibbins e Stevens, 2001; Anseloni *et al.*, 2005), e de receptores GABA-A benzodiazepínicos no tronco encefálico e globo pálido (Bhattacharjee e Mathur, 2005). Com isto, é estabelecido o mecanismo de analgesia imediatamente após o contato da sacarose com a cavidade oral (Meesters *et al.*, 2017).

O efeito em longo prazo da sacarose administrada via oral no desenvolvimento cerebral foi estudado recentemente em pesquisa experimental desenvolvida por Tremblay *et al.* (2017), considerado o primeiro estudo sobre esta temática. Nele, foi evidenciado que a sacarose não promove proteção neural ao longo do tempo, ocorrendo redução da substância branca no corpo caloso, estria terminal do tálamo e fímbria do hipocampo, assim como da substância cinzenta cortical e subcortical no hipocampo e cerebelo. Estes dados foram observados em filhotes machos e fêmeas, o que reforça a importância do estudo do dimorfismo sexual e a influência deste no efeito analgésico da sacarose.

Apesar da constatação do efeito reverso da sacarose no desenvolvimento cerebral, novos estudos em modelos experimentais de dor são necessários, a fim de esclarecer as controvérsias quanto aos efeitos desta substância em curto e longo prazos, apresentadas tanto em estudos clínicos como pré-clínicos. A fim de contribuir com dados acerca desta lacuna científica, o presente estudo tem o objetivo de avaliar os efeitos da sacarose nas funções sensitiva e motora, comparando ao uso da morfina ou água potável, em modelo experimental de dor neonatal em machos e fêmeas desde o nascimento à fase adulta.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Animais

Trata-se de um estudo experimental, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal de Sergipe (CEPA/UFS), nº 39/2015 (ANEXO C). Foram utilizados 38 ratos *Wistar* filhotes de ambos os sexos (18 machos e 20 fêmeas), provenientes do Biotério do Laboratório de Pesquisa em Neurociências da Universidade Federal de Sergipe (LAPENE/UFS), os quais foram mantidos em mini isoladores de polisulfona, num ciclo claro-escuro de 12 h e temperatura de $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ com livre acesso à ração e água. O protocolo experimental foi realizado de acordo com as regras do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP) e Sociedade Brasileira de Ciências em Animais de Laboratório (SBCAL).

Os animais foram submetidos ao modelo experimental de dor neonatal, que consiste na estimulação tátil e nociva através da ponta de uma agulha (calibre 25). Esta estimulação foi realizada a partir da inserção rápida da agulha na face plantar e lateral da pata traseira direita do animal, duas vezes ao dia, durante os primeiros 15 dias de vida (Anand *et al.*, 1999; Knaepen *et al.*, 2012; Sanada *et al.*, 2014). A fim de manter a padronização, as estimulações foram realizadas por um mesmo investigador, com agulha previamente marcada na região considerada limite para inserção na pata do animal.

Os animais do grupo controle foram submetidos à estimulação tátil através de hastes flexíveis com ponta algodoadada na mesma região e com a mesma intensidade, frequência e duração que os animais do grupo hiperalgesia (Anand *et al.*, 1999; Sanada *et al.*, 2014). Os animais controle permaneceram em caixas isoladas dos demais para evitar indução de hiperalgesia por meio de empatia. A padronização da indução foi mantida, sendo os animais controle estimulados pelo mesmo investigador que manejou os demais animais.

2.2. Intervenção e grupos experimentais

As intervenções realizadas foram do tipo não farmacológica (sacarose a 25% ou água potável) e farmacológica (administração de morfina). Dessa forma, os animais foram separados em quatro grupos: 1) Estimulação tátil nociva associada à intervenção com sacarose (n=9; 5 machos e 4 fêmeas); 2) Estimulação tátil nociva associada à intervenção com morfina (n=9; 5 machos e 4 fêmeas); 3) Estimulação tátil nociva

associada à intervenção com água potável (n=9; 3 machos e 6 fêmeas); 4) Controle (estimulação tátil não-nociva) (n=11; 5 machos e 6 fêmeas).

O tratamento com sacarose utilizou a solução com concentração de 250 g/L, em que 500 μ L que foram aplicados via oral através de uma micropipeta para ingestão do líquido pelo animal, duas vezes ao dia, 5 minutos antes da indução da hiperalgesia, por 15 dias consecutivos. No grupo água potável, ao invés da solução de sacarose, foram utilizados 500 μ L dessa substância, de forma semelhante nos animais (De Freitas *et al.*, 2012).

Nos animais alocados no grupo exposto à intervenção farmacológica, foram aplicados 5 μ g de sulfato de morfina (Dimorf[®] 10 mg/mL, Cristália, Itapira, São Paulo, Brasil) através de injeção subcutânea na região média escapular do dorso do animal, uma vez ao dia, 10 min antes da indução da hiperalgesia (Bhutta *et al.*, 2001; Rozisky *et al.*, 2008) por 15 dias consecutivos. Um mililitro (1 mL) de sulfato de morfina foi diluído em 9 mL de salina 0,9% (Rozisky *et al.*, 2008).

Nos dias 32, 62 e 92 após o nascimento, foi realizada a reindução do modelo experimental de dor neonatal. Os grupos tratados com sacarose, morfina ou água foram ressubmetidos à estimulação hiperalgésica, enquanto os animais do grupo controle foram estimulados com a ponta algodoadada de hastes flexíveis. Não foi realizada administração do tratamento nestes momentos de reindução, a fim de verificar as respostas comportamentais diante da reexposição à hiperalgesia em momento tardio do desenvolvimento sensório-motor (memória da dor).

2.3. Avaliação Comportamental

A avaliação comportamental foi realizada de forma mascarada dos 16 aos 90 dias pós-natais, conforme apresentado na Figura 2. Foram analisadas as funções sensitiva (limiar de retirada da pata e latência térmica), motora (velocidade de deslocamento e força muscular). O mesmo investigador foi responsável pela avaliação comportamental de todos os grupos de estudo em todos os tempos de avaliação.

2.3.1. Hiperalgesia Mecânica

A princípio, os animais foram aclimatados em suas caixas por um tempo de 30 minutos na sala de comportamento. Logo após, foram aclimatados para familiarização no aparato (gaiolas de acrílico transparente sobre tela metálica elevada), no qual a avaliação do limiar de retirada da pata foi realizada. Os animais foram igualmente testados para

respostas a estímulos mecânicos primário utilizando os filamentos Von Frey. Previamente ao início do protocolo experimental, o mesmo investigador realizou calibração em balança de precisão, a fim de obter valores exatos de força para a estimulação com cada filamento, sendo estas 45, 55, 59, 107, 176, 284, 480, 578, 725 mN. Estes filamentos foram aplicados individualmente e perpendicularmente à superfície plantar das patas traseiras de forma crescente. A menor força de flexão a que o animal respondeu levantando sua pata, foi registrada como o limiar de retirada da pata e interpretada como hiperalgesia mecânica primária (Gopalkrishnan e Sluka, 2000).

2.3.2. *Hiperalgesia Térmica*

A hiperalgesia térmica foi avaliada com o auxílio da placa quente (*hot plate*) (modelo EFF-361, *Insight*®, Ribeirão Preto, SP, Brasil), a qual fora mantida a uma temperatura em torno de 50°C. O animal, ao ser colocado nesse aparato, teve um tempo de corte de 20 segundos para manifestar alguma reação de proteção, como: lamber a(s) pata(s) dianteira(s) ou traseira(s), ou ainda, pular. O tempo e a primeira reação de proteção foram anotados e, posteriormente, analisados como latência de retirada da pata (Tita *et al.*, 2001).

2.3.3. *Força de Preensão*

Os efeitos na força de preensão dos filhotes foram avaliados através do *Grip Strength Meter* (modelo EFF 305, *Insight*®, Ribeirão Preto, SP, Brasil). O teste se baseia na tendência natural do animal agarrar uma grade quando suspenso pela cauda. Alterações na força de preensão têm sido interpretadas como evidências de aumento ou redução da força muscular (Maurissen *et al.*, 2003). O teste foi realizado em um animal por vez, sendo obtidas, para cada animal, três medidas com intervalo de 5 minutos entre as mensurações. Foi considerada a média das três medidas de cada animal.

2.3.4. *Atividade Locomotora*

A atividade locomotora foi avaliada através de um *software* (monitor de atividades). Os animais foram colocados individualmente em um cubo de acrílico e foram avaliados durante 5 minutos, sendo que os 15 primeiros segundos corresponderam ao tempo de habituação do mesmo (Monitor de Atividades, *Insight*®, Ribeirão Preto, SP, Brasil). A câmara de atividades é equipada com fotocélulas e 16 vigas de luz

infravermelha que registram os dados através de um *software* (Monitor de Atividades, *Insight*®, Ribeirão Preto, SP, Brasil) capaz de detalhar trajetória percorrida, velocidade e duração dos movimentos feitos pelo animal. Com este recurso, foi analisada a velocidade da marcha de cada animal (Brys *et al.*, 2014).

2.4. Delineamento experimental

Os animais foram acompanhados desde o nascimento (D0) até os três meses de vida (D92). Do nascimento (D0) ao décimo quinto dia (D15), foi realizada diariamente a estimulação tátil nociva (modelo experimental de dor neonatal), administração de sacarose intraoral (tratamento), morfina (controle positivo) ou água potável (controle negativo) e realizada a estimulação tátil não nociva do grupo controle. Nos dias 3 (D3) e 21 (D21), foram feitos, respectivamente, a sexagem e o desmame dos animais.

A avaliação através dos testes comportamentais ocorreu em dois dias consecutivos a partir do 16º dia (D16) pós-natal, repetindo-se 30, 60, e 90 dias após o nascimento. No primeiro dia de cada período de avaliação (D16, D30, D60, D90) foram realizadas as avaliações referentes à hiperalgesia mecânica primária e hiperalgesia térmica. Já no segundo dia de avaliação (D17, D31, D61, D91), foram avaliadas a atividade locomotora e força de preensão. Nos dias 32, 62 e 92 (D32, D62 e D92), os animais foram reinduzidos (modelo experimental foi repetido) e reavaliados baseando-se nas variáveis sensoriais (limiar de retirada e latência da pata), a fim de analisar a memória de dor. A figura 2 representa a linha de tempo deste protocolo experimental.

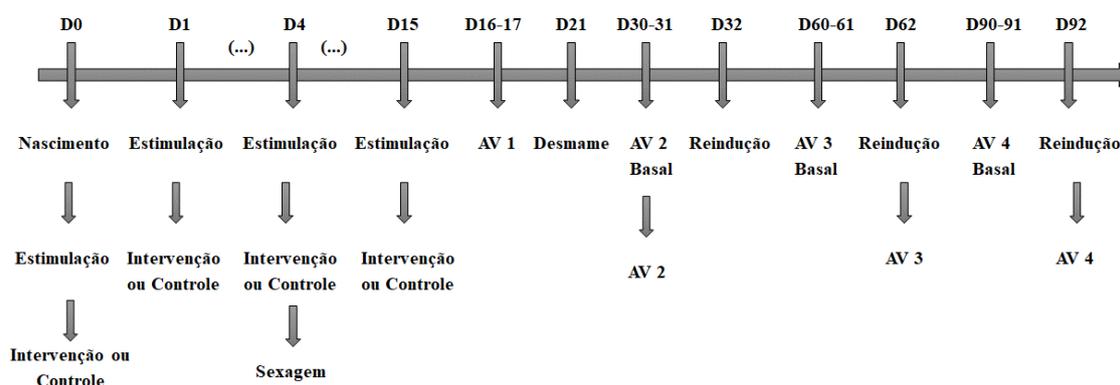


Figura 2. Delineamento do protocolo experimental. D=dia; AV= avaliação.

2.5. Análise Estatística

Os dados foram analisados com a utilização do *software SigmaPlot 12.5*[®] (*Systat Software Inc.*, Califórnia, EUA) e representados em média e erro padrão da média (EPM). Foi realizada análise intragrupo e intergrupo utilizando o teste ANOVA de 3 vias para medidas independentes seguido de *post hoc* de Holm-Sidak, considerando os fatores grupo, sexo e tempo em cada uma das variáveis mensuradas. Em caso de não interação entre estes 3 fatores, foi realizado o teste ANOVA de 2 vias para medidas independentes seguido de *post hoc* de Holm-Sidak, considerando a combinação de 2 fatores (grupo vs. sexo, grupo vs. tempo e/ou sexo vs. tempo). Os dados com valor de $p \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

3. RESULTADOS

3.1. Hiperalgisia Térmica

Verificou-se que não houve interação entre os fatores grupo, sexo e tempo para a variável latência térmica ($p=0,38$; $F=1,075$), sendo evidenciada apenas interação entre os fatores grupo e tempo na análise bicaudal ($p<0,001$; $F=2,607$). Não houve diferença entre machos e fêmeas para esta variável ($p\geq 0,1$; $F=3,026$).

A latência térmica foi maior aos 15 dias pós-natais nos grupos sacarose, morfina e água quando comparado ao grupo controle ($p\leq 0,01$; $F=2,607$) (Figura 3). Na comparação intragrupo, foi evidenciada maior latência aos 15 dias nos animais dos grupos sacarose, morfina e água em relação aos demais tempos de avaliação ($p\leq 0,04$; $F=2,60$) (Figura 4). Constatou-se, ainda, menor latência nos dias 62 e 90 nos grupos que receberam água e morfina, respectivamente, quando comparados ao dia 30 após o nascimento ($p\leq 0,04$; $F=2,60$) (Figura 4).

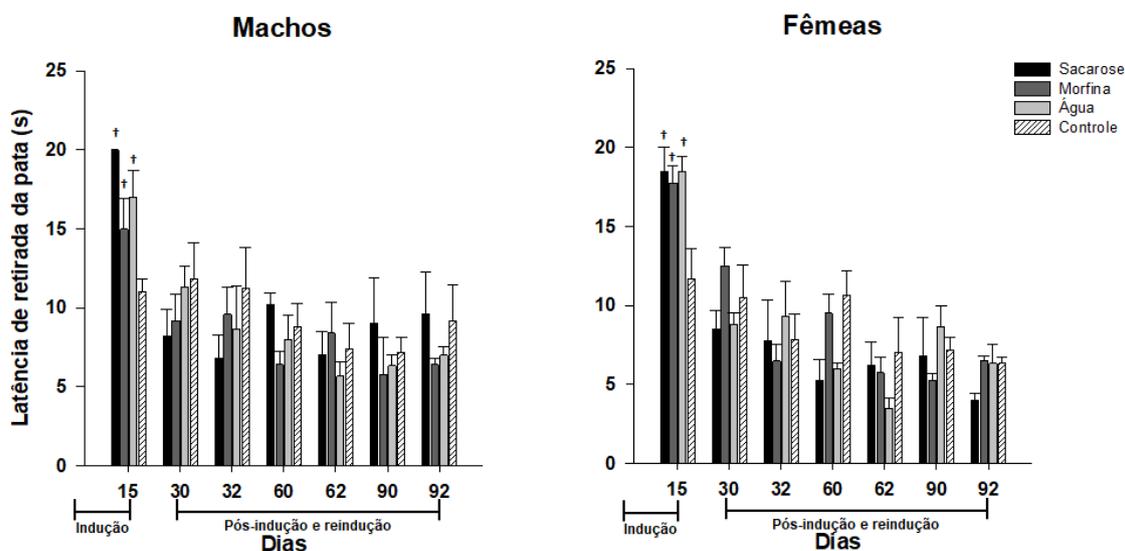


Figura 3. Latência de retirada da pata (s) nos grupos avaliados após indução e reindução do modelo experimental de dor neonatal. † $p\leq 0,01$ em relação ao grupo controle. ANOVA de 2 vias para medidas independentes + post-hoc Holm-Sidak. Dados representados em média \pm erro padrão da média.

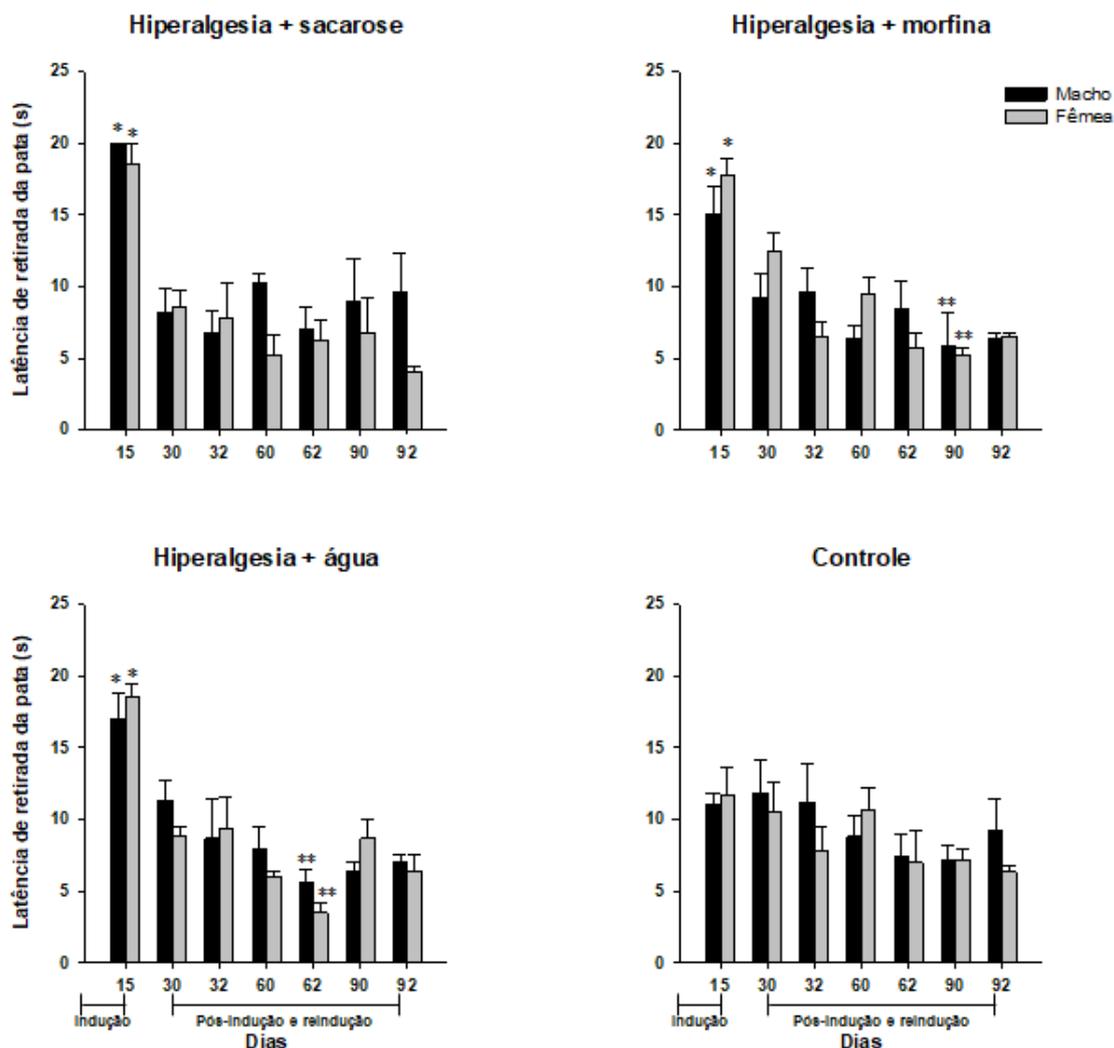


Figura 4. Latência de retirada da pata (s) nos grupos avaliados após indução e reindução do modelo experimental de dor neonatal. * $p \leq 0,04$; $F=2,06$ em relação aos demais tempos de avaliação. ** $p \leq 0,04$; $F=2,60$ em relação aos 30 dias pós-natais. ANOVA de 2 vias para medidas independentes + post-hoc Holm-Sidak. Dados representados em média \pm erro padrão da média.

3.2. Hiperalgnesia Mecânica Primária

Não houve interação entre os fatores tempo, sexo e grupo quanto ao limiar de retirada da pata ($p=0,947$; $F=0,521$). Não foi evidenciada diferença entre os sexos ($p=0,43$; $F=0,604$), sendo realizados testes de comparação entre os fatores grupo vs. sexo ($p=0,009$; $F=3,974$) e grupo vs. tempo ($p < 0,001$; $F=3,009$).

Aos 15 dias pós-natais, os animais do grupo sacarose de ambos os sexos apresentaram maior limiar de retirada da pata quando comparado aos demais grupos ($p \leq 0,005$; $F=3,009$) (Figura 5). No dias 62 e 90, o grupo controle de ambos os sexos apresentou maior limiar do que os demais grupos avaliados ($p \leq 0,03$; $F=3,009$) (Figura 5).

A figura 6 demonstra os valores do limiar em cada grupo de estudo. Houve menor limiar nos dias 32 e 62 nos animais de ambos os sexos do grupo sacarose quando comparados aos 15 dias de vida ($p \leq 0,04$; $F=3,009$). No grupo controle, houve maior limiar aos 90 dias quando comparado aos demais tempos de avaliação ($p \leq 0,04$; $F=3,009$).

Na interação entre grupos e sexo, foi evidenciada diferença entre machos e fêmeas apenas no grupo controle. Os animais machos apresentaram maior limiar do que as fêmeas dos 32 aos 92 dias pós-natais, excetuando apenas os valores coletados no dia 30 que demonstraram menor limiar dos animais machos quando comparado ao sexo oposto ($p=0,001$; $F=3,974$) (Figura 6).

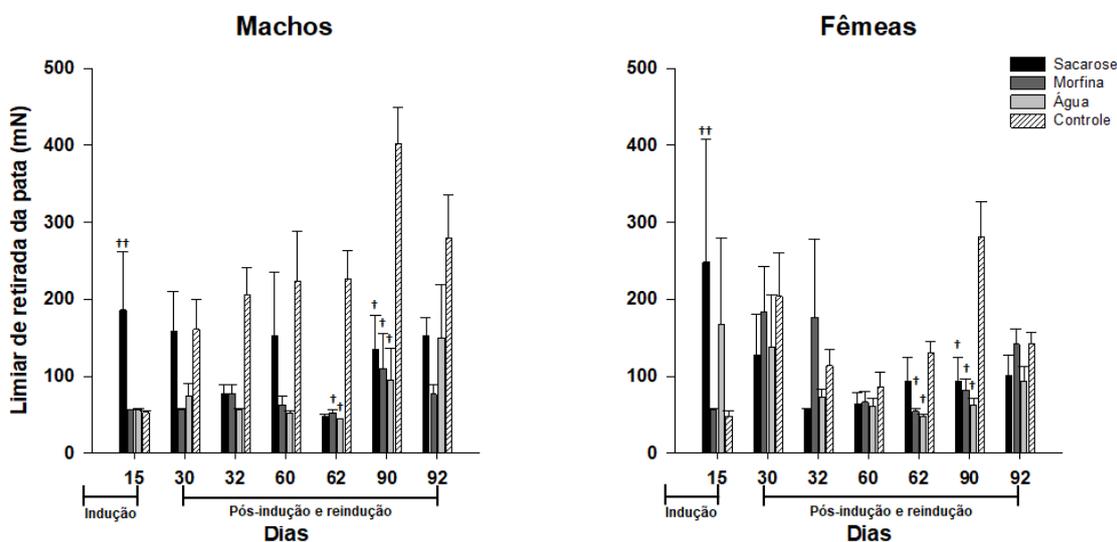


Figura 5. Limiar de retirada da pata (mN) nos grupos avaliados após indução e reindução do modelo experimental de dor neonatal. † $p \leq 0,03$; $F=3,009$ em relação ao grupo controle. †† $p \leq 0,005$; $F=3,009$ em relação aos demais grupos. ANOVA de 2 vias para medidas independentes + post-hoc Holm-Sidak. Dados representados em média \pm erro padrão da média.

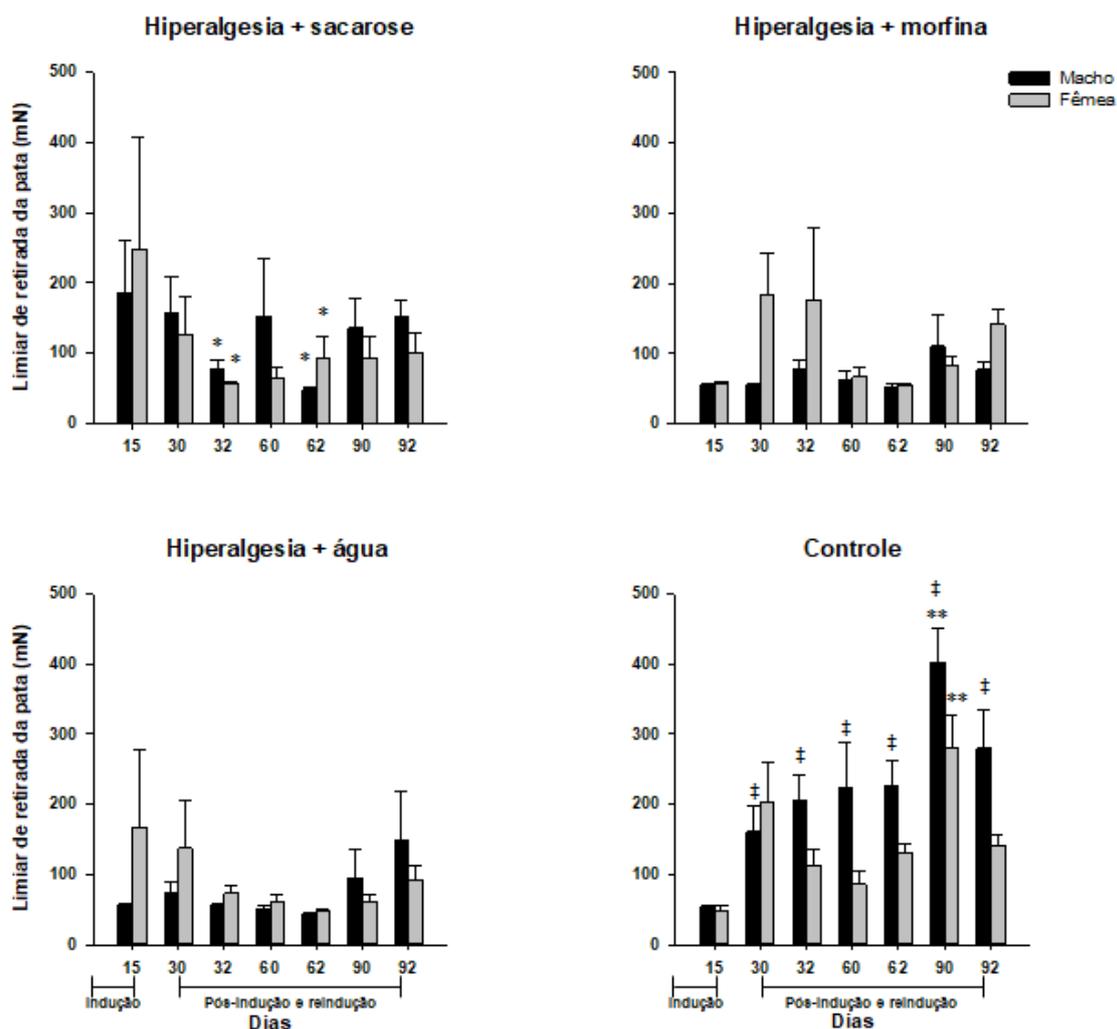


Figura 6. Limiar de retirada da pata (mN) nos grupos avaliados após indução e reindução do modelo experimental de dor neonatal. * $p \leq 0,04$; $F=3,009$ em relação aos 15 dias pós-natais. ** $p \leq 0,04$; $F=3,009$ em relação aos demais tempos de avaliação. ‡ $p=0,001$; $F=3,974$ em relação às fêmeas. ANOVA de 2 vias para medidas independentes + post-hoc Holm-Sidak. Dados representados em média \pm erro padrão da média.

3.3. Velocidade de deslocamento

Não foi evidenciada interação entre os fatores grupo, sexo e tempo quanto à velocidade de deslocamento ($p=0,77$; $F=0,54$). Houve interação entre os fatores grupo e tempo ($p=0,046$; $F=2,23$) e não houve diferença entre machos e fêmeas ($p \geq 0,09$; $F=0,695$).

Aos 30 dias pós-natais, os animais do grupo sacarose de ambos os sexos apresentaram maior velocidade de deslocamento em comparação aos demais grupos ($p \leq 0,03$; $F=2,23$). A velocidade também foi maior no grupo sacarose aos 60 dias quando comparada ao controle ($p=0,01$; $F=2,23$) (Figura 7).

Na análise intragrupo, foi constatado que os animais dos grupos sacarose e controle apresentavam menores valores de velocidade e deslocamento aos 90 dias quando comparado aos dias 30 (sacarose e controle) e 60 (sacarose) ($p \leq 0,03$; $F=2,23$) (Figura 8).

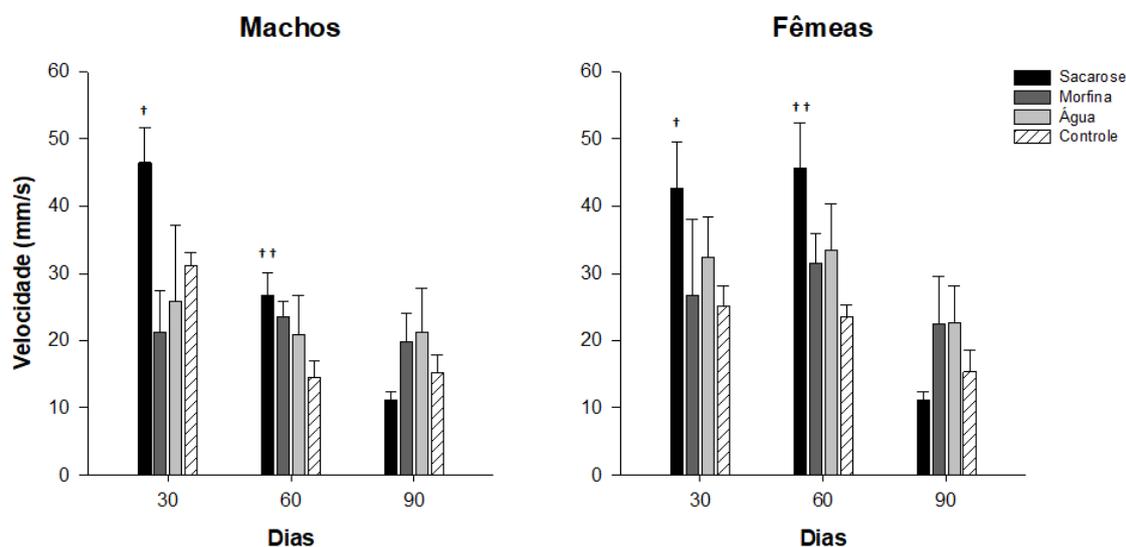


Figura 7. Velocidade de deslocamento (mm/s) nos grupos avaliados após indução do modelo experimental de dor neonatal. † $p \leq 0,03$; $F=2,23$ em relação aos grupos morfina, água e controle. †† $p=0,01$; $F=2,23$ em relação ao grupo controle. ANOVA de 2 vias para medidas independentes + post-hoc Holm-Sidak. Dados representados em média \pm erro padrão da média (EPM).

3.4. Força de preensão

Houve interação entre os fatores sexo, tempo e grupo quanto à força de preensão ($p=0,002$; $F=3,874$). Não foi encontrada diferença entre os tipos de tratamento ($p \geq 0,95$; $F=0,885$).

Ao longo do tempo, houve aumento da força de preensão nos animais de todos os grupos e ambos os sexos ($p=0,001$; $F=14,61$), sendo os valores referentes aos dias 60 e 90 maiores do que aqueles do primeiro mês de vida (Figura 9). Quanto ao sexo, houve maior força entre os animais machos dos grupos controle e morfina aos 60 e 90 dias pós-natais ($p \leq 0,03$; $F=280,87$), respectivamente (Figura 9).

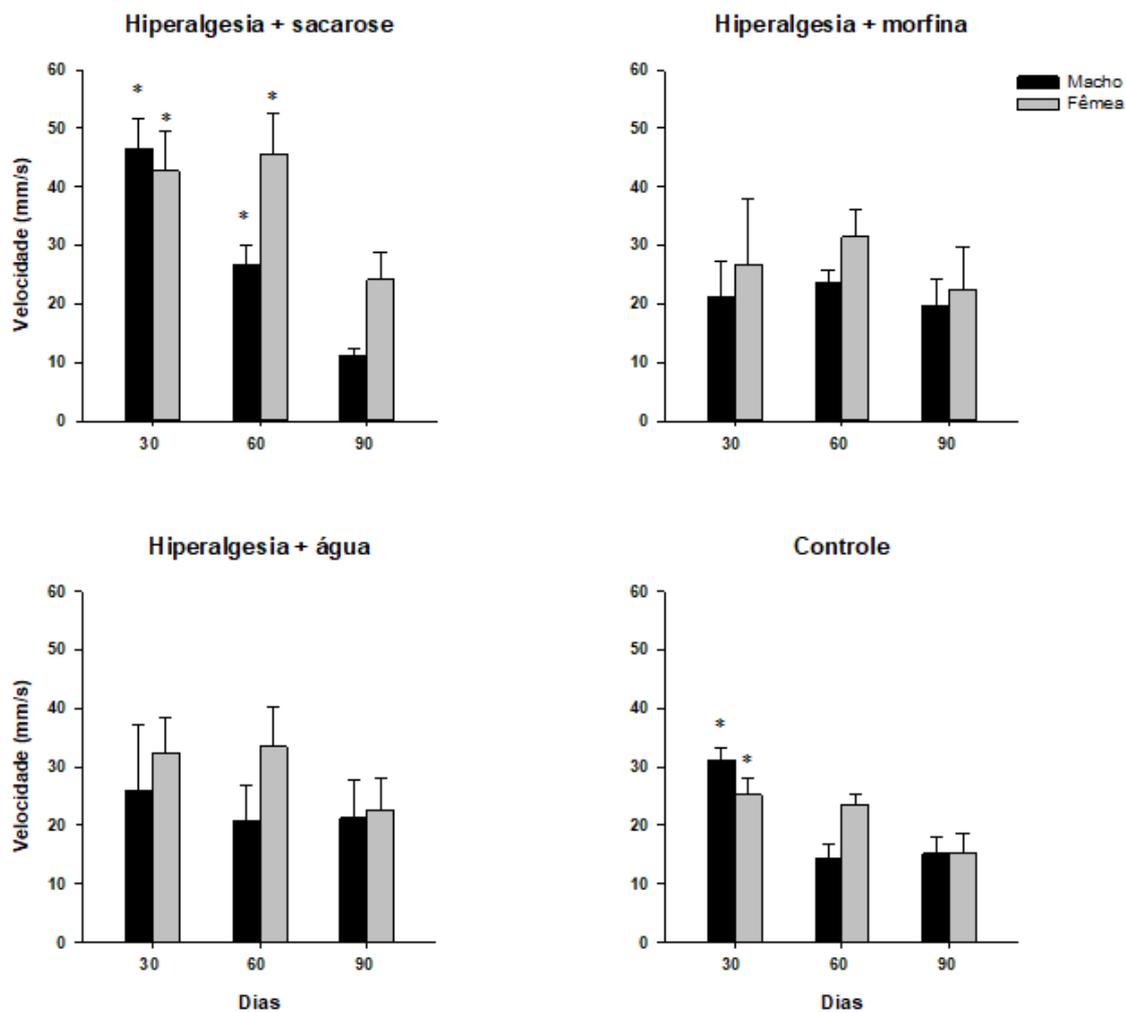


Figura 8. Velocidade de deslocamento (mm/s) nos grupos avaliados após indução do modelo experimental de dor neonatal. * $p \leq 0,03$; $F=2,23$ em relação aos 90 dias pós-natais. ANOVA de 2 vias para medidas independentes + post-hoc Holm-Sidak. Dados representados em média \pm erro padrão da média (EPM).

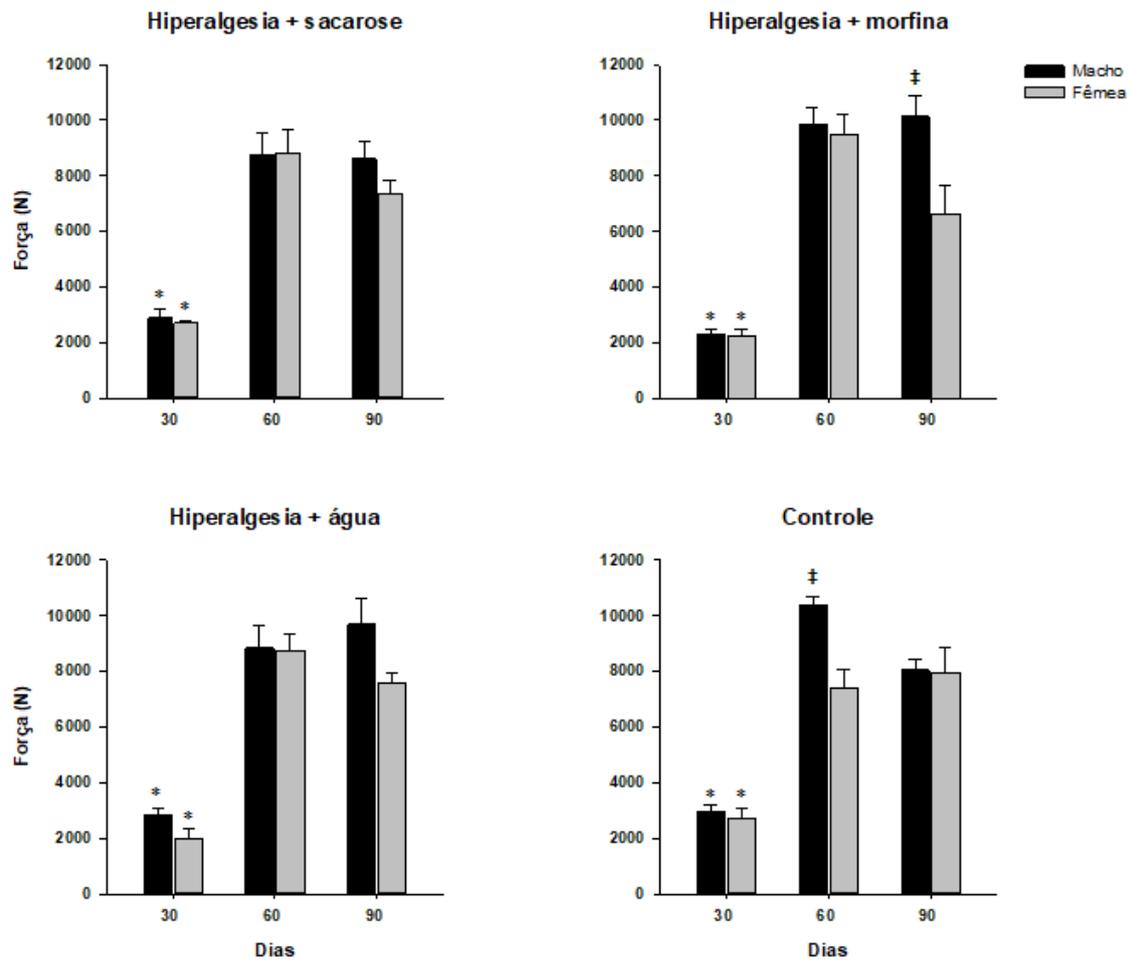


Figura 9. Força (N) nos grupos avaliados após indução do modelo experimental de dor neonatal. ‡ $p=0,001$; $F=14,61$ em relação às fêmeas. * $p\leq 0,03$; $F=280,87$ em relação aos 60 e 90 dias pós-natais. ANOVA de 3 vias para medidas independentes + post-hoc Holm-Sidak. Dados representados em média \pm erro padrão da média (EPM).

4. DISCUSSÃO

O presente estudo evidenciou que os animais estimulados de forma nociva no início da vida e tratados com sacarose intraoral apresentaram maior latência e limiar de retirada da pata no início da vida e ao longo do tempo quando comparados aos animais do grupo controle. Os animais tratados com morfina e água também apresentaram redução da hiperalgesia em curto prazo, não sendo evidenciado efeito de superioridade da terapia não-farmacológica em relação aos demais grupos. Quanto à função motora, foi observada maior velocidade de deslocamento dos animais do grupo sacarose quando comparado aos demais e aumento da força ao longo do tempo em todos os grupos de estudo.

Estes resultados sugerem que a sacarose, quando administrada em ratos recém-nascidos previamente aos estímulos dolorosos, possui efeito analgésico em curto prazo, mostrando-se eficaz quando utilizada como analgésico no início da vida. Os animais do grupo hiperalgesia tratados com sacarose apresentaram redução da hiperalgesia térmica e mecânica maiores em comparação ao grupo controle em curto prazo, o que é de suma importância para o manejo da dor em neonatos, uma vez que estimulações nocivas no período neonatal vêm sendo documentadas por causarem alodinia mecânica (Sanada *et al.*, 2014; Carmo *et al.*, 2016) e menor limiar de dor (Anand *et al.*, 1999).

Um estudo prévio sugere que a sacarose tem seu efeito reduzido 48 horas após administração da substância, com posterior aumento no quarto dia, tendo seu pico de efeito no décimo dia (Rebouças *et al.*, 2005). Entretanto, no presente estudo, foi verificado efeito da sacarose até o 15º dia na função sensitiva (maior limiar de retirada da pata e latência térmica) e até o 90º dia na função motora (maior velocidade de deslocamento), que, segundo De Freitas *et al.* (2012), pode estar relacionado a um mecanismo adicional proveniente do recrutamento de redes neurais inibidoras da dor através da ativação do sistema gustativo.

Este mecanismo comprova-se pela ativação da via gustativa ascendente em que áreas como tronco encefálico, hipotálamo, córtex insular e amígdala são estimuladas (Anseloni *et al.*, 2005; Damiani e Damiani, 2011) com consequente geração da resposta analgésica pela ação de receptores opioides e GABA-A / benzodiazepínicos em áreas do tronco encefálico relacionadas à analgesia e corno dorsal da medula espinhal (Gibbins e Stevens, 2001; Anseloni *et al.*, 2005; Bhattacharjee e Mathur, 2005).

Estas redes neurais são ativadas, inicialmente, por estímulos excitatórios enviados da substância cinzenta periaquedutal para o núcleo do trato solitário (Boscan e Paton, 2005), seguindo para ligações bulbo-ponto-mesencefálicas (núcleo parabraquial,

formação reticular ventrolateral, substratos neurais pericoeruleus e núcleos da rafe) e para longas conexões com a medula espinhal e estruturas diencefálicas ou telencefálicas, como o hipotálamo, além de outras estruturas límbicas (Jean, 1991; Herbert e Saper, 1992). Esta interrelação neurofisiológica pode explicar a maior ativação desta cascata de analgesia na fase neonatal, que ocasiona redução da hiperalgesia e consequente atenuação dos efeitos deletérios da dor, potencializando, assim, a função motora em longo prazo.

Resultados similares aos observados nos animais tratados com sacarose foram verificados no grupo morfina. Neste, evidenciou-se também o efeito analgésico em curto prazo ou seja, maior latência térmica quando comparado ao grupo controle. Este mecanismo de redução da hiperalgesia ocasionado pela morfina é amplamente conhecido, o que determina a sua escolha como fármaco utilizado em UTINs (American Academy of Pediatrics, 2016). Contudo, prejuízos motores são evidenciados após o uso destas substâncias, tais como atraso na aquisição de habilidades e menor ganho ponderal (Walker, 2014).

No presente estudo, foi observado que os animais tratados com morfina apresentaram menor velocidade de deslocamento do que os demais no 1º mês de vida e manutenção da força de preensão ao longo do tempo. Estes dados reafirmam evidências previamente expostas (American Academy of Pediatrics, 2016; Stevens *et al.*, 2016) que sugerem o uso da sacarose como um método não-farmacológico seguro e eficaz para o controle da dor durante procedimentos em neonatos, evitando prejuízos motores ocasionados pelos opioides, tais como a morfina.

Os animais submetidos ao estímulo nocivo e tratados com água apresentaram redução da hiperalgesia térmica e mecânica no 15º dia de vida quando comparado ao grupo controle, de forma similar aos grupos tratados com sacarose e morfina. Por se tratar de substância sem efeito analgésico evidenciado, a água potável, quando administrada em ratos neonatos, pode estimular os mecanismos de redução da hiperalgesia através da sucção (Gibbins e Stevens, 2001).

A sucção não-nutritiva é descrita como um método não-farmacológico de redução da dor em neonatos, potencialmente aprimorado quando combinado com a administração de substância adocicadas, como a glicose e sacarose (Lago *et al.*, 2017). Ao sugar, o organismo do neonato reage com aumento da oxigenação, melhora das funções respiratória e gastrointestinal, diminuição da frequência cardíaca e do gasto energético (Motta e Cunha, 2015), o que justificaria os efeitos comportamentais evidenciados durante a administração da água potável nos primeiros 15 dias de vida.

Os mecanismos de ação que justificam a ocorrência de analgesia a partir da sucção não-nutritiva ainda não são bem estabelecidos na literatura. Sabe-se, a partir de estudos experimentais, que a redução da dor pode estar associada à produção de serotonina e que não é mediada por via opioide (Gibbins e Stevens, 2001). É sabido também que a duração do efeito analgésico não se dá de forma prolongada, dissipando-se cerca de 30 segundos após a cessação do estímulo (Blass e Watt, 1999; Gibbins e Stevens, 2001).

No presente estudo, foi observado aumento da força ao longo do tempo em todos os grupos avaliados. Corroborando estes achados, animais avaliados em estudo prévio com modelo experimental similar apresentaram aumento da força de preensão aos 90 dias pós-natais no teste de preensão (*grip strenght test*) (Carmo *et al.*, 2016). O referido estudo objetivava observar as repercussões da dor neonatal em longo prazo, sem nenhum tipo de intervenção analgésica, o que leva a inferir que a força de preensão não foi alterada pelo efeito dos tratamentos realizados no presente estudo, uma vez que os resultados foram similares ao trabalho em que a intervenção analgésica não foi utilizada.

De forma contrária aos dados de força de preensão, os animais dos grupos sacarose apresentaram maior velocidade de deslocamento em relação aos demais, indicando a relação entre as funções sensitiva e motora em curto e longo prazos, respectivamente. Estudos prévios mostram que animais (recém-nascidos e adultos) que receberam estímulos nocivos repetidos no período neonatal evitaram realizar descarga de peso com a pata estimulada (direita) e percorreram a distância estabelecida em maior tempo (menor velocidade) durante o teste de caminhada em pista (Sanada *et al.*, 2014), o que foi observado nos grupos controle, morfina e água deste estudo. Infere-se a partir deste dado que a sacarose apresentou efeito protetor em longo prazo na função motora (velocidade de deslocamento), já evidenciado também em curto prazo aos 15 dias pós-natais para a função sensitiva.

Apesar da importância da análise do desenvolvimento sensorio-motor, a literatura atual possui uma lacuna a respeito do impacto da hiperalgesia na função motora. Estudos previamente publicados envolvendo a motricidade em filhotes estão relacionados ao hipotireoidismo durante a gestação, sem a observação da hiperalgesia (Alves *et al.*, 2013) e/ou desconsideram a análise de estratégias para analgesia (Carmo *et al.*, 2016). Há evidências da ativação de células gliais nas áreas motora primária e secundária em animais induzidos com o modelo de dor neonatal (Sanada *et al.*, 2014), porém em relação às descobertas dos mecanismos neurais envolvidos na analgesia pela sacarose, estudo recente (Tremblay *et al.*, 2017) expõe somente a ativação de áreas encefálicas

relacionadas à sensibilidade, não havendo evidências acerca de áreas motoras envolvidas nesse processo. Por isto, os resultados apresentados neste estudo conferem o caráter inovador e promissor do tema ao relacionar os efeitos da analgesia não-farmacológica em curto prazo com os efeitos motor em longo prazo.

No grupo controle, observaram-se respostas da função sensitiva contrárias aos grupos induzidos com o modelo experimental de dor neonatal. Os animais controle não apresentaram variações na hiperalgesia térmica ao longo do tempo e tiveram redução da hiperalgesia mecânica em longo prazo. Resultados similares foram encontrados no estudo de Sanada *et al.* (2014), em que houve maior hiperalgesia mecânica nos animais na fase adulta quando comparados à fase neonatal. Este dado justifica-se pela ausência de hiperalgesia na fase inicial da vida, o que permite o desenvolvimento sensorial esperado, ou seja, o aumento do limiar na medida em que o animal cresce.

O dimorfismo sexual foi observado na função sensitiva do grupo controle e na função motora somente nos grupos controle e morfina. Os animais machos apresentaram melhor função sensitiva (maior latência de retirada da pata) e motora (maior força de preensão) nestes grupos. Corroborando estes resultados, ao utilizar o modelo experimental similar ao realizado neste estudo (hiperalgesia neonatal provocada por puntura com agulha), Carmo *et al.* (2016) verificaram que os machos apresentaram maior limiar de retirada da pata que as fêmeas nos grupos hiperalgesia e controle, com destaque para os dias 120,150 e 180 pós-natais. A partir dos dados observados aos 30, 60 e 90 dias, espera-se que resultados semelhantes sejam obtidos aos 6 meses de vida do animal.

As diferenças entre os sexos, no presente estudo, foram observadas a partir do 30º e 60º dias pós-natais, este último sendo conhecido como o momento no qual é comprovado o papel de hormônios sexuais no desenvolvimento e maturação do organismo (Mogil, 2012). As fêmeas tratadas com morfina e as do grupo controle apresentaram declínio da função sensitiva ao longo do tempo, o que demonstra a ineficácia dessa estratégia farmacológica na inibição do efeito pró-inflamatório e pró-nociceptivo ocasionado fisiologicamente pelo estradiol (Laprairie e Murphy, 2007). Nas demais variáveis, o dimorfismo sexual não foi verificado e, por isto, não é possível afirmar o efeito concreto dos tratamentos realizados no desenvolvimento sensório-motor de machos e fêmeas.

A partir dos resultados obtidos, não foi possível evidenciar alterações comportamentais representativas da ocorrência de memória de dor nos animais. Não houve diferenças significativas das variáveis motoras e sensoriais após a reindução do

modelo aos 32, 62 e 92 dias. Estudo de revisão sobre este tema aponta que dores crônicas e/ou o processo de cronificação do quadro algico durante o período neonatal provocam a ativação da memória de dor e suas repercussões físicas e emocionais (Cahana e Jones, 2007). Uma vez que a hiperalgesia provocada neste estudo caracteriza-se como aguda, o fato de não haver ativação de memória de dor após reindução da hiperalgesia pode ser justificado por esta hipótese. Da mesma forma, os tratamentos realizados nestes animais podem ter determinado a inexistência desse efeito e permanência da analgesia em longo prazo.

Uma das limitações do presente estudo se refere ao não acompanhamento dos animais até a sua fase adulta tardia (180 dias pós-natais), o que poderia mostrar a persistência ou desaparecimento de alterações nos parâmetros motores e sensoriais observados até a fase mais avançada do desenvolvimento. Além disto, outros parâmetros motores presentes no início da vida (reflexos e reações) não foram avaliados, o que poderia permitir observação do neurodesenvolvimento de forma mais clara e correlacioná-lo com as características motoras e sensoriais ao longo da vida (Nguyen *et al.*, 2017).

Adicionalmente, o presente estudo apresenta limitações quanto à inexistência de dois outros grupos experimentais, sendo um destes para analisar os efeitos do modelo de dor neonatal isoladamente (grupo hiperalgesia) e outro com o intuito de verificar as repercussões da ausência de estimulação tátil e/ou nociva nos animais. Também, como limitação, aponta-se a utilização de animais de uma mesma ninhada em diferentes grupos de estudo, o que possibilita a existência de viés ocasionado por fatores maternos ou pós-natais. Como perspectivas para outros estudos, espera-se analisar o papel de citocinas inflamatórias neste modelo de dor após intervenção com sacarose, comparada às intervenções controle a curto e longo prazos. Esta análise é considerada importante para verificar a ativação da cascata inflamatória desde o nascimento, quando a dor ocorre por procedimento em UTINs, além de investigar o efeito de tratamentos farmacológicos e não-farmacológicos neste processo inflamatório.

Pretende-se também desenvolver série experimental com objetivo de verificar a ação dos hormônios sexuais e da corticosterona, a fim de complementar os dados comportamentais referentes ao dimorfismo sexual. Além disto, a existência de efeitos adversos relacionados à administração da sacarose intraoral a curto e longo prazos pode ser analisada a fim de investigar possíveis consequências negativas do uso de substância adocicada para analgesia, tais como aumento da glicemia e/ou do peso corporal.

Os resultados do presente estudo alertam para a importância do manejo da dor em recém-nascidos de forma adequada dentro das UTINs, com o propósito de evitar prejuízos no desenvolvimento sensitivo e motor dessas crianças. Os dados obtidos confirmam a influência da sacarose na função sensitiva ao longo da vida, sendo necessário o estudo de seus efeitos adversos e mecanismos de ação nos diferentes sexos ao longo da vida a fim de aprimorar este manejo da dor com estratégias não-farmacológicas que minimizam os comprometimentos em longo prazo.

5. CONCLUSÃO

Diante dos resultados encontrados nesse estudo, sugere-se que a sacarose, quando administrada em ratos neonatos, possui efeito analgésico em curto prazo, não sendo observada superioridade desta modalidade analgésica diante do tratamento com morfina ou água potável. Sugere-se, ainda, efeito em longo prazo da sacarose na função motora dos animais, com melhor desempenho na velocidade de deslocamento. Não foi evidenciada alteração comportamental referente à memória de dor ou influência das intervenções analgésicas realizadas na força de prensão dos animais, porém observou-se diferenças na função sensitiva e motora entre os sexos em animais tratados com morfina e controle.

REFERÊNCIAS

ALVES, I. et al. Experimental hypothyroidism during pregnancy affects nociception and locomotor performance of offspring in rats. **European Journal of Pain**, v. 17, n. 9, p. 1291-1298, 2013. ISSN 1532-2149.

AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS. Prevention and Management of Procedural Pain in the Neonate: An Update. **Pediatrics**, v. 137, n. 2, p. e20154271, Feb 2016. ISSN 0031-4005.

ANAND, K. et al. Long-term behavioral effects of repetitive pain in neonatal rat pups. **Physiology & behavior**, v. 66, n. 4, p. 627-637, 1999. ISSN 0031-9384.

ANAND, K. J. Effects of perinatal pain and stress. **Prog Brain Res**, v. 122, p. 117-29, 2000. ISSN 0079-6123 (Print)
0079-6123.

ANSELONI, V. et al. A brainstem substrate for analgesia elicited by intraoral sucrose. **Neuroscience**, v. 133, n. 1, p. 231-243, 2005. ISSN 0306-4522.

ASMEROM, Y. et al. Oral sucrose for heel lance increases adenosine triphosphate use and oxidative stress in preterm neonates. **The Journal of pediatrics**, v. 163, n. 1, p. 29-35. e1, 2013. ISSN 0022-3476.

BHATTACHARJEE, M.; MATHUR, R. Antinociceptive effect of sucrose ingestion in the human. **Indian journal of physiology and pharmacology**, v. 49, n. 4, p. 383, 2005. ISSN 0019-5499.

BHUTTA, A. T. et al. Interactions of inflammatory pain and morphine in infant rats: long-term behavioral effects. **Physiology & behavior**, v. 73, n. 1, p. 51-58, 2001. ISSN 0031-9384.

BLASS, E. M. Milk-induced hypoalgesia in human newborns. **Pediatrics**, v. 99, n. 6, p. 825-829, 1997. ISSN 0031-4005.

BLASS, E. M.; WATT, L. B. Suckling-and sucrose-induced analgesia in human newborns. **PAIN®**, v. 83, n. 3, p. 611-623, 1999. ISSN 0304-3959.

BOSCAN, P.; PATON, J. F. Excitatory convergence of periaqueductal gray and somatic afferents in the solitary tract nucleus: role for neurokinin 1 receptors. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 288, n. 1, p. R262-R269, 2005. ISSN 0363-6119.

BRYN, I.; PUPE, S.; BIZARRO, L. Attention, locomotor activity and developmental milestones in rats prenatally exposed to ethanol. **International journal of developmental neuroscience**, v. 38, p. 161-168, 2014. ISSN 0736-5748.

CAHANA, A.; JONES, D. La neurobiologie de la chronicisation de la douleur chez l'enfant: la mémoire de la douleur et la douleur de la mémoire. *Annales françaises d'anesthésie et de réanimation*, 2007, Elsevier. p.540-545.

CARBAJAL, R. et al. Epidemiology and treatment of painful procedures in neonates in intensive care units. **Jama**, v. 300, n. 1, p. 60-70, 2008. ISSN 0098-7484.

CARMO, E. D. C. D. et al. Does Pain in the Neonatal Period Influence Motor and Sensory Functions in a Similar Way for Males and Females During Post-Natal Development in Rats? **Pain Medicine**, v. 17, n. 8, p. 1520-1529, 2016. ISSN 1526-4637.

DAMIANI, D.; DAMIANI, D. Sinalização cerebral do apetite. **Rev Bras Clin Med**, v. 9, n. 2, p. 138-45, 2011.

DE FREITAS, R. L. et al. Antinociception induced by acute oral administration of sweet substance in young and adult rodents: the role of endogenous opioid peptides chemical mediators and μ 1-opioid receptors. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 101, n. 2, p. 265-270, 2012. ISSN 0091-3057.

DE GRAAF, J. et al. Long-term effects of routine morphine infusion in mechanically ventilated neonates on children's functioning: five-year follow-up of a randomized controlled trial. **Pain**, v. 152, n. 6, p. 1391-1397, 2011. ISSN 0304-3959.

GIBBINS, S.; STEVENS, B. Mechanisms of sucrose and non-nutritive sucking in procedural pain management in infants. **Pain Research and Management**, v. 6, n. 1, p. 21-28, 2001. ISSN 1203-6765.

GOPALKRISHNAN, P.; SLUKA, K. A. Effect of varying frequency, intensity, and pulse duration of transcutaneous electrical nerve stimulation on primary hyperalgesia in inflamed rats. **Archives of physical medicine and rehabilitation**, v. 81, n. 7, p. 984-990, 2000. ISSN 0003-9993.

GRAY, L. et al. Sucrose and warmth for analgesia in healthy newborns: an RCT. **Pediatrics**, v. 135, n. 3, p. e607-e614, 2015. ISSN 0031-4005.

GRUNAU, R. E. Neonatal pain in very preterm infants: long-term effects on brain, neurodevelopment and pain reactivity. **Rambam Maimonides medical journal**, v. 4, n. 4, 2013.

GRUNAU, R. E. et al. Neonatal pain, parenting stress and interaction, in relation to cognitive and motor development at 8 and 18 months in preterm infants. **Pain**, v. 143, n. 1, p. 138-146, 2009. ISSN 0304-3959.

HAOUARI, N. et al. The analgesic effect of sucrose in full term infants: a randomised controlled trial. **Bmj**, v. 310, n. 6993, p. 1498-1500, 1995. ISSN 0959-8138.

HERBERT, H.; SAPER, C. B. Organization of medullary adrenergic and noradrenergic projections to the periaqueductal gray matter in the rat. **Journal of Comparative Neurology**, v. 315, n. 1, p. 34-52, 1992. ISSN 1096-9861.

JEAN, A. The nucleus tractus solitarius: neuroanatomic, neurochemical and functional aspects. **Archives internationales de physiologie, de biochimie et de biophysique**, v. 99, n. 5, p. A3-52, 1991. ISSN 0778-3124.

KNAEPEN, L. et al. Sex differences in inflammatory mechanical hypersensitivity in later life of rats exposed to repetitive needle pricking as neonates. **Neuroscience letters**, v. 516, n. 2, p. 285-289, 2012. ISSN 0304-3940.

LAGO, P. et al. Systematic review of non-pharmacological analgesic interventions for common needle-related procedure in newborn infants and development of evidence-based clinical guidelines. **Acta Paediatrica**, 2017. ISSN 1651-2227.

LAPRAIRIE, J. L.; MURPHY, A. Z. Female rats are more vulnerable to the long-term consequences of neonatal inflammatory injury. **Pain**, v. 132, p. S124-S133, 2007. ISSN 0304-3959.

LIU, Y. et al. Effects of combined oral sucrose and nonnutritive sucking (NNS) on procedural pain of NICU newborns, 2001 to 2016: A PRISMA-compliant systematic review and meta-analysis. **Medicine**, v. 96, n. 6, 2017.

MAURISSEN, J. P. et al. Factors affecting grip strength testing. **Neurotoxicology and teratology**, v. 25, n. 5, p. 543-553, 2003. ISSN 0892-0362.

MEESTERS, N. et al. Waiting 2 minutes after sucrose administration—unnecessary? **Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal Edition**, v. 102, n. 2, p. F167-F169, 2017. ISSN 1359-2998.

MOGIL, J. S. Sex differences in pain and pain inhibition: multiple explanations of a controversial phenomenon. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 13, n. 12, p. 859, 2012. ISSN 1471-003X.

MOTTA, G. D. C. P. D.; CUNHA, M. L. C. D. Prevenção e manejo não farmacológico da dor no recém-nascido. **Revista brasileira de enfermagem**. Vol. 68, n. 1 (jan./fev. 2015), p. 131-5, 2015. ISSN 0034-7167.

NANDI, R.; FITZGERALD, M. Opioid analgesia in the newborn. **European Journal of Pain**, v. 9, n. 2, p. 105-108, 2005. ISSN 1532-2149.

NGUYEN, A. T.; ARMSTRONG, E. A.; YAGER, J. Y. Neurodevelopmental Reflex Testing in Neonatal Rat Pups. **Journal of visualized experiments: JoVE**, n. 122, 2017. ISSN 1940-087X.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Organización Mundial de la Salud. Nacimientos prematuros. 2016. Disponível em: < <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs363/es/> >. Acesso em: 05/08/2017.

REBOUÇAS, E. et al. Effect of the blockade of μ 1-opioid and 5HT2A-serotonergic/ α 1-noradrenergic receptors on sweet-substance-induced analgesia. **Psychopharmacology**, v. 179, n. 2, p. 349-355, 2005. ISSN 0033-3158.

ROZISKY, J. R. et al. Long-term effect of morphine administration in young rats on the analgesic opioid response in adult life. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 26, n. 6, p. 561-565, 2008. ISSN 0736-5748.

SANADA, L. S. et al. Cortex glial cells activation, associated with lowered mechanical thresholds and motor dysfunction, persists into adulthood after neonatal pain. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 35, p. 55-63, 2014. ISSN 0736-5748.

SIMONS, S. H. et al. Do we still hurt newborn babies?: A prospective study of procedural pain and analgesia in neonates. **Archives of pediatrics & adolescent medicine**, v. 157, n. 11, p. 1058-1064, 2003. ISSN 1072-4710.

SIMONSE, E.; MULDER, P. G.; VAN BEEK, R. H. Analgesic effect of breast milk versus sucrose for analgesia during heel lance in late preterm infants. **Pediatrics**, v. 129, n. 4, p. 657-663, 2012. ISSN 0031-4005.

STEVENS, B. et al. Sucrose for analgesia in newborn infants undergoing painful procedures. **Cochrane Database Syst Rev**, v. 7, p. Cd001069, Jul 16 2016. ISSN 1361-6137.

SWEET, S. D.; MCGRATH, P. J. Physiological measures of pain. 1998.

TADDIO, A. et al. Effect of neonatal circumcision on pain response during subsequent routine vaccination. **The lancet**, v. 349, n. 9052, p. 599-603, 1997. ISSN 0140-6736.

TITA, B. et al. Analgesic properties of *Epilobium angustifolium*, evaluated by the hot plate test and the writhing test. **Il Farmaco**, v. 56, n. 5, p. 341-343, 2001. ISSN 0014-827X.

TREMBLAY, S. et al. Repeated exposure to sucrose for procedural pain in mouse pups leads to long-term widespread brain alterations. **Pain**, v. 158, n. 8, p. 1586-1598, 2017. ISSN 0304-3959.

WALKER, S. M. Neonatal pain. **Paediatr Anaesth**, v. 24, n. 1, p. 39-48, Jan 2014. ISSN 1155-5645.

4. CONCLUSÕES GERAIS

Diante dos resultados evidenciados na revisão sistemática e estudo experimental realizados, conclui-se que a dor neonatal provoca alterações em curto e longo prazos no desenvolvimento sensório-motor. Constatou-se também que a intervenção analgésica através da sacarose é um fator importante para o manejo e redução dos impactos negativos causados pela hiperalgesia no início da vida, sendo o seu efeito comportamental em curto prazo similar à morfina e água potável. Ressalta-se ainda, a influência do dimorfismo sexual nestes aspectos, sugerindo a participação de hormônios sexuais neste processo.

A partir das evidências constatadas nestes dois estudos, recomenda-se a realização de novas pesquisas com o objetivo de investigar os mecanismos de analgesia provocados pela sacarose, assim como o papel das diferenças entre os sexos na hiperalgesia e desenvolvimento sensório-motor ao longo da vida.

REFERÊNCIAS GERAIS

ALS, H. Toward a synactive theory of development: Promise for the assessment and support of infant individuality. **Infant mental health journal**, v. 3, n. 4, p. 229-243, 1982. ISSN 1097-0355.

ALVES, I. et al. Experimental hypothyroidism during pregnancy affects nociception and locomotor performance of offspring in rats. **European Journal of Pain**, v. 17, n. 9, p. 1291-1298, 2013. ISSN 1532-2149.

AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS. Prevention and Management of Procedural Pain in the Neonate: An Update. **Pediatrics**, v. 137, n. 2, p. e20154271, Feb 2016. ISSN 0031-4005.

ANAND, K. et al. Long-term behavioral effects of repetitive pain in neonatal rat pups. **Physiology & behavior**, v. 66, n. 4, p. 627-637, 1999. ISSN 0031-9384.

ANAND, K. J. Effects of perinatal pain and stress. **Prog Brain Res**, v. 122, p. 117-29, 2000. ISSN 0079-6123 (Print)

0079-6123.

ANAND, K. J.; CRAIG, K. D. New perspectives on the definition of pain. **Pain-Journal of the International Association for the Study of Pain**, v. 67, n. 1, p. 3-6, 1996. ISSN 0304-3959.

ANSELONI, V. et al. A brainstem substrate for analgesia elicited by intraoral sucrose. **Neuroscience**, v. 133, n. 1, p. 231-243, 2005. ISSN 0306-4522.

ANSELONI, V. C. et al. Age-dependency of analgesia elicited by intraoral sucrose in acute and persistent pain models. **Pain**, v. 97, n. 1, p. 93-103, 2002. ISSN 0304-3959.

ASMEROM, Y. et al. Oral sucrose for heel lance increases adenosine triphosphate use and oxidative stress in preterm neonates. **The Journal of pediatrics**, v. 163, n. 1, p. 29-35. e1, 2013. ISSN 0022-3476.

ATTARIAN, S. et al. The neurodevelopmental impact of neonatal morphine administration. **Brain sciences**, v. 4, n. 2, p. 321-334, 2014.

BANGA, S. et al. Effect of sucrose analgesia, for repeated painful procedures, on short-term neurobehavioral outcome of preterm neonates: a randomized controlled trial. **Journal of tropical pediatrics**, v. 62, n. 2, p. 101-106, 2016. ISSN 0142-6338.

BARTOCCI, M. et al. Pain activates cortical areas in the preterm newborn brain. **Pain**, v. 122, n. 1, p. 109-117, 2006. ISSN 0304-3959.

BHATTACHARJEE, M.; MATHUR, R. Antinociceptive effect of sucrose ingestion in the human. **Indian journal of physiology and pharmacology**, v. 49, n. 4, p. 383, 2005. ISSN 0019-5499.

BHUTTA, A. T. et al. Interactions of inflammatory pain and morphine in infant rats: long-term behavioral effects. **Physiology & behavior**, v. 73, n. 1, p. 51-58, 2001. ISSN 0031-9384.

BLASS, E. M. Milk-induced hypoalgesia in human newborns. **Pediatrics**, v. 99, n. 6, p. 825-829, 1997. ISSN 0031-4005.

BLASS, E. M.; WATT, L. B. Suckling-and sucrose-induced analgesia in human newborns. **PAIN®**, v. 83, n. 3, p. 611-623, 1999. ISSN 0304-3959.

BOSCAN, P.; PATON, J. F. Excitatory convergence of periaqueductal gray and somatic afferents in the solitary tract nucleus: role for neurokinin 1 receptors. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 288, n. 1, p. R262-R269, 2005. ISSN 0363-6119.

BOUWMEESTER, N. J. et al. Postoperative pain in the neonate: age-related differences in morphine requirements and metabolism. **Intensive Care Med**, v. 29, n. 11, p. 2009-15, Nov 2003. ISSN 0342-4642 (Print)

0342-4642.

BRASIL. **Conselho Nacional dos Direitos da Criança e do Adolescente Hospitalizados. Direitos da Criança e do Adolescente. Resolução nº 41 de outubro de 1995.** Diário Oficial da União. Brasília, 17 de out 1995.

BRUMMELTE, S. et al. Procedural pain and brain development in premature newborns. **Annals of neurology**, v. 71, n. 3, p. 385-396, 2012. ISSN 1531-8249.

BRYS, I.; PUPE, S.; BIZARRO, L. Attention, locomotor activity and developmental milestones in rats prenatally exposed to ethanol. **International journal of developmental neuroscience**, v. 38, p. 161-168, 2014. ISSN 0736-5748.

BURKE, N. N.; TRANG, T. Neonatal injury results in sex-dependent nociceptive hypersensitivity and social behavioral deficits during adolescence, without altering morphine response. **The Journal of Pain**, 2017. ISSN 1526-5900.

CAHANA, A.; JONES, D. La neurobiologie de la chronicisation de la douleur chez l'enfant: la mémoire de la douleur et la douleur de la mémoire. *Annales françaises d'anesthésie et de réanimation*, 2007, Elsevier. p.540-545.

CARBAJAL, R. et al. Epidemiology and treatment of painful procedures in neonates in intensive care units. **Jama**, v. 300, n. 1, p. 60-70, 2008. ISSN 0098-7484.

CARMO, E. D. C. D. et al. Does Pain in the Neonatal Period Influence Motor and Sensory Functions in a Similar Way for Males and Females During Post-Natal Development in Rats? **Pain Medicine**, v. 17, n. 8, p. 1520-1529, 2016. ISSN 1526-4637.

CHROUSOS, G. P.; GOLD, P. W. The concepts of stress and stress system disorders: overview of physical and behavioral homeostasis. **Jama**, v. 267, n. 9, p. 1244-1252, 1992. ISSN 0098-7484.

CONG, X. et al. The impact of cumulative pain/stress on neurobehavioral development of preterm infants in the NICU. **Early human development**, v. 108, p. 9-16, 2017. ISSN 0378-3782.

COOK, L. M. et al. Randomized Clinical Trial of 24% Oral Sucrose to Decrease Pain Associated With Peripheral Intravenous Catheter Insertion in Preterm and Term Newborns. **Advances in Neonatal Care**, v. 17, n. 1, p. E3-E11, 2017. ISSN 1536-0903.

COURTOIS, E. et al. Epidemiology and neonatal pain management of heelsticks in intensive care units: EIPPAIN 2, a prospective observational study. **International journal of nursing studies**, v. 59, p. 79-88, 2016. ISSN 0020-7489.

DAMIANI, D.; DAMIANI, D. Sinalização cerebral do apetite. **Rev Bras Clin Med**, v. 9, n. 2, p. 138-45, 2011.

DE FREITAS, R. L. et al. Antinociception induced by acute oral administration of sweet substance in young and adult rodents: the role of endogenous opioid peptides chemical mediators and μ 1-opioid receptors. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 101, n. 2, p. 265-270, 2012. ISSN 0091-3057.

DE GRAAF, J. et al. Long-term effects of routine morphine infusion in mechanically ventilated neonates on children's functioning: five-year follow-up of a randomized controlled trial. **Pain**, v. 152, n. 6, p. 1391-1397, 2011. ISSN 0304-3959.

DITZ, E.; MALLOY-DINIZ, L. F. Dor neonatal e desenvolvimento neuropsicológico. **Revista Mineira de Enfermagem**, v. 10, n. 3, p. 266-270, 2006. ISSN 1415-2762.

DYKE, M. P.; KOHAN, R.; EVANS, S. Morphine increases synchronous ventilation in preterm infants. **J Paediatr Child Health**, v. 31, n. 3, p. 176-9, Jun 1995. ISSN 1034-4810 (Print)

1034-4810.

FERRARI, L. F. et al. Age-dependent Sexual Dimorphism in Susceptibility to Develop Chronic Pain in the Rat. **Neuroscience**, 2017. ISSN 0306-4522.

FINLEY, G. et al. Why children's pain matters. **International Association for the Study of Pain: Pain Clinical Updates**, v. 13, n. 4, p. 1-6, 2006.

FITZGERALD, M. The development of nociceptive circuits. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 6, n. 7, p. 507-520, 2005. ISSN 1471-003X.

_____. What do we really know about newborn infant pain? **Experimental physiology**, v. 100, n. 12, p. 1451-1457, 2015. ISSN 1469-445X.

FOO, H.; MASON, P. Analgesia accompanying food consumption requires ingestion of hedonic foods. **Journal of Neuroscience**, v. 29, n. 41, p. 13053-13062, 2009. ISSN 0270-6474.

FOO, H.; MASON, P. Ingestion analgesia occurs when a bad taste turns good. **Behavioral neuroscience**, v. 125, n. 6, p. 956, 2011. ISSN 1939-0084.

FRANCK, L.; LEFRAK, L. For crying out loud: the ethical treatment of infants' pain. 2001.

FULLER, B. F. Infant gender differences regarding acute established pain. **Clinical nursing research**, v. 11, n. 2, p. 190-203, 2002. ISSN 1054-7738.

GAO, H. et al. Efficacy and safety of repeated oral sucrose for repeated procedural pain in neonates: A systematic review. **International journal of nursing studies**, v. 62, p. 118-125, 2016. ISSN 0020-7489.

GASPARDO, C. M. et al. Is pain relief equally efficacious and free of side effects with repeated doses of oral sucrose in preterm neonates? **PAIN®**, v. 137, n. 1, p. 16-25, 2008. ISSN 0304-3959.

GIBBINS, S.; STEVENS, B. Mechanisms of sucrose and non-nutritive sucking in procedural pain management in infants. **Pain Research and Management**, v. 6, n. 1, p. 21-28, 2001. ISSN 1203-6765.

GIBBINS, S. et al. Comparison of pain responses in infants of different gestational ages. **Neonatology**, v. 93, n. 1, p. 10-18, 2008. ISSN 1661-7800.

GOKSAN, S. et al. fMRI reveals neural activity overlap between adult and infant pain. **Elife**, v. 4, p. e06356, 2015. ISSN 2050-084X.

GOLIANU, B. et al. Non-pharmacological techniques for pain management in neonates. *Seminars in perinatology*, 2007, Elsevier. p.318-322.

GOPALKRISHNAN, P.; SLUKA, K. A. Effect of varying frequency, intensity, and pulse duration of transcutaneous electrical nerve stimulation on primary hyperalgesia in inflamed rats. **Archives of physical medicine and rehabilitation**, v. 81, n. 7, p. 984-990, 2000. ISSN 0003-9993.

GRAY, L. et al. Sucrose and warmth for analgesia in healthy newborns: an RCT. **Pediatrics**, v. 135, n. 3, p. e607-e614, 2015. ISSN 0031-4005.

GRUNAU, R. E. Neonatal pain in very preterm infants: long-term effects on brain, neurodevelopment and pain reactivity. **Rambam Maimonides medical journal**, v. 4, n. 4, 2013.

GRUNAU, R. E. et al. Biobehavioural reactivity to pain in preterm infants: a marker of neuromotor development. **Developmental Medicine & Child Neurology**, v. 48, n. 06, p. 471-476, 2006. ISSN 1469-8749.

GRUNAU, R. E. et al. Neonatal pain, parenting stress and interaction, in relation to cognitive and motor development at 8 and 18 months in preterm infants. **Pain**, v. 143, n. 1, p. 138-146, 2009. ISSN 0304-3959.

GUINSBURG, R. et al. Differences in pain expression between male and female newborn infants. **Pain**, v. 85, n. 1, p. 127-133, 2000. ISSN 0304-3959.

HAOUARI, N. et al. The analgesic effect of sucrose in full term infants: a randomised controlled trial. **Bmj**, v. 310, n. 6993, p. 1498-1500, 1995. ISSN 0959-8138.

HARRISON, D. et al. Sweet Solutions to Reduce Procedural Pain in Neonates: A Meta-analysis. **Pediatrics**, v. 139, n. 1, p. e20160955, 2017. ISSN 0031-4005.

HERBERT, H.; SAPER, C. B. Organization of medullary adrenergic and noradrenergic projections to the periaqueductal gray matter in the rat. **Journal of Comparative Neurology**, v. 315, n. 1, p. 34-52, 1992. ISSN 1096-9861.

HOLSTI, L.; GRUNAU, R. E. Considerations for using sucrose to reduce procedural pain in preterm infants. **Pediatrics**, v. 125, n. 5, p. 1042-1047, 2010. ISSN 0031-4005.

HSIEH, K.-H. et al. The analgesic effect of non-pharmacological interventions to reduce procedural pain in preterm neonates. **Pediatrics & Neonatology**, 2017. ISSN 1875-9572.

IRUSTA, A. et al. Psychopharmacological evidences for the involvement of muscarinic and nicotinic cholinergic receptors on sweet substance-induced analgesia in *Rattus norvegicus*. **Neuroscience letters**, v. 305, n. 2, p. 115-118, 2001. ISSN 0304-3940.

JEAN, A. The nucleus tractus solitarius: neuroanatomic, neurochemical and functional aspects. **Archives internationales de physiologie, de biochimie et de biophysique**, v. 99, n. 5, p. A3-52, 1991. ISSN 0778-3124.

JOHNSTON, C. C. et al. Routine sucrose analgesia during the first week of life in neonates younger than 31 weeks' postconceptional age. **Pediatrics**, v. 110, n. 3, p. 523-528, 2002. ISSN 0031-4005.

KANAREK, R. B.; HOMOLESKI, B. Modulation of morphine-induced antinociception by palatable solutions in male and female rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 66, n. 3, p. 653-659, 2000. ISSN 0091-3057.

KESAVAN, K. Neurodevelopmental Implications of Neonatal Pain and Morphine Exposure. **Pediatr Ann**, v. 44, n. 11, p. e260-4, Nov 2015. ISSN 0090-4481.

KNAEPEN, L. et al. Sex differences in inflammatory mechanical hypersensitivity in later life of rats exposed to repetitive needle pricking as neonates. **Neuroscience letters**, v. 516, n. 2, p. 285-289, 2012. ISSN 0304-3940.

LAGO, P. et al. Systematic review of non-pharmacological analgesic interventions for common needle-related procedure in newborn infants and development of evidence-based clinical guidelines. **Acta Paediatrica**, 2017. ISSN 1651-2227.

LAPRAIRIE, J. L.; MURPHY, A. Z. Female rats are more vulnerable to the long-term consequences of neonatal inflammatory injury. **Pain**, v. 132, p. S124-S133, 2007. ISSN 0304-3959.

LEMOS, S.; AMBIEL, C. R. Dor em pediatria: fisiopatologia, avaliação e tratamento. **Saúde e Pesquisa**, v. 3, n. 3, 2010. ISSN 2176-9206.

LENG, H. Y. et al. Combined non-pharmacological interventions for newborn pain relief in two degrees of pain procedures: A randomized clinical trial. **European Journal of Pain**, v. 20, n. 6, p. 989-997, 2016. ISSN 1532-2149.

LIDOW, M. S. Long-term effects of neonatal pain on nociceptive systems. **Pain**, v. 99, n. 3, p. 377-383, 2002. ISSN 0304-3959.

LIMA, M. et al. Sex-related long-term behavioral and hippocampal cellular alterations after nociceptive stimulation throughout postnatal development in rats. **Neuropharmacology**, v. 77, p. 268-276, 2014. ISSN 0028-3908.

LINHARES, M. B. M.; DOCA, F. N. P. Dor em neonatos e crianças: avaliação e intervenções não farmacológicas. **Temas em Psicologia**, v. 18, n. 2, p. 307-325, 2010. ISSN 1413-389X.

LIU, Y. et al. Effects of combined oral sucrose and nonnutritive sucking (NNS) on procedural pain of NICU newborns, 2001 to 2016: A PRISMA-compliant systematic review and meta-analysis. **Medicine**, v. 96, n. 6, 2017.

MAHMUD, S.; SHAH, S. A.; KHATTAK, S. Z. NEONATAL PAIN AND PREVENTIVE STRATEGIES: AN EXPERIENCE IN A TERTIARY CARE UNIT. **Journal of Ayub Medical College Abbottabad**, v. 29, n. 1, p. 42-44, 2017. ISSN 1819-2718.

MAURISSEN, J. P. et al. Factors affecting grip strength testing. **Neurotoxicology and teratology**, v. 25, n. 5, p. 543-553, 2003. ISSN 0892-0362.

MEEESTERS, N. et al. Waiting 2 minutes after sucrose administration—unnecessary? **Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal Edition**, v. 102, n. 2, p. F167-F169, 2017. ISSN 1359-2998.

MERSKEY, H.; BOGDUK, N. Classification of chronic pain, IASP Task Force on Taxonomy. **Seattle, WA: International Association for the Study of Pain Press (Also available online at www.iasp-pain.org)**, 1994.

MIYASE, C. I. et al. Involvement of pre- and post-synaptic serotonergic receptors of dorsal raphe nucleus neural network in the control of the sweet-substance-induced analgesia in adult *Rattus norvegicus* (Rodentia, Muridae). **Neurosci Lett**, v. 379, n. 3, p. 169-73, May 13 2005. ISSN 0304-3940 (Print)

0304-3940.

MOGIL, J. S. Sex differences in pain and pain inhibition: multiple explanations of a controversial phenomenon. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 13, n. 12, p. 859, 2012. ISSN 1471-003X.

MONTIROSSO, R. et al. Level of NICU quality of developmental care and neurobehavioral performance in very preterm infants. **Pediatrics**, p. peds. 2011-0813, 2012. ISSN 0031-4005.

MOTTA, G. D. C. P. D.; CUNHA, M. L. C. D. Prevenção e manejo não farmacológico da dor no recém-nascido. **Revista brasileira de enfermagem**. Vol. 68, n. 1 (jan./fev. 2015), p. 131-5, 2015. ISSN 0034-7167.

NANDI, R.; FITZGERALD, M. Opioid analgesia in the newborn. **European Journal of Pain**, v. 9, n. 2, p. 105-108, 2005. ISSN 1532-2149.

NGUYEN, A. T.; ARMSTRONG, E. A.; YAGER, J. Y. Neurodevelopmental Reflex Testing in Neonatal Rat Pups. **Journal of visualized experiments: JoVE**, n. 122, 2017. ISSN 1940-087X.

NUSEIR, K. Q. et al. Sucrose-induced analgesia during early life modulates adulthood learning and memory formation. **Physiology & behavior**, v. 145, p. 84-90, 2015. ISSN 0031-9384.

NUSEIR, K. Q. et al. Sucrose and naltrexone prevent increased pain sensitivity and impaired long-term memory induced by repetitive neonatal noxious stimulation: Role of BDNF and β -endorphin. **Physiology & Behavior**, 2017. ISSN 0031-9384.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Organización Mundial de la Salud. Nacimientos prematuros. 2016. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs363/es/>>. Acesso em: 05/08/2017.

PAGE, G. G.; BLAKELY, W. P.; KIM, M. The impact of early repeated pain experiences on stress responsiveness and emotionality at maturity in rats. **Brain, behavior, and immunity**, v. 19, n. 1, p. 78-87, 2005. ISSN 0889-1591.

PAGE, G. G.; HAYAT, M. J.; KOZACHIK, S. L. Sex differences in pain responses at maturity following neonatal repeated minor pain exposure in rats. **Biological research for nursing**, v. 15, n. 1, p. 96-104, 2013. ISSN 1099-8004.

PAPALIA, D. E.; FELDMAN, R. D. **Desenvolvimento humano**. Artmed Editora, 2013. ISBN 8580552176.

PLAYFOR, S. et al. Consensus guidelines on sedation and analgesia in critically ill children. **Intensive care medicine**, v. 32, n. 8, p. 1125-1136, 2006. ISSN 0342-4642.

QUINN, M. W. et al. Randomised double-blind controlled trial of effect of morphine on catecholamine concentrations in ventilated pre-term babies. **Lancet**, v. 342, n. 8867, p. 324-7, Aug 7 1993. ISSN 0140-6736 (Print)

0140-6736.

RANGER, M. et al. Neonatal pain-related stress predicts cortical thickness at age 7 years in children born very preterm. **PLoS One**, v. 8, n. 10, p. e76702, 2013. ISSN 1932-6203.

REBOUÇAS, E. et al. Effect of the blockade of μ 1-opioid and 5HT2A-serotonergic/ α 1-noradrenergic receptors on sweet-substance-induced analgesia. **Psychopharmacology**, v. 179, n. 2, p. 349-355, 2005. ISSN 0033-3158.

ROOFTHOOFT, D. W. et al. Eight years later, are we still hurting newborn infants? **Neonatology**, v. 105, n. 3, p. 218-226, 2014. ISSN 1661-7800.

ROZISKY, J. R. et al. Long-term effect of morphine administration in young rats on the analgesic opioid response in adult life. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 26, n. 6, p. 561-565, 2008. ISSN 0736-5748.

SANADA, L. S. et al. Cortex glial cells activation, associated with lowered mechanical thresholds and motor dysfunction, persists into adulthood after neonatal pain. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 35, p. 55-63, 2014. ISSN 0736-5748.

SCHWALLER, F.; FITZGERALD, M. The consequences of pain in early life: Injury-induced plasticity in developing pain pathways. **European journal of neuroscience**, v. 39, n. 3, p. 344-352, 2014. ISSN 1460-9568.

SELLAM, G. et al. Contextual factors associated with pain response of preterm infants to heel-stick procedures. **European Journal of Pain**, v. 17, n. 2, p. 255-263, 2013. ISSN 1532-2149.

ŞENER TAPLAK, A.; ERDEM, E. A Comparison of Breast Milk and Sucrose in Reducing Neonatal Pain During Eye Exam for Retinopathy of Prematurity. **Breastfeeding Medicine**, 2017. ISSN 1556-8253.

SIMONS, S. H. et al. Do we still hurt newborn babies?: A prospective study of procedural pain and analgesia in neonates. **Archives of pediatrics & adolescent medicine**, v. 157, n. 11, p. 1058-1064, 2003. ISSN 1072-4710.

SIMONSE, E.; MULDER, P. G.; VAN BEEK, R. H. Analgesic effect of breast milk versus sucrose for analgesia during heel lance in late preterm infants. **Pediatrics**, v. 129, n. 4, p. 657-663, 2012. ISSN 0031-4005.

STEVENS, B. et al. Sucrose for analgesia in newborn infants undergoing painful procedures. **Cochrane Database Syst Rev**, v. 7, p. Cd001069, Jul 16 2016. ISSN 1361-6137.

SWEET, S. D.; MCGRATH, P. J. Physiological measures of pain. 1998.

SYLVETSKY, A. C. et al. Development of Sweet Taste Perception: Implications for Artificial Sweetener Use. In: (Ed.). **Developmental Biology of Gastrointestinal Hormones**: Karger Publishers, v.32, 2017. p.87-99.

TADDIO, A. et al. Effect of neonatal circumcision on pain response during subsequent routine vaccination. **The lancet**, v. 349, n. 9052, p. 599-603, 1997. ISSN 0140-6736.

TITA, B. et al. Analgesic properties of *Epilobium angustifolium*, evaluated by the hot plate test and the writhing test. **Il Farmaco**, v. 56, n. 5, p. 341-343, 2001. ISSN 0014-827X.

TREMBLAY, S. et al. Repeated exposure to sucrose for procedural pain in mouse pups leads to long-term widespread brain alterations. **Pain**, v. 158, n. 8, p. 1586-1598, 2017. ISSN 0304-3959.

TU, M. T. et al. Maternal stress and behavior modulate relationships between neonatal stress, attention, and basal cortisol at 8 months in preterm infants. **Developmental psychobiology**, v. 49, n. 2, p. 150-164, 2007. ISSN 1098-2302.

VALERI, B. et al. Pain reactivity in preterm neonates: examining the sex differences. **European journal of pain**, v. 18, n. 10, p. 1431-1439, 2014. ISSN 1532-2149.

VALERI, B. O.; HOLSTI, L.; LINHARES, M. B. Neonatal pain and developmental outcomes in children born preterm: a systematic review. **The Clinical journal of pain**, v. 31, n. 4, p. 355-362, 2015. ISSN 0749-8047.

VENTURA, A. K.; MENNELLA, J. A. Innate and learned preferences for sweet taste during childhood. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v. 14, n. 4, p. 379-384, 2011. ISSN 1363-1950.

VINALL, J. et al. Neonatal pain in relation to postnatal growth in infants born very preterm. **Pain**, v. 153, n. 7, p. 1374-1381, 2012. ISSN 0304-3959.

VINALL, J. et al. Parent behaviors moderate the relationship between neonatal pain and internalizing behaviors at 18 months corrected age in children born very prematurely. **PAIN®**, v. 154, n. 9, p. 1831-1839, 2013. ISSN 0304-3959.

WALKER, S. M. Biological and neurodevelopmental implications of neonatal pain. **Clinics in perinatology**, v. 40, n. 3, p. 471-491, 2013. ISSN 0095-5108.

WALKER, S. M. Neonatal pain. **Paediatr Anaesth**, v. 24, n. 1, p. 39-48, Jan 2014. ISSN 1155-5645.

WELLS, G. et al. **The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for assessing the quality of nonrandomised studies in meta-analyses.** Ottawa: Ottawa Hospital Research Institute; 2011: oxford. asp 2011.

YOUNG, E. E. et al. Neurobiological Consequences of Early Painful Experience: Basic Science Findings and Implications for Evidence-Based Practice. **The Journal of perinatal & neonatal nursing**, v. 31, n. 2, p. 178-185, 2017. ISSN 0893-2190.

ANEXO A

Artigo publicado em *Pain Medicine*

Conceito Qualis B1 na Medicina I, fator de impacto 2,339

Letters to the Editor*Pain Medicine* 2016; 17: 1204–1206
doi: 10.1093/pm/pnw059

OXFORD

Influence of Neonatal Pain in Motor Development During Childhood

Dear Editor,

The neonatal period comprises the first stage of childhood, when the ability to verbally express pain is not yet established [1]. However, perception of nociceptive stimuli develops after the first gestational trimester, with the formation of spinal cord and peripheral structures and maturation of brain areas associated with pain perception [2]. The effects caused by neonatal pain involve sensory, cognitive, emotional, and motor alterations that are present during the first days of life [3–6]. Despite that, evidence that these effects influence development until adulthood is limited, particularly regarding motor performance [7]. Few studies have investigated this, even though it is considered relevant to the physical and psychological well-being of infants and children.

A systematic search performed in four electronic databases (PubMed/Medline, Scopus, SciELO, and LILACS) between December 2014 and June 2015 resulted in the identification of only two studies on this topic. MeSH terms and their synonyms were combined with the use of Boolean operators AND and OR, resulting in the following search strategy: (“Infant, Newborn” [mesh terms]) OR (“Infant, Premature” [mesh terms]) AND (“Pain” [mesh terms]) AND (“Motor Skills” [mesh terms]).

These two studies were both from the same lead author and were performed in neonatal intensive care units (NICUs) in Canada [8,9]. Two hundred and forty-six (N=246) neonates and children were followed at different stages of development in the two studies; 35 of these were observed at 32 weeks’ gestational age (pre-mature) and at 4 and 8 months old [8], and 211 of these children were evaluated at 8 and 18 months old [9].

All subjects included in these cohort studies were considered to be exposed to pain through specific procedures performed in NICUs, such as blood collection [8] and invasive procedures on the skin (pricking the heel, chest tube insertion, intramuscular injection). The control group was composed of full-term children who were not admitted to the NICU or exposed to painful stimuli and were evaluated at home [9].

Medical records were reviewed, and the following parameters were evaluated: motor and cognitive development [8,9], measurement of pain reaction, quality of motor activity, state of alertness [8,9], parental stress, and interaction between children and parents [9]. Reaction to pain, quality of motor activity, and motor development were considered to be directly related to nociception and motor skills. Instruments used to assess these parameters, as well as the outcomes found, are described in Table 1.

In both studies, the Bayley Scales of Infant Development 2nd Edition (BSID-II) were used to measure children’s psychomotor and cognitive development [8,9]. In the more recent study [9], the indices related to psychomotor development (PDIs) evaluated at 8 and 18 months were inversely proportional to the number of invasive procedures on the skin during the neonatal period. In addition, the mental development index (MDI) of children aged 18 months was also negatively influenced by the repetition of invasive procedures in the NICU.

In contrast, the first study [8] showed no significant correlations between the BSID-II levels and reaction to pain assessments (behavioral and autonomic). However, another instrument, called the Movement Assessment of Infant Scale (MAI), was used to assess the quality of the motor activity of children at three distinct phases of growth (32 post-gestational weeks, 4 months, and 8 months old). This scale has four components (muscle tone, primitive reflexes, automatic reactions, and volitional movement) that were measured.

After measurements, an inverse correlation was found between the risk of abnormal motor development at 8 months (higher scores on the MAI scale, changes in muscle tone, and the presence of primitive reflexes) and behavioral and autonomic responses to pain during the neonatal period (32 weeks after pregnancy). As for the performance in volitional movements developed by the children at 4 months of life, an inverse correlation between this MAI scale category and behavioral pain responses was observed. Autonomic reactions during blood collection (painful stimuli) were represented by the direct relationship between cardiac electrical activity and the integration of primitive reflexes presented by infants at 4 months [8].

Methodological assessment of these studies was carried out using the Newcastle-Ottawa Quality Assessment Scale (NOS) [10]. High risk of bias for the included studies was related to the selection of the non-exposed cohort, demonstrating that the outcome of interest was not present at the beginning of the study [8,9], and to the comparability of cohorts on the basis of the design or analysis [8].

The main findings related to this issue concern the impairment of children’s motor development from the early days after birth to 18 months of age due to painful procedures in the neonatal period [8,9]. The second study found that the larger number of nociceptive stimuli present in the initial stage of life was enough to reduce the acquisition and performance of motor activities at each stage of development, evidenced by low motor

ANEXO B

Comprovante de submissão na *International Journal of Developmental Neuroscience*
Conceito Qualis B1 na Medicina I, fator de impacto 2,046

Track your co-authored submission to International Journal of Developmental Neuroscience

International Journal of Developmental Neuroscience <Evisesupport@elsevier.com>

dom 18/02/2018 19:54

Para: belaafs@hotmail.com <belaafs@hotmail.com>;

Dear Dr Azevedo-Santos,

Submission no: DN_2018_49

Submission title: INFLUENCE OF SUCROSE ON SENSITIVE AND MOTOR FUNCTION IN EXPERIMENTAL MODEL OF NEONATAL PAIN

Corresponding author: Professor Josimari Santana

Listed co-author(s): Miss Michelly Cardoso Silva, Dr Isabela Azevedo-Santos, Professor Leandro Marques de Souza, Ms Jéssica Daiane dos Santos Medeiros, Dr Thiago Abner Sousa

Professor Santana has submitted a manuscript to International Journal of Developmental Neuroscience and listed you as a co-author. This email is to let you know we will be in contact with updates at each decision stage of the submission process.

The link below takes you to a webpage where you can sign in to our submission system using your existing Elsevier profile credentials or register to create a new profile. You will then have the opportunity to tailor these updates and view reviewer and editor comments once they become available.

http://www.evises.com/profile/api/navigate/DN?resourceUrl=%2Fco-author%2F%3Fdocid%3Dinvite_email_coauthoroutreach07365748%23%2FDN%2Fsubmission%2FDN_2018_49

If you are not a co-author of this manuscript, please contact Researcher Support at: <https://service.elsevier.com>

Thank you very much for your submission and we will be in touch as soon as we have any news to share.

International Journal of Developmental Neuroscience

If you do not wish to receive further update emails on your co-authored submission, you can unsubscribe via this link:

http://www.evises.com/co-author/#/DN/unsubscribe/belaafs@hotmail.com/dkvnNmVmkFFr16cTwAeTMrYK65oaMqzCmazNVSUsm5_ApNwAD5d6f6cmr3MKi57i

ANEXO C

Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa em Animais (CEPA/UFS)

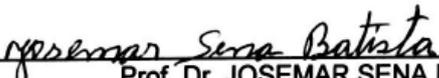


UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COORDENAÇÃO DE PESQUISA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM ANIMAIS (CEPA)

DECLARAÇÃO

Declaro, para os devidos fins, que o Projeto de Pesquisa intitulado **“INFLUÊNCIA DA HIPERALGESIA E DO USO DA SACAROSE INTRA-ORAL NO DESENVOLVIMENTO SENSÓRIO-MOTOR EM MODELO EXPERIMENTAL DE DOR NEONATAL.”** Sob Coordenação da **Profª. Drª. Josimari Melo de Santana** (protocolo **CEPA 39/2015**) foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da Universidade Federal de Sergipe, em reunião realizada dia 02/02/2016.

São Cristóvão, 02 de fevereiro de 2016.



Prof. Dr. JOSEMAR SENA BATISTA
Coordenador do CEPAUFS