



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**ODONTOBLASTO: UMA CÉLULA SENSORIAL AO SERVIÇO DA
NOCICEPÇÃO**

Trabalho submetido por
Maxime Le Guevel
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Setembro de 2020



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**ODONTOBLASTO: UMA CÉLULA SENSORIAL AO SERVIÇO DA
NOCICEPÇÃO**

Trabalho submetido por
Maxime Le Guevel
para a obtenção do grau de **Mestre** em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof.^a Doutora Isabel Barahona

Setembro de 2020

Agradecimentos

Queria agradecer a minha orientadora de tese, a Prof.^a Doutora Isabel Barahona pelo sua disponibilidade e pela sua ajuda nesta etapa final.

Queria também agradecer os meus pais que tornaram este momento possível e que me deram apoio, força e perseverança, especialmente à minha mãe, que sempre esteve presente.

À minha irmã Margaux e o meu irmão Grégoire que sempre esteve presente para mim.

Queria também agradecer a todas as pessoas que encontrei aqui em Portugal.

Um agradecimento muito especial aos meus amigos de Brest, que fazem parte da minha família.

A Egas Moniz, por me ter aceito e permitido obter um diploma em medicina dentária.

Resumo

O odontoblasto diferencia-se durante a odontogênese e desempenha diferentes funções durante toda a vida do órgão dental. Contribuem primeiro para a formação e mineralização do dente, garantindo a proteção do dente pela produção de dentina reacional. Estas células ciliadas também parecem desempenhar um papel na transmissão da dor. A sua localização espacial única, em estreita relação com as terminações nervosas da polpa, sugere que possam desempenhar um papel fundamental na transdução sensorial dos eventos que ocorrem no interior da dentina.

Esta revisão narrativa pretende estudar a sensorialidade potencial dos odontoblastos, analisando a expressão de receptores sensoriais e mecanismos moleculares subjacentes, permitindo a percepção e transmissão de sinais nociceptivos da dor dentinária.

Ao nível dos métodos, para esta revisão narrativa, foi feita uma pesquisa bibliográfica, utilizando os motores de pesquisa Pubmed/MEDLINE, Science Direct, Scopus, Cochrane Library e outras fontes secundárias. Utilizamos artigos em português, espanhol, inglês e francês disponíveis em texto completo publicados nos últimos 15 anos e ainda outros estudos baseados em evidências.

Palavras-chaves: odontoblasto, nocicepção, canal iónico, nociceptor.

Abstract

The odontoblast differentiates itself during dentistry and performs different functions throughout the life of the dental organ. They first contribute to the formation and mineralization of the tooth, ensuring the protection of the tooth by the production of reactionary dentin. These ciliated cells also seem to play a role in the transmission of pain. Their unique spatial location, in close relationship with the nerve endings of the pulp, suggests that they can play a key role in the sensory transduction of events occurring inside the dentin.

This narrative review aims to study the potential sensoriality of odontoblasts by analysing the expression of sensory receptors and underlying molecular mechanisms, allowing the perception and transmission of nociceptive signals of dentin pain.

In terms of methods, for this narrative review, a bibliographic search was made using Pubmed/MEDLINE, Science Direct, Scopus, Cochrane Library and other secondary sources. We have used articles in Portuguese, Spanish, English and French available in full text published in the last 15 years as well as other evidence-based studies.

Keywords: odontoblast, nociception, ionic channel, nociceptor.

Índice Geral

RESUMO.....	1
ABSTRACT	3
ÍNDICE GERAL.....	5
ÍNDICE DE FIGURAS	7
ÍNDICE DE TABELAS.....	8
LISTA DE ABREVIATURAS.....	9
INTRODUÇÃO	11
DESENVOLVIMENTO.....	13
1. NOCICEPÇÃO DENTÁRIA.....	13
1.1. DOR E NOCICEPÇÃO.....	13
1.2. VIAS NOCICEPTIVAS.....	13
1.2.1. O protoneurónio.....	13
1.2.2. As vias medulares e centrais	14
1.2.3. As vias aferentes do trigêmeo.....	16
1.2.4. Inervação do órgão dentário.....	18
1.3. ETIOPATOGENIA DA DOR DENTÁRIA.....	19
1.3.1. Teoria do “odontoblasto transdutor”.....	20
1.3.1.1. Receptores sensoriais presentes nos odontoblastos	21
1.3.2. Teoria neural	22
1.3.3. Teoria hidrodinâmica de Brannström	23
1.3.3.1. Movimento do fluido dentinário.....	24
2. RECEPTORES DE DOR.....	24
2.1. A SUPERFAMÍLIA DOS CANAIS TRP	24
2.1.1. O TRPV1.....	26
2.1.1.1. Classificação	26
2.1.1.2. Estrutura biológica	26
2.1.1.3. Regulação do TRPV1	29
2.1.2. TRPV4.....	30
2.1.2.1. Estrutura do TRPV4	30

2.1.2.2. <i>Propriedades gerais</i>	32
2.1.3. TRPM8	32
2.1.3.1. <i>Estrutura biológica</i>	33
2.1.3.2. <i>Ativação TRPM8</i>	33
2.1.4. TRPA1	34
2.1.4.1. <i>Estrutura do TRPA1</i>	34
2.1.4.2. <i>Ativação TRPA1</i>	35
2.2. A FAMÍLIA DOS CANAIS ASIC	35
2.2.1. <i>Princípios gerais</i>	35
2.2.2. <i>Propriedade estrutural</i>	36
2.2.3. <i>Propriedades dos Canais ASIC</i>	37
3. TRANSDUÇÃO E TRANSMISSÃO ODONTOBLÁSTICA	38
3.1. O ODONTOBLASTO: UMA CÉLULA EXCITÁVEL?.....	38
3.1.1. <i>Receptor sensorial e potencial de receptor</i>	39
3.2. TRANSMISSÃO DE SINAL INTERCELULAR ENTRE ODONTOBLASTOS E NERVOS.....	41
3.2.1. <i>Via purinérgica</i>	41
3.2.2. <i>Papel do ATP na comunicação odontoblasto-nervo</i>	42
CONCLUSÃO	45
BIBLIOGRAFIA	46

Índice de figuras

Figura 1: Vias de aferência nociceptiva – *p.14*

Figura 2: Vias espino-talâmicas e espino-reticulares – *p.15*

Figura 3: Esquema vias nociceptivas – *p.16*

Figura 4: Esquema dos ramos do trigêmeo – *p.17*

Figura 5: Esquema da inervação do trigêmeo – *p.17*

Figura 6: Representação dos odontoblastos e das suas relações com a dentina e as fibras nervosas – *p.18*

Figura 7: Esquema das três hipóteses para explicar a nocicepção dentária – *p.20*

Figura 8: Esquema do mecanismo molecular da teoria neuronal – *p.22*

Figura 9: Esquema do mecanismo molecular da teoria hidrodinâmica – *p.23*

Figura 10: Árvore filogenética dos canais TRP de *C. elegans*, *Drosophila melanogaster*, e *Homo sapiens* – *p.24*

Figura 11: Topologia de uma subunidade de TRPV1 – *p.26*

Figura 12: Esquema da configuração fechada do canal TRPV1 – *p.28*

Figura 13: Estrutura do TRPV4 – *p.30*

Figura 14: Topologia da proteína TRPM8 – *p.32*

Figura 15: Detalhes estruturais de uma única subunidade TRPA1 – *p.34*

Figura 16: Estrutura geral dos receptores ASIC – *p.36*

Figura 17: Mecanismos pelos quais o canal TRP pode transmitir a dor dentária quando são aplicados estímulos externos na superfície do dente – *p.39*

Figura 18: Esquema da conversão de um potencial receptor num potencial de acção – *p.40*

Figura 19: Localização dos diferentes receptores purinérgicos nas sinapses – *p.42*

Figura 20: Esquema da comunicação odontoblastos nervos – *p.43*

Índice de tabelas

Tabela 1: Características das fibras nervosas – *p. 18*

Lista de abreviaturas

A°: *angström*

aa: aminoácido

ADP: difosfato de adenosina (*do inglês Adenosine Diphosphate*)

AMP: monofosfato de adenosina (*do inglês Adenosine Monophosphate*)

ATP: trifosfato de adenosina (*do inglês Adenosine Triphosphate*)

ARD: domínio de repetição Ankyrin (*do inglês Ankyrin Repeat Domain*)

ASIC: canal iónico sensor de ácidos (*do inglês Acid-Sensing Ion Channel*)

Ca²⁺: íão cálcio (*Calcium*)

CaM: calmodulina (*do inglês Calmodulin*)

CD: domínio citosólico (*do inglês cytosolic domain*)

CTD: domínio C-terminal (*do inglês C-Terminal Domain*)

ENaC: canal de sódio epitelial (*do inglês Epithelial Sodium Channel*)

ER: retículo endoplasmático (*do inglês Endoplasmic Reticulum*)

G1/2: *Gate 1/2*

KCa: canal de potássio ativado por cálcio (*do inglês Calcium-activated Potassium Channel*)

kDa: quilodalton (*do inglês Kilodalton*)

Kv: Canal de potássio dependente de voltagem

Mg⁺: íão magnésio

MHR: Região Homóloga da Melastatina (*do inglês Melastatin Homology Region*)

mRNA: ácido ribonucleico mensageiro

Na⁺: íão sódio

NGF: fator de crescimento dos neurónios (*do inglês Nerve growth factor*)

NTPDase2: Enzima nucleosídeo trifosfato difosfohidrolase-2

PA: potencial de ação (*do inglês Action potencial*)

PANX1: *Pannexin1*

PCR: reacção em cadeia da polimerase (*do inglês Polymerase Chain Reaction*)

PDZ: Proteína densidade pós-sináptica 95, grandes discos, zónula-ocludentes-1 (*do inglês Post-synaptic density, Disks-large and Zonula occludens-1*)

pH: potencial hidrogénio (*do inglês Potential of Hydrogen*)

PIP2: fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (*do inglês lPhosphatidylinositol 4,5-bisphosphate*)

PRD: dominio rico em prolina (*do inglês Proline Rich Domain*)

P2: receptor purinérgico do tipo 2

P2R: receptor purinérgico do tipo 2 da família R

P2X: receptor purinérgico do tipo 2 da família X

P2Y: receptores purinérgicos do tipo 2 da família Y

RNA: ácido ribonucleico mensageiro (*do inglês Messenger ribonucleic acid*)

RTX: resiniferatoxina (*do inglês Resiniferatoxin*)

SNC: sistema nervoso central

SNP: sistema nervoso periférico

SSD: dessensibilização em estado estável (*do inglês steady-state desensitization*)

TG: gânglios do trigêmeo (*do inglês Trigeminal Ganglia*)

TMD: canal transmembranar (*do inglês transmembrane channel domain*)

TRP: receptor de potencial transitório (*do inglês Transient Potential Receptor*)

TRPA: receptor de potencial transitório anquirina (*do inglês Transient Potential Receptor Ankyrin*)

TRPC: receptor de potencial transitório canônico (*do inglês Transient Potential Receptor Canonical*)

TRPM: receptor de potencial transitório melastatina (*do inglês Transient Potential Receptor Melastatin*)

TRPML: receptor de potencial transitório mucolipina (*do inglês Transient Potential Receptor Mucolipin*)

TRPN: receptor de potencial transitório no mecanoreceptor potencial C ou nompC (*do inglês Transient Potential Receptor No mechanoreceptor potential C/nompC*)

TRPP: receptor de potencial transitório policistina (*do inglês Transient Potential Receptor Polycystin*)

TRPV: receptor de potencial transitório vanilloide (*do inglês Transient Receptor Potential Vanilloide*)

TRPY: receptor de potencial transitório de levedura (*do inglês Transient Potential Receptor Yeast*)

VRL: receptor de potencial transitório vanilloide (*do inglês Vanilloid Receptor-Like*)

VR-OAC: canal ativado osmoticamente relacionado com o receptor de vaniloide (*do inglês Vanilloid Receptor-related Osmotically Activated Channel*).

Introdução

O odontoblasto, a célula responsável pela formação da dentina, parece desempenhar um papel importante na geração de sinais dentários nociceptivos. A sua estreita relação com as fibras nervosas leva a considerá-lo como um ator central na transmissão de eventos sensoriais para as fibras nervosas pulpares. Embora seja tentador considerar o odontoblasto como uma célula capaz de integrar vários sinais somatosensoriais (fresagem, sondagem, movimento do líquido dentinário, variações de temperatura), é legítimo questionar-se sobre os meios que lhe permitem transmitir informação às fibras nervosas vizinhas (Maurin, Couble, Thivichon-Prince & Magloire, 2013).

A sua morfologia particular, constituída por uma longa extensão odontoblástica inserida nos túbulos dentinários juntamente com fibras nervosas, e a sua localização no bordo da dentina e tecido pulpar, fazem desta célula um alvo preferencial para qualquer agente patogénico ou estímulo externo (Byers & Närhi, 1999).

Na verdade, a sensibilidade dentinária é uma situação clínica com a qual o profissional vê-se diariamente confrontado. Resulta em dor em resposta a estímulos de natureza térmica, tátil, osmótica ou química, e é a sintomatologia da hipersensibilidade dentária. A hipersensibilidade dentária é uma patologia dentária dolorosa frequentemente observada, afetando em média 30% da população adulta. Atualmente, a sua gestão e as terapias administradas nem sempre são muito eficazes, devido à falta de conhecimento dos fenómenos biológicos na origem da transdução dos sinais dentários nociceptivos (Bartold, 2006).

Esta tese propõe-se estudar a potencial sensorialidade dos odontoblastos, através da análise da expressão dos receptores sensoriais que permitem a percepção e transmissão dos sinais nociceptivos da dor dentária.

Desenvolvimento

1. NOCICEPÇÃO DENTÁRIA

1.1. DOR E NOCICEPÇÃO

De acordo com a definição oficial do IASP “A dor é definida como uma experiência sensorial e emocional desagradável relacionada com ou descrita em termos de danos reais ou potenciais dos tecidos” (Beaulieu, 2013).

A dor dentária resulta da exposição da dentina após a erosão bacteriana, química ou mecânica do esmalte e/ou recessão da gengiva. A dentina contém células com os seus próprios receptores, os seus circuitos de integração e, sobretudo, regulam e transmitem a dor para centros superiores (Bert, 2017).

Os fisiologistas distinguem entre dor e nociceção, onde a nociceção refere-se aos sinais que chegam ao sistema nervoso central (SNC) resultante da ativação dos receptores sensoriais especializados, chamados nociceptores, que fornecem informações sobre a lesão tecidual. Consequentemente, a dor é uma experiência emocional desagradável que geralmente acompanha a nociceção (Fein, 2011).

1.2. VIAS NOCICEPTIVAS

A dor nociceptiva ou somática resulta da estimulação direta dos nociceptores e envolve a integridade do sistema nervoso periférico (SNP) e central. As suas causas são múltiplas: traumas, processos tumorais, infeções, pulpite. Estas são as mais frequentes e são classificadas como dor profunda e superficial. Embora a dor superficial apresente poucos problemas de diagnóstico devido à sua expressão como dor aguda e precisa, a dor profunda é muito mais difícil de identificar (Peyron, 2007).

1.2.1. O protoneurónio

O protoneurónio transmite a mensagem nervosa da periferia, da pele ou de um órgão, para a medula espinal. É o primeiro neurónio no caminho aferente. Tem nos prolongamentos receptores de dor específicos, os nociceptores. O protoneurónio é

composto por fibras nociceptivas de natureza variada: fibras A δ e C. Estas fibras fazem a ligação entre o nervo sensorial e o corno posterior da medula espinal (Figura 1). Estas fibras conectam-se então com um segundo neurónio também chamado neurónio espinal (Freud, Darkschewitsch & Longé, 2015).

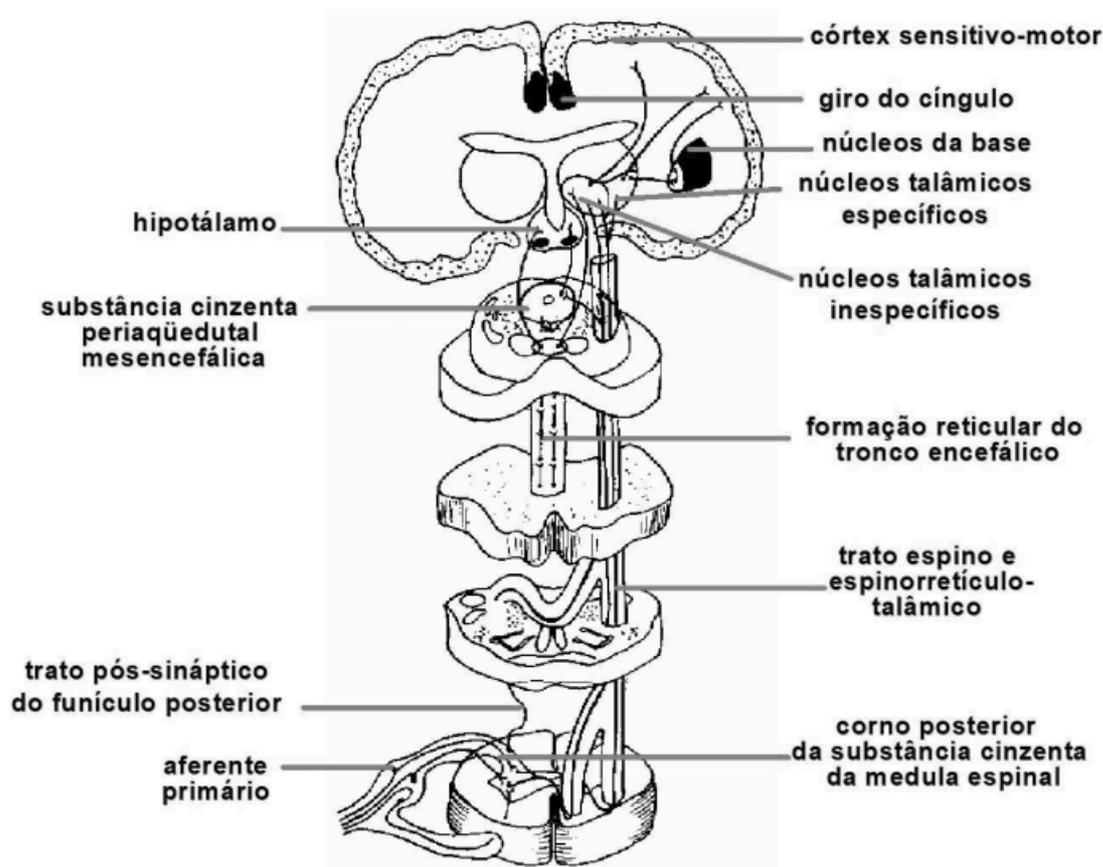


Figura 1: Vias de aferência nociceptiva (Teixeira, 2001)

1.2.2. As vias medulares e centrais

A medula espinal é o local de controle segmentar, controle de portões, influxos doloroso e da sua intensidade. A partir daí, os feixes medulares ascendentes nociceptivos projectam-se até às estruturas supraespinais (Byers & Narhi, 1999).

Os axónios dos neurónios nociceptivos espinais constituem o trato ântero-lateral que consiste em dois feixes separados (Figura 2):

- O feixe espinotalâmico transmite informação nociceptiva da medula para o tálamo. O tálamo está envolvido em respostas à estimulação mecânica e térmica.

Ele também desempenha um papel na sensibilização durante a repetição de estímulos (Peyron, 2007).

- O feixe espino-reticulo-talâmico é projectado ao nível do tálamo, atuando como um retransmissor no retículo. Tem muitas ligações com outras estruturas como o hipotálamo ou o sistema límbico. O hipotálamo é então responsável pela componente neurovegetativa da resposta à dor, enquanto o sistema límbico gere a resposta emocional (Peyron, 2007).

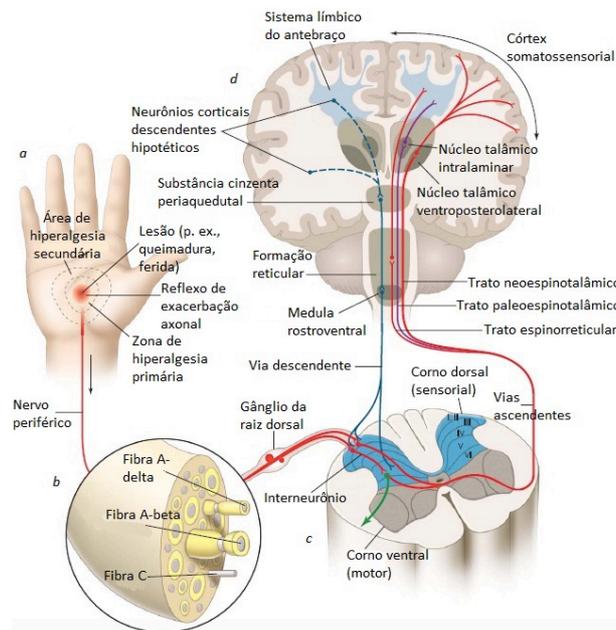


Figura 2: Vias espino talâmicas e espino reticulares
(<http://www.medicinanet.com.br/imagens/20121218101957.jpg>)

Os percursos nociceptivos provocam diferentes tipos de respostas (Figura 3). A resposta motora envolve reflexos de proteção ou de fuga. A resposta neurovegetativa ativa centros automáticos que aceleram os batimentos cardíacos ou a respiração. Quanto à resposta psicomotora, ela permite que a pessoa expresse seus sentimentos ou emoções (Vibes, 2001).

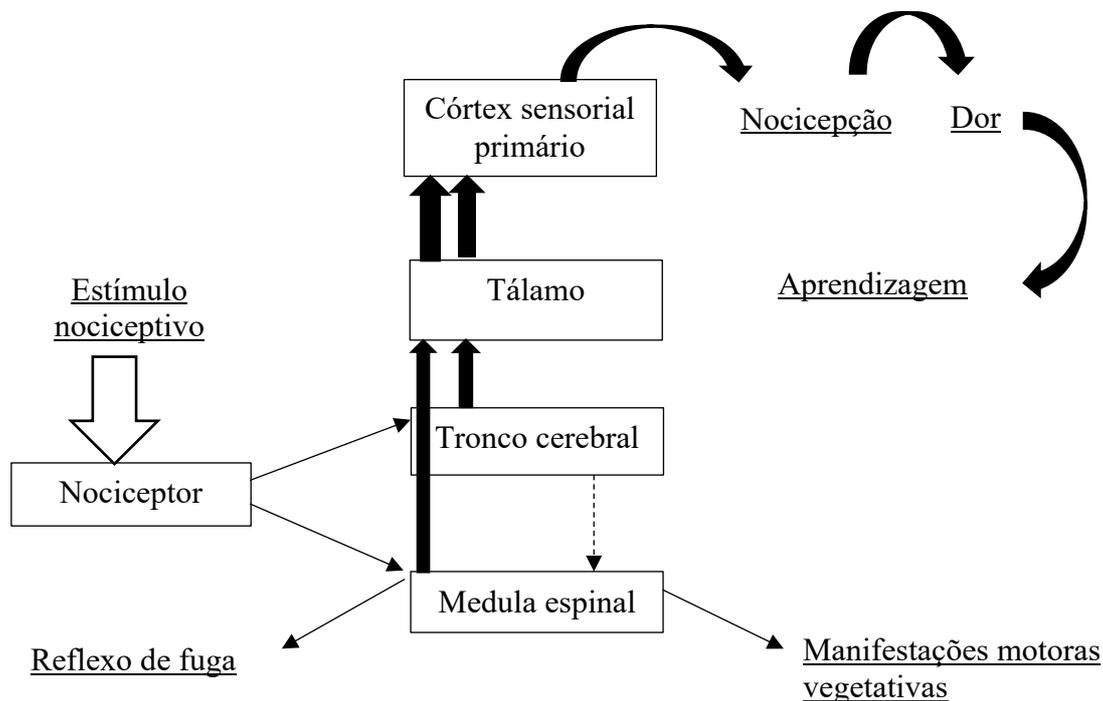


Figura 3: Esquema vias nociceptivas (adaptado de Vibes, 2001)

1.2.3. As vias aferentes do trigêmeo

As vias sensoriais da cabeça são diferentes das do resto do corpo porque não se retransmitem para a medula espinal. Passam diretamente através dos nervos cranianos da medula espinal para o tronco cerebral, sem retransmitirem-se para a medula espinal (Byers & Närhi, 1999).

O nervo trigêmeo é o quinto nervo craniano (Figura 4) e relança-se para o gânglio de Gasser. Surge na parte lateral da protuberância através de uma raiz sensorial e motora, por isso é um nervo misto. Permite a inervação sensível da face, da órbita, das fossas nasais, dos dentes e da cavidade bucal (Netter, 2011).

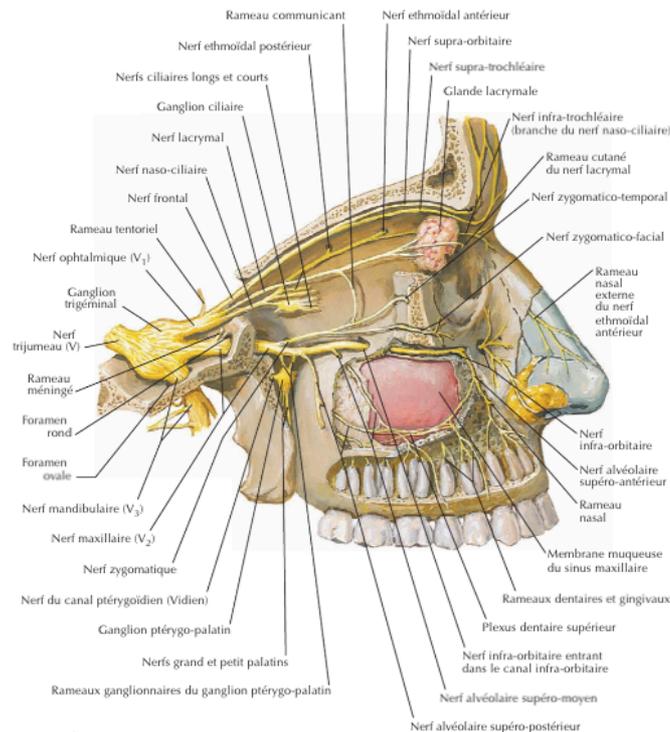


Figura 4: Esquema dos ramos do trigêmeo (Netter, 2011)

O trigêmeo está dividido em 3 ramos (Figura 5):

- O nervo oftálmico (V1) inerva a parte superior da face;
- O nervo maxilar (V2) inerva a parte média da face;
- O nervo mandibular (V3) inerva a parte inferior da face (Netter, 2011).

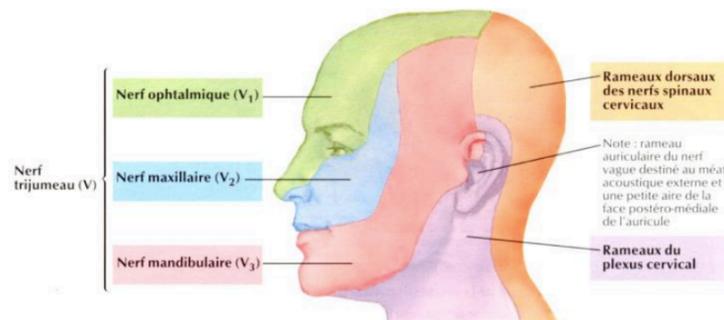


Figura 5: Esquema da inervação do trigêmeo (Netter, 2011)

As vias sensitivas nociceptivas dos dentes passam através do nervo trigêmeo. A rede nervosa pulpar permanece imatura durante a formação do dente e estabiliza-se quando o contato com o arco antagonista é estabelecido (Byers & Närhi, 1999).

1.2.4. Inervação do órgão dentário

Os dentes são estruturas altamente vascularizadas e ricamente inervadas. Os nervos de um dente estão principalmente confinados na polpa dentária. As redes nervosas detetoras de estímulos sensoriais na polpa dentária diferem em muitos aspetos da pele ou da mucosa oral. Os vários tipos de estímulos (por exemplo, mecânicos, químicos ou térmicos) na polpa dentária ou na dentina exposta geralmente só provocam sensação de dor, enquanto que estes estímulos aplicados à pele ou à mucosa oral produzem outros tipos distintos de sensação (Hossain et al., 2019).

Os nervos que entram na polpa dentária são constituídos por fibras simpáticas sensoriais e pós-ganglionares provenientes do trigêmeo e dos neurónios dos gânglios simpáticos superiores, respetivamente. No interior da polpa dentária, eles inervam os vasos sanguíneos, as células da polpa e os odontoblastos através das fibras que evoluíram a partir do plexo de Raschkow (Figura 6). Os odontoblastos, tanto no bordo dentina-polpa como no interior dos túbulos dentinários, são inervados por uma densa rede de fibras nervosas mielinizadas A δ e não mielinizadas C sensoriais. As fibras A δ localizam-se maioritariamente no bordo polpa-dentina e atingem a camada basal odontoblástica, enquanto as fibras C entram nos túbulos dentinários (Solé-Magdalena et al., 2018).

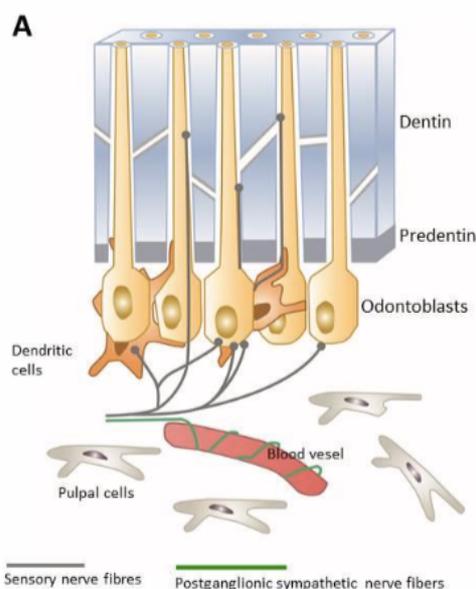


Figura 6: : Representação dos odontoblastos e das suas relações com a dentina e as fibras nervosas (Solé-Magdalena et al., 2018)

Estas fibras sensíveis atuam como nociceptores e pertencem a dois grupos de acordo com o seu diâmetro, velocidade de condução e função: A δ (mielinizada) e C (não mielinizada). No entanto, cerca de 7% das fibras mielinizadas que entram na polpa dos pré-molares humanos são do tipo A β (Jain et al., 2013).

Tabela 1: Características das fibras nervosas (adaptado Beaulieu, 2013)

Fibras	Mielinização	Diâmetros(μ m)	Velocidade de condução (m/s)	Função
A δ	Sim	10 – 25	60 – 100	Fibras motoras
A β	Sim	4 – 12	20 – 100	Fibras sensíveis: tacto e pressão
C	Não	0,3 – 2	0,2 – 2,5	Dor, temperatura, ANS, fibras pós-ganglionares

- As fibras A δ respondem a estímulos mecânicos (como o deslocamento do fluido intratubular). O seu limiar de excitabilidade é baixo, fazendo com que estas fibras sejam primeiras a reagir, pelo que estão na origem de sensações agudas, rápidas e precisas.
- As fibras A β estão pouco representadas na polpa dentária.
- As fibras polimodais C respondem a estímulos térmicos, mecânicos e químicos. O seu limiar de excitabilidade é elevado, pelo que só são ativadas depois de o estímulo ser intensificar. Estas fibras correspondem entre 70 a 90% do contingente do nervo pulpar e causam dor retardada, mal localizada e baça (Jain et al., 2013).

1.3. ETIOPATOGENIA DA DOR DENTÁRIA

Os neurónios detetam alterações ambientais nocivas e não nocivas e transmitem a informação sensorial por impulsos elétricos. Os sinais sensoriais dos dentes são transmitidos pelos nervos dentários que inervam a polpa dentária e a dentina. Neste sentido, o dente é um órgão sensorial único, na medida em que consiste numa polpa

amplamente innervada encapsulada por uma camada mineralizada de dentina e esmalte (Chung et al., 2013).

Para explicar a hipersensibilidade dentária, foram propostos 3 mecanismos (Figura 7): a teoria neural, onde as terminações nervosas que penetram os túbulos dentinários respondem diretamente aos estímulos externos; a teoria hidrodinâmica, em que os movimentos do fluido dentro dos túbulos dentinários são detetados por terminações nervosas próximas da dentina; e a teoria do odontoblasto transdutor, em que os próprios odontoblastos podem servir como transdutores de dor (Chung et al., 2013).

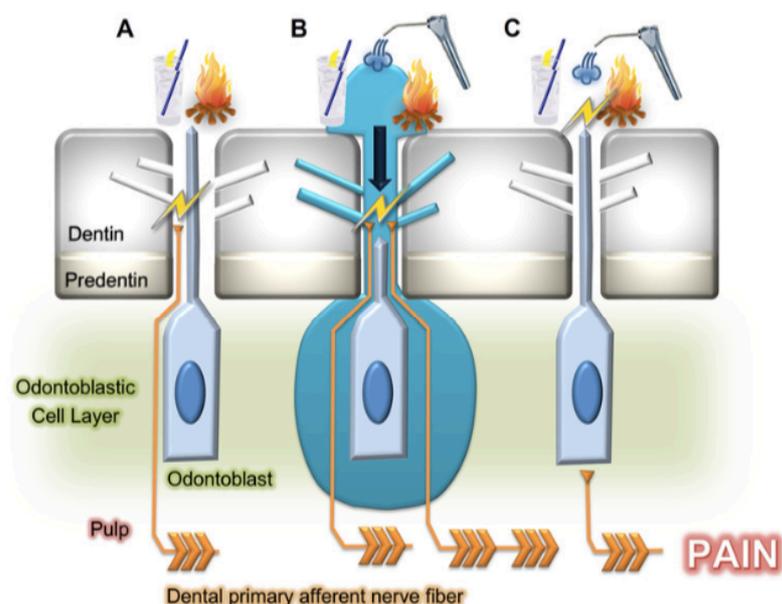


Figura 7: Esquema das três hipóteses para explicar a nocicepção dentária (Chung, Jung & Oh, 2013)
 (A) Teoria neural: as terminações nervosas no túbulo dentinário são ativadas diretamente por estímulos externos. (B) Teoria hidrodinâmica: o movimento de fluidos nos túbulos dentinários é detetada por terminações nervosas. (C) Teoria do odontoblasto transdutor: Os odontoblastos atuam como receptores da dor, assemelhando-se às células receptores gustativas nas papilas gustativas.

1.3.1. Teoria do “odontoblasto transdutor”

Os processos odontoblásticos são expostos na superfície dentinária e podem ser excitados por uma variedade de estímulos químicos e mecânicos. Como resultado deste estímulo, os neurotransmissores são libertados e os impulsos são transmitidos para as terminações nervosas (Chung et al., 2013).

A sua localização estratégica, juntamente com várias linhas de evidência, sugere que os odontoblastos possam desempenhar uma função adicional como transdutores

sensoriais. Esta nova função atribuída aos odontoblastos, baseia-se nos seguintes 3 critérios:

- Expressão funcional dos receptores de estímulos específicos;
- Capacidade de transmissão de sinais que acompanham a ativação dos receptores;
- Uma estrutura sináptica entre odontoblastos e neurónios (Chung et al., 2013).

1.3.1.1. Receptores sensoriais presentes nos odontoblastos

O movimento do fluido dentinário causado por estímulos na dentina poderá levar a uma estimulação da membrana odontoblástica, alterando assim a atividade dos canais iónicos (Linsuwanont, Versluis, Palamara & Messer, 2008).

Os mecanorreceptores presentes nos odontoblastos humanos são os receptores TRPV4 (canal catiónico receptor de potencial transitório vanilóide subtipo 4), ASIC2 (subunidade 2 do canal iónico de deteção de acidez) e as subunidades β -ENaC e Y-ENaC (canais de sódio epiteliais). Para os termo-receptores, apenas foram identificados os canais TRPM8 (membro 8 da subfamília de melastatina de canais catiónicos receptores de potencial transitório), TRPA1 (membro 1 da subfamília A de canais catiónicos receptores de potencial transitório ou receptor de potencial transitório anquirina subtipo 1) e TRPV1 (receptor valinoide 1) (Okumura et al., 2005; El Karim et al., 2011; Tazawa, Ikeda, Kawashima & Okiji, 2017).

1.3.1.2. O cílio primário da célula

Nos mamíferos, todas ou a maioria das células do corpo possuem um cílio primário que se projeta até ao espaço extracelular como uma antena que sai do plano da membrana plasmática. Esta estrutura é essencial para a percepção do microambiente celular, mecânico e químico (Pazour & Witman, 2003).

Tipicamente, os odontoblastos contêm um cílio primário que está envolvido na odontogénese, mas também na deteção do movimento de fluidos no tecido dentinário provocado por estímulos de alta pressão, osmótico, químico ou térmico. Este movimento pode causar deslocamentos do cílio, activando uma via de transdução de sinal. Assim, o cílio primário do odontoblasto poderia atuar como um "sensor" do microambiente (Thivichon-Prince et al., 2009).

1.3.2. Teoria neural

A teoria neural da hipersensibilidade da dentina atribui aos neurónios ganglionares trigêmeos nociceptivos que inervam a polpa dentária (ou seja, o dentário aferente primário) a função de sensores. Para desempenhar esta função, o neurónio deverá expressar um receptor específico de impulsos elétricos que faz parte de uma via de transdução do sinal (Figura 8). O estudo dos receptores nociceptivos em neurónios dentários aferentes primários revelou a presença e funcionalidade de vários canais TRP (receptor de potencial transitório) sensíveis ao calor em neurónios ganglionares do trigêmeo (Vandewauw, Owsianik & Voets, 2013).

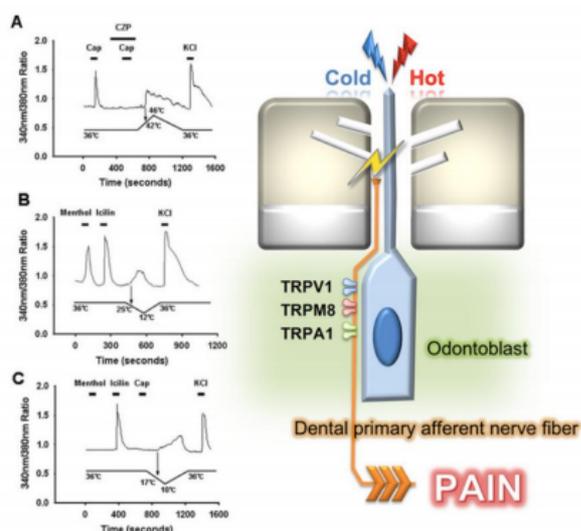


Figura 8: Esquema do mecanismo molecular da teoria neuronal. (A) Numa célula que responde à capsaicina, um transitório de cálcio foi induzido por calor nocivo (43 °C). (B) Numa célula que responde ao mentol e à icilina, um estímulo de frio (abaixo de 25 °C) evocou um transitório de cálcio. (C) Numa célula insensível ao mentol e sensível à icilina, a estimulação ao frio (abaixo de 17 °C) também evocou um transitório de cálcio (Chung, Jung & Oh, 2013).

Os canais TRP sensíveis ao calor são expressos pelos neurónios dentários aferentes primários. A expressão funcional de TRPV1 (A), TRPM8 (B) e TRPA1 (C) foi confirmada. Os potenciais de acção evocados pelo influxo de catiões como Ca^{2+} e Na^{+} através dos canais TRP transmitem sinais de dor ao sistema nervoso central (Vandewauw et al., 2013).

1.3.3. Teoria hidrodinâmica de Brannström

A teoria mais aceita para explicar a hipersensibilidade da dentina é a teoria hidrodinâmica de Brannström. Esta teoria proposta em 1972, mas ainda hoje válida diz que as dores dentárias súbitas e intensas são normalmente causadas por estímulos, que podem ser inofensivos, tais como spray de água, um sopro de ar ou substâncias doces (Figura 9). A vasta gama de dores dentárias não pode ser explicada apenas pela vias de transdução do sinal, activadas pela temperatura através dos canais TRP. A dor pulsátil frequentemente descrita na pulpíte irreversível dos pacientes sugere que a dor dentária seja induzida pela pressão hidrostática aplicada ao tecido inflamado da polpa que está encerrado no dente (Heyeraas & Berggreen, 1999).

As pulsações e a dor intensa induzidas por um leve sopro de ar também sugerem que a geração de dor dentária pode envolver a detecção de força mecânica (Chung et al., 2013).

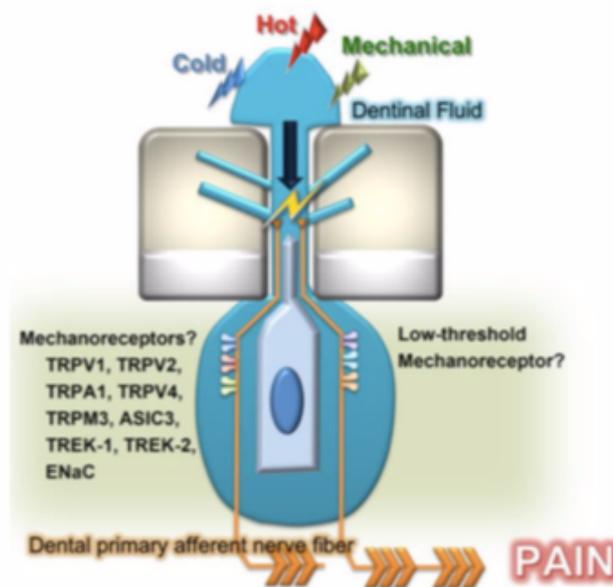


Figura 9: Esquema do mecanismo molecular da teoria hidrodinâmica. O movimento de fluidos iniciado por diversos estímulos externos permite a activação dos mecanorreceptores dos neurónios dentários aferentes primários (Chung, Jung & Oh, 2013).

Nestes casos, o movimento de fluidos iniciado por vários estímulos externos ativa os mecanorreceptores dos neurónios dentários aferentes primários, desencadeando a dor (Chung et al., 2013).

1.3.3.1. Movimento do fluido dentinário

O movimento rápido de fluidos nos túbulos dentinários em qualquer direção após um estímulo provoca a ativação dos baro-receptores, resultando numa descarga nervosa. As alterações de pressão através da dentina causam dor ao distorcer os prolongamentos odontoblásticos e ao ativar as terminações nervosas nos túbulos internos na junção polpa-predentina e no plexo nervoso subodontoblástico (Brännström & Johnson, 1978).

Estudos *in vivo* mostram que a resposta a um estímulo é proporcional à quantidade de fluido deslocado. A resposta é maior quando o deslocamento é da polpa para o exterior (estímulo frio ou spray de ar) do que no sentido inverso do exterior para a polpa, como no caso de um estímulo quente (Lin, Luo, Bai, Xu & Lu, 2011; Linsuwanont, Versluis, Palamara & Messer, 2008).

2. RECEPTORES DE DOR

2.1. A SUPERFAMÍLIA DOS CANAIS TRP

Os canais TRP representam uma nova grande família que inclui mais de 50 canais permeáveis a catiões, expressos desde a levedura até ao homem. São proteínas de membrana que funcionam principalmente como canais iónicos não-seletivos. Foram descobertos na mosca da fruta (*Drosophila*) em estudos sobre o mecanismo de fototransdução (detecção de luz). Mais tarde, foram encontrados em vertebrados, e até à data, foram identificadas sete subfamílias de TRP (Figura 10): TRPA (anquirina), TRPC (canónica), TRPM (melastatina), TRPML (mucolipina), TRPP (policistina), TRPN (mecanoreceptor potencial C ou NOMPC da *Drosophila*) e TRPV (vanilóide) (Hossain et al., 2019 ; Solé -Magdalena et al., 2017 ; Vassort & Fauconnier, 2008).

2.1.1. O TRPV1

Desde a clonagem do gene que codifica para TRPV1 (receptor de potencial transitório vanilóide tipo 1) em 1997, estudos funcionais e estruturais deste receptor levaram a uma melhor compreensão dos mecanismos envolvidos na transdução de estímulos nociceptivos térmicos e mecânicos transportados por fibras sensoriais de pequeno diâmetro. A descoberta da estrutura biológica do TRPV1 teve lugar em 2013. Utilizando uma câmara de detecção direta e a técnica de microscopia crio eletrônica, a estrutura molecular de alta resolução de TRPV1 foi determinando um canal fechado. Posteriormente, a estrutura aberta do canal foi determinada com resolução atômica (Yang & Zheng, 2017; Danigo, Magy & Demiot, 2013).

2.1.1.1. Classificação

Os canais TRPV1 são expressos sobretudo nas terminações nervosas das fibras sensoriais A δ e C da medula espinal, nas laminae I e II. A este nível, o TRPV1 modula a transmissão sináptica dos sinais nociceptivos e sendo um termo-receptor odontoblástico. A sua expressão foi confirmada *in vitro* pela reação em cadeia da polimerase (PCR), *Western-blot* e imunohistoquímica em polpas de terceiros molares humanos (El Karim et al., 2011; Caterina & Julius, 2001).

2.1.1.2. Estrutura biológica

O TRPV1 é um receptor de membrana formado por uma proteína tetramérica de 95 kDa e 839 aminoácidos. Cada subunidade é composta por seis segmentos transmembranares (S1 a S6) (Figura 11) em folha β , associada a receptores de canal não seletivos que permitem a passagem de catiões principalmente cálcio, mas também, por ordem decrescente, magnésio, sódio e potássio. Existe uma região anfipática entre S5 e S6 que forma o poro condutor do canal. Esta região contém ácidos glutâmicos envolvidos na abertura do poro de uma forma dependente do pH (White et al., 2016; Yang & Zheng, 2017; Benítez-Angeles, Morales-Lázaro, Juárez-González & Rosenbaum, 2020).

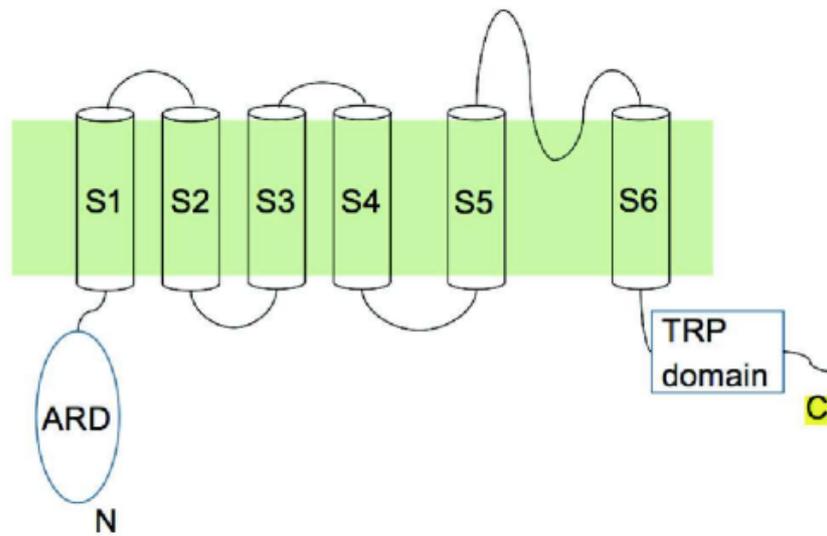


Figura 11: Topologia do TRPV1 (Yang & Zheng, 2017)

- **Extremidade N-terminal das subunidades de TRPV1**

A região N-terminal de cada subunidade de TRPV1 de 432 aminoácidos é hidrófila e tem um domínio rico em prolina seguido por três a seis ARD (domínio de repetição Ankyrin) que funcionam como sítios de ligação para proteínas inibidoras e pequenas moléculas (Cui, Gosu, Basith, Hong & Choi, 2016; Rosenbaum et al., 2003).

Os ARD estão envolvidas nas interações proteína-proteína de TRPV1 com proteínas citosólicas e têm sequências consensuais reconhecidas por proteínas cinases, mas também podem interagir com outros fatores de regulação. A regulação da atividade do canal depende da ligação de ATP (trifosfato de adenosina) e/ou de calmodulina. A ligação de ATP serve para duas importantes funções fisiológicas, nomeadamente, estabilização da dobra de ARD e regulação da dessensibilização dependente da calmodulina ligada a cálcio ($\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$) (Cui et al., 2016; Rosenbaum et al., 2003, Benítez-Angeles et al., 2020).

- **Extremidade C-terminal das subunidades de TRPV1**

A extremidade C-terminal (CTD) de 154 aminoácidos inclui um domínio de 25 aminoácidos altamente conservado entre todos os canais de TRP, que formam a “TRP box”. Como na extremidade N-terminal, a extremidade C-terminal contém um

domínio de interação com a CaM dependente de Ca^{2+} e que também é importante para a dessensibilização do canal ativado. A extremidade C-terminal tem também sítios de fosforilação necessária para a sensibilização do TRPV1 e um domínio de interação com fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP2), que actua como inibidor do canal (Ramsey, Delling & Clapham, 2006; Numazaki et al., 2003).

- **Domínio transmembranar**

O domínio transmembranar é composto por seis segmentos S1 a S6. Os domínios S1 a S4 formam o sensor de diferença de potencial (*voltage sensor*), S5 a S6 formam o canal iónico seletivo (Figura 12) (Cui et al., 2016).

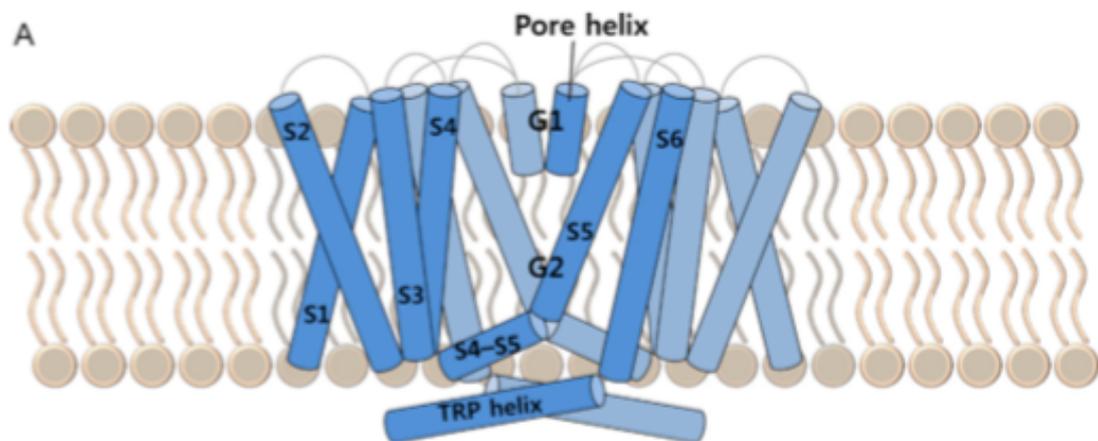


Figura 12: Esquema da configuração fechada do canal TRPV1 (Cui et al., 2016)

G1 (*Gate 1*) é o ponto superior de constrição extracelular do canal e funciona como um filtro de seletividade que controla a passagem de iões: permite a passagem de catiões (como o cálcio, para o qual o TRPV1 é altamente seletivo), mas impede a passagem de aniões. O diâmetro desta região com $4,6\text{Å}$ (*ångström*) corresponde ao estado inativo, mas quando o canal é ativado o diâmetro do filtro aumenta (Cui et al., 2016).

Abaixo, G2 (*Gate 2*) forma um segundo ponto de constrição do canal que é intracelular formado pelas hélices S6 de cada subunidade que se unem para formar uma barreira hidrofóbica de $5,3\text{Å}$ (Cui et al., 2016).

2.1.1.3. Regulação do TRPV1

O canal TRPV1 é modulado por duas categorias de moléculas: as que provocam a abertura do canal, chamadas ativadoras, e as que fazem com que o canal se feche ou impeçam a sua abertura, chamadas inibidores (Clapham, 2007; Danigo et al., 2013).

- **Agentes ativadores**

O TRPV1 é ativado:

Diretamente através pelos seguintes estímulos físicos e químicos:

- Uma temperatura superior a 43°C;
- Um pH extracelular baixo;
- A ligação de vanilóide, especialmente capsaicina;
- Resiniferatoxina (RTX);
- Anandamida;

Indiretamente através:

- Fatores de crescimento dos neuróos (NGF);
- Lípidos (anandamida, 2-Arachidonylglicérol);
- Moléculas de inflamação (prostaglandinas, bradicininas, leucotrienos, serotonina, histamina, ATP...) (Clapham, 2007; Danigo et al., 2013).

- **Agentes inibidores**

A ligação entre a capsaicina e o receptor TRPV1 induz um *feedback* negativo e assim provoca o encerramento do receptor TRPV1. O cálcio que entra pelo canal forma um complexo com calmodulina que ao ligar-se ao TRPV1 inibe a corrente induzida pela capsaicina. Esta inibição é dependente do cálcio (Clapham, 2007; Danigo et al., 2013).

Por outro lado, a corrente de cálcio, bem como a exocitose de neuropeptídeos induzida pela capsaicina pode ser inibida por certos canabinóides na presença de cálcio. Este processo é realizado por uma via de transdução envolvendo calcineurina (Clapham, 2007; Danigo et al., 2013).

A ativação repetida do receptor TRPV1 pelo calor resultaria na sua inativação irreversível (Sánchez-Moreno et al., 2018).

2.1.2. TRPV4

O receptor TRPV4 foi descrito pela primeira vez no ano 2000 e adquiriu nomes diferentes com base nas suas várias características funcionais observadas nos diferentes estudos: VR-OAC (canal ativado osmoticamente relacionado com o receptor de vaniloide), VRL-2 (Receptor do tipo Vanilloid) e TRP12 (receptor de potencial transitório vanilóide subtipo 12) (Rosenbaum et al., 2020).

O receptor TRPV4 expressa-se numa grande parte do corpo humano, como por exemplo nas células do tecido muscular liso da aorta e artérias pulmonares, artérias cerebrais, no epitélio traqueal e pulmonar (especialmente nos cílios do epitélio brônquico), nos neurónios sensoriais aferentes primários que inervam o tracto gastrointestinal e nos odontoblastos (Rosenbaum et al., 2020; Egbuniwe et al., 2014).

TRPV4 é uma proteína polimodal tal como muitos canais TRP ativada por temperaturas de cerca de 27°C, condições hipoosmóticas e stress mecânico (Rosenbaum et al., 2020).

2.1.2.1. Estrutura do TRPV4

A proteína TRPV4 tem a mesma estrutura tetramérica que o TRPV1 e é formada por monómeros com 871 aminoácidos. O receptor TRPV4 é um homotetrâmero (White et al., 2016).

Cada monómero TRPV4 tem seis hélices transmembranares (S1-S6) que se estendem através da camada lipídica e um poro entre S5 e S6 (Figura 13). A região transmembranar é semelhante à do TRPV1. Ambas as extremidades NH₂ e COOH estão no citoplasma (White et al., 2016).

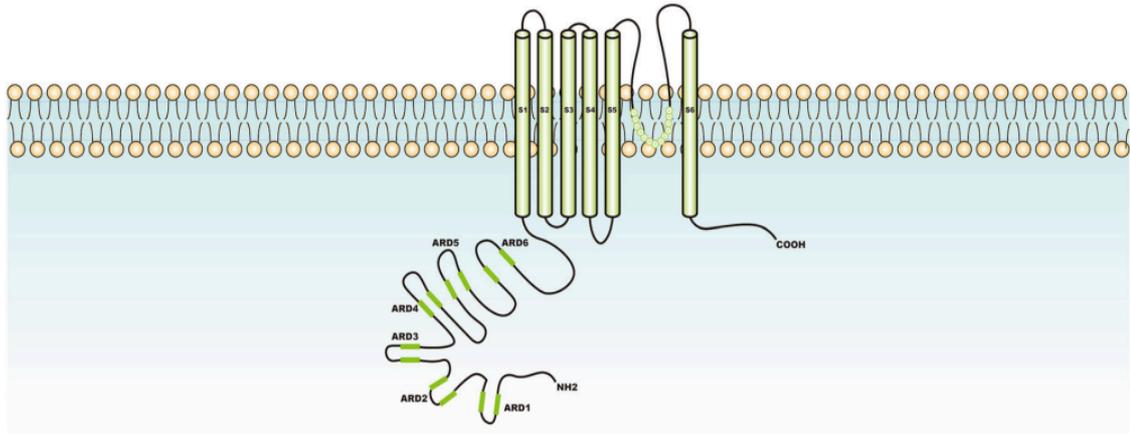


Figura 13: Estrutura do TRPV4 (Yu et al., 2019)

- **Extremidade N-terminal**

A estrutura das ARD da região terminal N do receptor TRPV1 é mantida no receptor TRPV4 permitindo a ligação de ATP e CaM, participando na oligomerização do canal. Os domínios ARD atuam como região de ligação lipídica, permitindo a interação com PIP2 que regula a actividade do TRPV4 (White et al., 2016).

A montagem correta dos canais TRPV4 requer interação entre os domínios pré-S1, TRP e ARD-S1 (White et al., 2016).

Nesta extremidade existe um domínio PRD (*Proline Rich Domain*), necessário para a interação com proteína cinase C ou cinase da caseína (White et al., 2016).

- **Extremidade C-terminal**

A região terminal COOH do receptor TRPV4 é estruturalmente semelhante à do TRPV1. Esta região interage com a Proteína 7 associada ao microtubulos (MAP7) e possui um domínio PDZ (*Post-synaptic density, Disks-large and Zonula occludens-1*) correspondente aos 4 últimos aminoácidos da extremidade C-terminal (White et al., 2016).

2.1.2.2. Propriedades gerais

O TRPV4 é um canal catiónico não seletivo com uma maior afinidade para Ca^{2+} do que para Mg^{2+} (ião magnésio) em comparação com Na^+ (ião sódio). Como muitos outros canais TRP, o TRPV4 é uma proteína polimodal activada por temperaturas à volta de 27°C , condições hipoosmóticas, e stress mecânico (Rosenbaum et al., 2020).

Estudos em ratos mostraram que quando uma célula odontoblástica é exposta à estimulação mecânica, o Ca^{2+} intracelular aumenta devido à ativação do TRPV4. Mas uma solução hipotónica extracelular também induz um alongamento da membrana plasmática das células da linhagem odontoblástica do rato, resultando num influxo de Ca^{2+} mediado por TRPV4 (White et al., 2016).

Foi demonstrado que os odontoblastos humanos expressam TRPV4 funcional e que a ativação destes canais desencadeia a libertação de ATP. Este mecanismo pode contribuir para a hipersensibilidade da dentina, permitindo aos odontoblastos detetar alterações na pressão do fluido dentinário e libertar ATP que vai ativar os neurónios sensoriais adjacentes (Egbuniwe et al., 2014).

2.1.3. TRPM8

O primeiro artigo sobre o gene TRPM8 (anteriormente conhecido como *trp-p8*) demonstrou a clonagem deste gene a partir de próstata saudável e cancerosa (Tsavalier et al., 2001).

Nos humanos, o canal TRPM8 é expresso nas fibras A δ e C aferentes dos gânglios radiculares posteriores da medula espinal, bem como nos neurónios aferentes dos gânglios do trigêmeo (inervando a parte posterior da boca). Este canal é um importante receptor térmico de baixas temperaturas (abaixo dos 27°C), uma função desempenhada pelos odontoblastos. A sua expressão tem sido demonstrada *in vitro* em odontoblastos humanos nativos derivados de terceiros molares (Tazawa et al., 2017; Almaraz, Manenschijn, De la Peña & Viana, 2014; McKemy, Neuhausser & Julius, 2002).

O gene TRPM8 está localizado na região 2q37.1 do cromossoma 2. TRPM8 é transcrito num RNA mensageiro (mRNA) que codifica uma proteína de 1.104 aminoácidos. Foram descritas várias isoformas mais curtas, mas as suas funções ainda não estão compreendidas (Almaraz et al., 2014).

2.1.3.1. Estrutura biológica

O TRPM8 tem uma topologia geral semelhante à dos canais de tensão de potássio (Kv) e como o resto dos canais TRP. Tem seis segmentos transmembranares (S1-S6) ladeados por grandes regiões amino e carboxi-terminais que estão localizados no citosol das células (Almaraz et al., 2014).

A estrutura do TRPM8 foi determinada por crio microscopia com uma resolução de 4,1Å. O estudo revelou uma arquitetura em três camadas (Figura 14) (Yin et al., 2018).

A camada superior é constituída pelo canal transmembranar (TMD) e as duas camadas inferiores correspondem ao domínio citosólico (CD), cada protómero tem uma extremidade N-terminal feita de quatro domínios MHR (Yin et al., 2018).

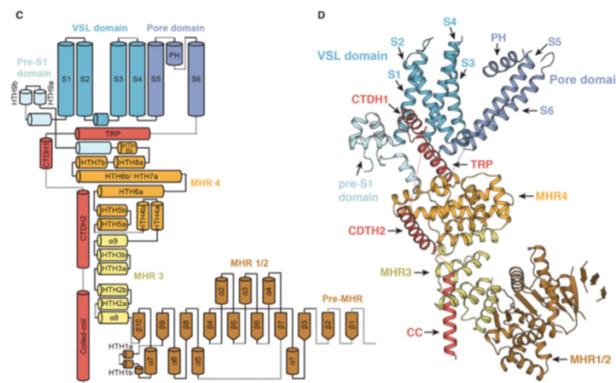


Figura 14: Topologia da proteína TRPM8 (Yin et al., 2018)

(C) Figura topológico delineando os domínios proteicos com elementos de estrutura secundária.

(D) Vista detalhada do modelo atômico do protómero TRPM8.

2.1.3.2. Ativação TRPM8

O canal TRPM8 deteta temperaturas baixas, num intervalo entre 8° e 28°. A ativação do canal TRPM8 pela temperatura (máxima entre 10° e 15°C) induz uma despolarização da membrana que, ao exceder o limiar de ativação dos canais de sódio dependentes da tensão, desencadeia uma mensagem nervosa sob a forma de potencial de ação (PA) (De La Peña, Mälkiä, Cabedo, Belmonte & Viana, 2005).

Recentemente o TRPM8 foi detetado em odontoblastos humanos, nativos e *in vitro*, através da deteção dos respetivos mRNA e proteína, sugerindo que os odontoblastos desempenham um papel importante na deteção do frio (Tazawa et al., 2017).

2.1.4. TRPA1

TRPA1 é um canal não seletivo de catiões permeável ao cálcio pertencente à grande família de canais de iões receptores de potencial transitório TRP, que estão envolvidos na percepção nociceptiva. É o único membro da família TRPA e o seu nome provém do grande número de domínios de anquirina presentes na extremidade NH2 (Paulsen, Armache, Gao, Cheng & Julius, 2015; Viana, 2016).

É frequentemente co-expresso com o canal TRPV1, sugerindo que estes dois canais são responsáveis pela sensibilidade térmica dos nociceptores polimodais (Tominaga & Caterina, 2004).

A sua expressão tem sido demonstrada em odontoblastos nativos derivados de tecido da polpa dos terceiros molares saudáveis humanos por imuno-histoquímica (El Karim et al., 2011).

2.1.4.1. Estrutura do TRPA1

A estrutura do TRPA1 com uma resolução próxima do átomo (~ 4 Å) foi obtida por crio microscopia electrónica (Paulsen & al., 2015).

Os canais TRPA1 são proteínas tetraméricas formadas pela associação de quatro subunidades, cada uma com 1119 aminoácidos(em humanos) contendo seis α -hélices transmembranares (S1-S6) (Figura 15).

Elementos notáveis na sua estrutura incluem uma série (14-18 dependendo da espécie) de domínios relacionados com anquirina ARD intracelulares presentes na parte N-terminal (Viana, 2016; Paulsen et al., 2015).

Os grandes domínios intracelulares das extremidades N e C representam 80% da massa do canal (Paulsen et al., 2015).

Logo após a S6, foi demonstrada uma hélice α com uma estrutura semelhante ao domínio do TRP dos outros canais do TRP. A proximidade entre esta hélice TRP e regiões não contíguas da proteína como a hélice pré-S1 é consistente com a função de porta alostérica do canal. A região pré-S1 permite a ligação entre o ARD e S1 e é de particular interesse porque contém resíduos reconhecidos por agonistas eletrófilos (Viana, 2016; Paulsen et al., 2015).

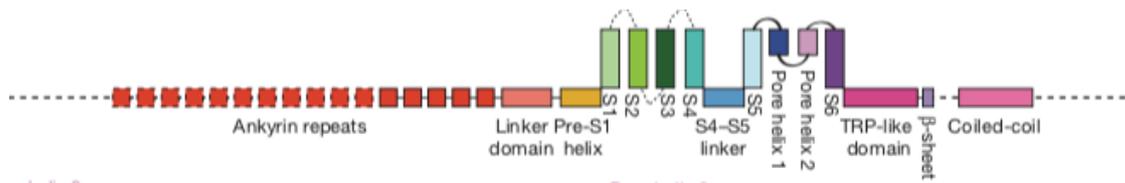


Figura 15: Detalhes estruturais de uma única subunidade TRPA1 (Paulsen et al., 2015)

2.1.4.2. Ativação TRPA1

O receptor TRPA1 é um canal catiónico não seletivo permeável aos íons cálcio, sódio e potássio. Tal como o TRPV1, o poro do TRPA1 tem dois sítios de constricção. Uma vez ativado, o poro pode expandir-se, aumentando a sua permeabilidade ao cálcio e permitindo a passagem de moléculas catiónicas maiores (Zygmunt & Högestätt, 2014).

O TRPA1 é ativado a temperaturas inferiores a TRPM8 (abaixo de 17°C), temperaturas consideradas dolorosas nos seres humanos (El Karim et al., 2011; Tsumura et al., 2013).

TRPA1 é também um importante quimiorreceptor em nociceção devido ao seu amplo espectro de ativação por moléculas irritantes dolorosas (Zygmunt & Högestätt, 2014).

Um estudo recente mostrou que a expressão TRPA1 em células humanas odontoblásticas foi claramente regulada pelo TNF- α . O TNF- α exógeno induziu alterações significativas nas distribuições intracelulares das proteínas TRPA1, com aumentos no citoplasma, membrana ER (retículo endoplasmático) e mitocôndrias, para participar ativamente na perceção de estímulos externos nocivos e na transdução de hiperalgesia (Liu, Que, Liu, Zang & Wen, 2020).

2.2. A FAMÍLIA DOS CANAIS ASIC

2.2.1. Princípios gerais

Os ASIC (canal iónico sensor de ácidos) formam uma família de canais catiónicos excitáveis que são amplamente expressos em vias de dor, incluindo os neurónios sensoriais periféricos, e os neurónios espinais e supraespinais. São permeáveis aos íons de sódio, independentes da tensão, e geram correntes despolarizantes como resultado da acidificação do meio extracelular (Jasti, Furukawa, Gonzales & Gouaux, 2007).

A maioria dos membros desta família foram descobertos no final da década de 1990. Atualmente, estão identificadas pelo menos seis subunidades diferentes em roedores (ASIC1a, ASIC1b, ASIC2a, ASIC2b, ASIC3 e ASIC4), que são codificadas por quatro genes (ACCN1 a ACCN4) (Waldmann, Champigny, Bassilana, Heurteaux & Lazdunski, 1997; Marra & Deval, 2016).

Nos odontoblastos humanos, a expressão dos receptores ASIC foi estudada por imunohistoquímica em 2011. Os canais ASIC mostraram uma imunoreatividade reduzida e citosólica para os receptores ASIC1 e ASIC3, uma imunoreatividade elevada e ligada à membrana para o ASIC2 (Solé-Magdalena et al., 2010).

2.2.2. Propriedade estrutural

A primeira cristalografia de um receptor ASIC foi realizada em 2007 utilizando a isoforma de galinha ASIC1 e mostrou que são necessárias três subunidades para formar um canal funcional (Jasti et al., 2007).

Cada uma destas subunidades, com 500 a 560 aminoácidos, é composta por dois segmentos transmembranares em torno de um grande laço extracelular de aproximadamente 350 aminoácidos (Jasti et al., 2007; Gonzales, Kawate & Gouaux 2009).

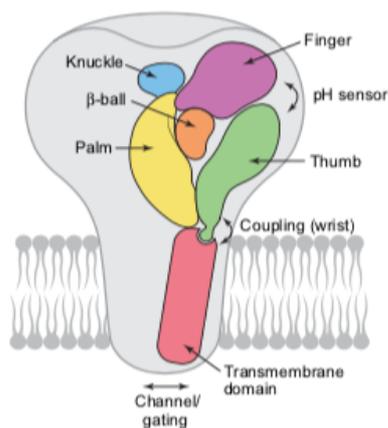


Figura 16: Estrutura geral dos receptores ASIC (Jasti et al., 2007)

As extremidades amina e carboxilo estão localizadas no lado intracelular. É principalmente o laço extracelular que regula e controla a atividade destes canais, mas os segmentos transmembranares também participam neste mecanismo para formar um poro

que é seletivo principalmente aos íons de sódio. Os domínios do lado citosólico também influenciam indirectamente a abertura destes canais (Jasti et al., 2007; Osmakov, Khasanov, Andreev, Lyukmanova & Kozlov, 2020).

As diferentes estruturas que compõem o laço extracelular foram nomeadas da seguinte forma (Figura 16): polegar, dedo indicador, articulação do indicador, bola β e palma da mão (Jasti et al., 2007; Osmakov et al., 2020).

Toda a estrutura contém quatro cavidades alinhadas ao longo do eixo central do canal: o vestíbulo superior, o vestíbulo central (que é fechado pela parte inferior do domínio palmar), o vestíbulo extracelular situado acima da entrada dos poros e finalmente o vestíbulo intracelular. A superfície dos vestíbulos central e extracelular é carregada negativamente para atrair os catiões (Jasti et al., 2007; Gonzales et al., 2009; Osmakov et al., 2020).

Atualmente, são conhecidas as estruturas tridimensionais do canal ASIC1a nos estados de repouso a pH elevado, aberto a pH baixo e dessensibilizado a pH baixo (Yoder, Yoshioka & Gouaux, 2018).

2.2.3. Propriedades dos Canais ASIC

A composição das subunidades de cada ASIC determina a sua sensibilidade ao pH, cinética e farmacologia. A sensibilidade ao pH ácido varia entre as diferentes isoformas da seguinte forma: Os canais ASIC1a e ASIC3 são os mais sensíveis, com um pH de meia ativação (pH₅₀) de cerca de 6,4-6,6; os canais ASIC1b ocupam uma posição intermédia (pH₅₀: 5,9-6,3); e os canais ASIC2a são os menos sensíveis (pH₅₀: 4,3-4,9) (Boscardin, Alijevic, Hummler, Frateschi & Kellenberger, 2016).

Outra propriedade dos ASIC é a sua capacidade de alcançar a dessensibilização em estado estável (SSD), ou seja, passar de um estado fechado para um estado dessensibilizado, contornando o processo de ativação (Boscardin et al., 2016).

3. TRANSDUÇÃO E TRANSMISSÃO ODONTOBLÁSTICA

A transdução odontoblástica é a codificação da mensagem sensorial para enviar a informação nociceptiva para o corno posterior da medula espinal. Esta sinalização é feita através de receptores-canais que são nociceptores cujas terminações livres despolarizam em resposta a um estímulo (produzindo-se um receptor de potencial transitório), permitindo a ativação de outros canais de sódio dependentes de tensão e, assim, a geração e propagação de potenciais de ação. Os potenciais de ação provocarão a entrada de cálcio na fenda sináptica que permitirá a libertação de numerosos neuromoduladores e moléculas de sinalização na fenda sináptica (Beaulieu, 2013).

A transmissão do potencial de ação nociceptiva propaga-se através do nociceptor até ao corno dorsal da medula espinal, onde será transmitida a um neurónio espinotalâmico de segunda ordem (da medula espinal até ao tálamo). A informação será então conduzida para diferentes regiões do tálamo onde estabelecerá contacto sináptico com o neurónio terciário (Beaulieu, 2013).

3.1. O ODONTOBLASTO: UMA CÉLULA EXCITÁVEL?

Os estímulos externos que causam movimentos de fluidos dentinários e respostas de odontoblastos e/ou complexos nervosos podem representar um sistema mecanossensorial único, dando aos odontoblastos um novo papel como células sensoriais. Várias linhas de evidência têm demonstrado que os odontoblastos expressam canais iónicos com receptores de potencial transitórios mecano e/ou sensíveis ao calor (TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPM3, KCa (canal de potássio ativado por cálcio), ASIC, Piezo) que são capazes de detetar o calor e/ou o frio e o movimento do fluido dentário dentro dos túbulos da dentina (Figura 17). A abertura destes receptores inicia um influxo catiónico intracelular, que depende da permeabilidade de cada receptor. Para os canais TRP, é predominantemente o cálcio. Para os canais ASIC é o sódio. Esta resposta celular é o primeiro passo na transdução sensorial do estímulo (Shibukawa et al., 2014; Sato et al., 2018; Jasti et al., 2007).

Além disso, os canais de sódio regulados por voltagem fornecem aos odontoblastos propriedades de excitação *in vitro* em resposta à injeção de correntes despolarizantes. Foram observados canais de sódio *in vivo* para colocalizados com

rápida repetição do estímulo é possível. Para a transmissão a longa distância, o potencial de receptor deve ser convertido em potencial de ação que pode ser propagado ao longo da fibra relevante. A conversão deste potencial receptor num potencial de ação envolve a transmissão química intercelular, e a participação de canais iónicos (Figura 18) (Sherwood, 2014).

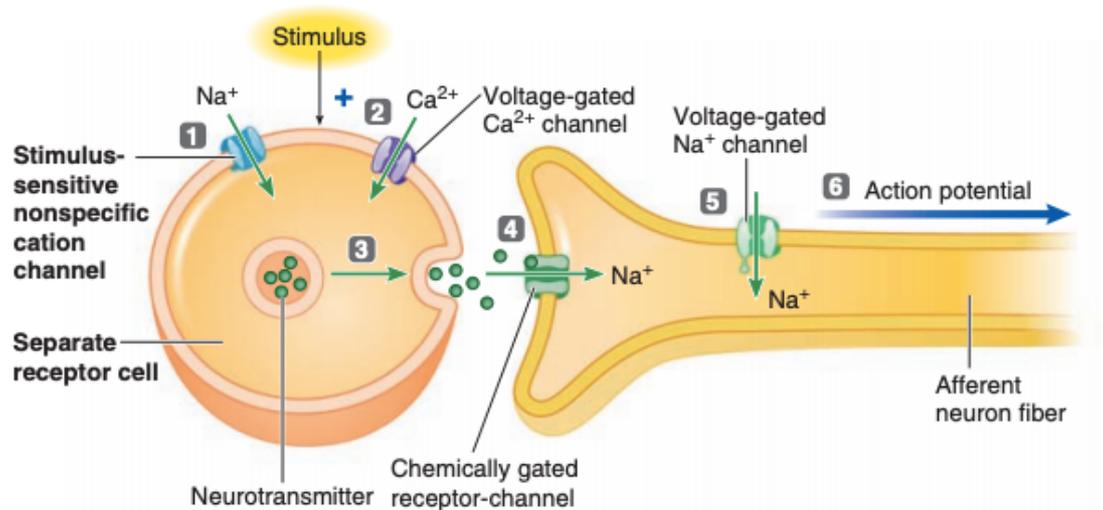


Figura 18: Esquema da conversão de um potencial receptor num potencial de acção (Sherwood, 2014)

1. Um estímulo externo altera a conformação do receptor e provoca a abertura de canais específicos, permitindo que o sódio entre na célula e iniciando assim a despolarização local da membrana;
2. Esta despolarização permite a abertura dos canais de cálcio dependentes de voltagem;
3. A entrada de Ca^{2+} permite a exocitose de neurotransmissores;
4. Ligação de neurotransmissores aos receptores proteicos do neurónio aferente;
5. Abertura de canais de sódio e um influxo de iões sódio despolarizando a membrana do neurónio aferente;
6. Iniciação do potencial de ação e transmissão do mesmo ao SNC (Sherwood, 2014).

3.2. TRANSMISSÃO DE SINAL INTERCELULAR ENTRE ODONTOBLASTOS E NERVOS

A criação de um potencial de ação envolve a transmissão química intercelular, e a participação de vários canais iónicos. Não foi identificada nenhuma estrutura sináptica entre o odontoblasto e o nervo, mas foi observada uma estreita associação entre eles ao microscópio eletrónico, com uma fenda estreita delimitada pelas membranas neuronais e odontoblásticas de aproximadamente 20 nm (Bleicher, Richard, Thivichon-Prince, Farges & Carrouel, 2015).

A libertação de mediadores odontoblásticos no espaço entre odontoblastos e nervos, seguida de sinalização aos aferentes dentários, são condições necessárias para suportar a hipótese de que os odontoblastos são células sensoriais (Bleicher et al., 2015).

Os mediadores propostos incluem óxido nítrico, galanina, glutamato e, o mais importante, purinas extracelulares como ATP e adenosina; o processo de sinalização através das purinas é conhecido como transmissão purinérgica (Korkmaz et al., 2005; Suzuki et al., 2002; Nishiyama, Sato, Kimura, Katakura, Tazaki & Shibukawa, 2016; Shibukawa et al., 2014).

3.2.1. Via purinérgica

O ATP é a fonte de energia intracelular para todas as células do corpo e também desempenha um papel como neurotransmissor específico. Assim, a sinalização purinérgica refere-se ao processo pelo qual purinas e pirimidinas medeiam as respostas celulares após a estimulação de receptores específicos (Figura 19). Cada célula tem um fornecimento de ATP citoplasmático que pode ser libertado em condições fisiológicas através da fusão de vesículas contendo ATP com a membrana plasmática numa via clássica de libertação a exocitose. Além disso, o ATP pode sair passivamente para fora da célula através de poros ou canais permeáveis da membrana (canais aniónicos, hemicanais conexinas e panexina), ou através de um mecanismo híbrido com a fusão das membranas de vesículas contendo canais permeáveis com a membrana plasmática dependente de Ca^{2+} . Os produtos da hidrólise do ATP (ADP (Difosfato de adenosina), AMP (Monofosfato de adenosina e pirofosfato) vão-se ligar a uma multiplicidade de receptores expressos na superfície das células neuronais, após a sua libertação na fenda sináptica. (Boué-Grabot & Rebola, 2014; Reigada & Mitchell, 2005).

Os receptores purinérgicos estão divididos em duas grandes categorias chamadas receptores P1 e P2. Os receptores P1 são receptores para adenosina, e os receptores P2 são receptores para ATP. Os receptores P1 são receptores acoplados as proteínas-G. Os receptores P2 são subdivididos em receptores de canal catiónico ionotrópico P2X e em receptores de canal catiónico P2Y acoplados a proteínas G. Até à data, foram identificados sete receptores P2X (P2X1-7) e oito receptores (P2Y P2Y1R, P2Y2R, P2Y4R, P2Y6R, P2Y11R, P2Y12R, P2Y13R e P2Y14R) em mamíferos (Burnstock, 2007).

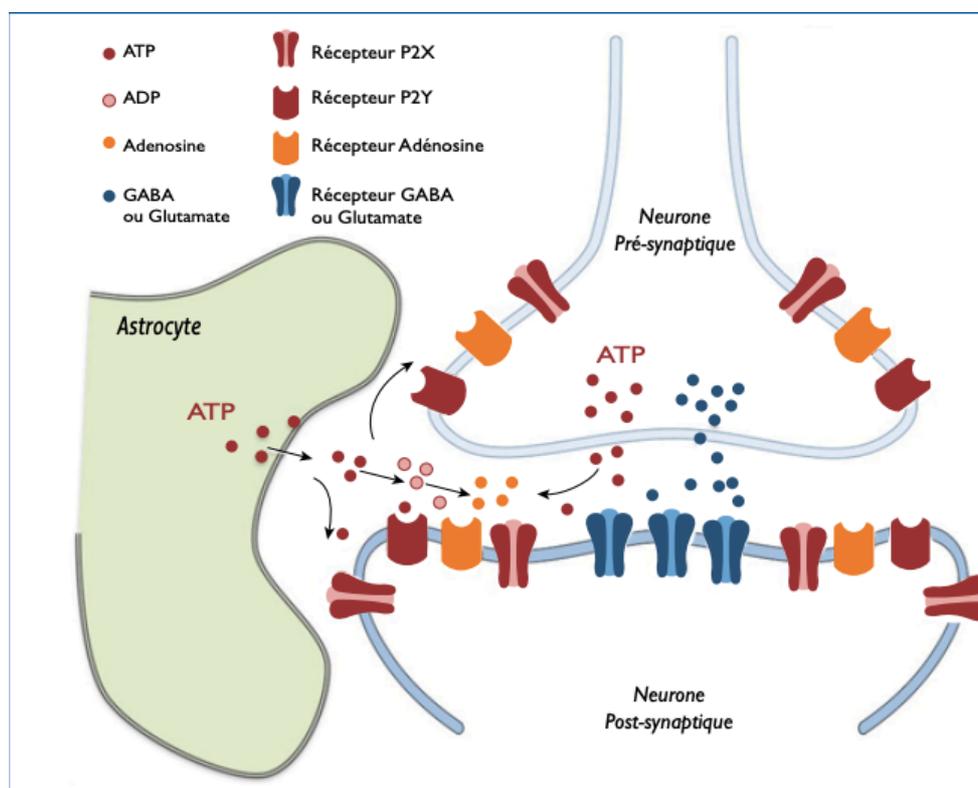


Figura 19: Localização dos diferentes receptores purinérgicos nas sinapses (Burnstock, 2007)

3.2.2. Papel do ATP na comunicação odontoblasto-nervo

A descoberta da expressão da superfamília de receptores TRP em odontoblastos humanos permitiu demonstrar os mecanismos de ativação e estimulação nervosa. A ativação dos canais TRP e outros receptores dos odontoblastos por estímulos externos aumentam a concentração intra-odontoblástica de Ca^{2+} . Este aumento de cálcio provoca a libertação de ATP e o glutamato que vão actuar sobre os receptores presentes nas fibras nervosas adjacentes (Hossain et al., 2019).

Tanto na camada subodontoblastica como nos odontoblastos foram identificados os receptores P2X e P2R. Os receptores P2Y são expressos em células da polpa, aferentes do trigêmeo e odontoblastos (Solé-Magdalena et al., 2017).

Foi demonstrado que a transdução de sinal intercelular entre odontoblastos estimulados mecanicamente (comunicação odontoblasto-odontoblasto) e neurónios vizinhos (comunicação odontoblasto-nervo) é facilitada pela abertura de canais TRP, libertação de ATP via PANX1 e ativação de receptores ATP (Figura 20). A deformação dos odontoblastos por forças hidrodinâmicas ativa canais Piezo1/TRP mecanossensíveis. Isto induz a libertação de ATP e ativa os receptores P2X3 nos neurónios Aδ mielinizados. A ativação dos receptores P2X3 induz um potencial de acção nos neurónios Aδ e gera dor dentária. O ATP actua então como neurotransmissor no meio extracelular, permitindo a ativação de receptores P2X3 nos neurónios do TG (gânglios do trigêmeo). A sinalização intercelular entre odontoblastos estimulados mecanicamente e os receptores TG odontoblastos/neurónios vizinhos foi observada através da ativação dos receptores P2Y1 e P2Y12 (Shibukawa et al., 2014).

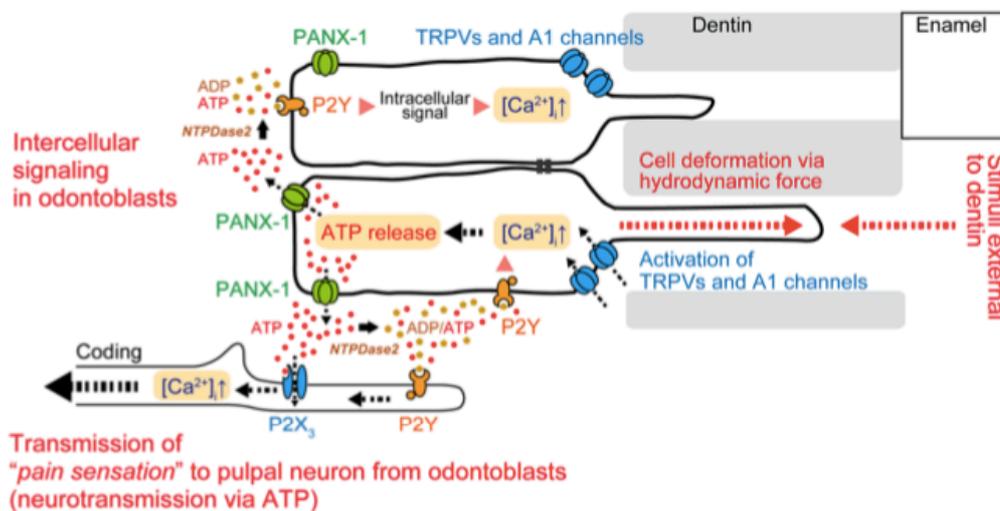


Figura 20: Esquema da comunicação odontoblastos nervos (Shibukawa et al., 2014)

Algumas enzimas também participam nesta via purinérgica, modulando pela sua ação a magnitude e duração dos sinais de dor. Pensa-se que a enzima NTPDase-2 (nucleosídeo trifosfato difosfohidrolase-2) é responsável pela hidrólise extracelular de ATP em ADP, AMP e adenosina, baixando assim a concentração extracelular de ATP. Este é expresso em células de Schwann ao longo das fibras nervosas da polpa dentária que projectam-se na camada dos odontoblastos (Hossain et al., 2019; Liu et al., 2015).

Shibukawa et al. (2014), sugere uma nova teoria chamada "A Teoria do Receptor Hidrodinâmico Odontoblástico", explicando que os odontoblastos actuam como células sensoriais que detetam a força hidrodinâmica exercida dentro dos túbulos dentinários pelo fluido dentinário (em resposta a estímulos), graças, em particular, aos canais TRP mecanossensíveis e que o ATP libertado pelos odontoblastos através do PANX1 permite a comunicação com as fibras nervosas adjacentes e, assim, a mensagem sensorial pode ser transmitida até às áreas corticais.

O cílio primário odontoblástico pode também desempenhar um papel importante neste sistema, uma vez que esta estrutura é conhecida por ser um sensor de movimento de fluidos noutros sistemas (Maurin et al., 2013).

Conclusão

A dor dentária afeta significativamente a qualidade de vida dos pacientes. A dor dentária resulta de mecanismos que são distintos de outros tipos de dor devido às propriedades neuroquímicas únicas, à estrutura anatômica da inervação densa e da vascularização do tecido duro. A fisiologia da dor dentária envolve a complexa orquestração dos canais iônicos.

Vários canais TRP e ASIC mecanossensíveis e termosensíveis que foram detetados em odontoblastos serão capazes de perceber os estímulos aplicados à dentina, podendo assim desempenhar um papel importante na transdução de estímulos externos em sinais elétricos nos nervos, que são transmitidos ao cérebro e percebidos como dor. Os canais TRP podem servir como potenciais alvos de medicamentos para o desenvolvimento de estratégias farmacológicas para gerir a dor dentária.

O odontoblasto parece estar no centro de uma nova teoria chamada "Teoria do Receptor Hidrodinâmico Odontoblasto" devido à descoberta da transmissão purinérgica entre odontoblastos e fibras nervosas, permitindo a estas células comunicar estímulos para as áreas cerebrais de tratamento da dor. Os odontoblastos são assim considerados atores chave na percepção da nocicepção dentária.

No entanto, ainda são necessários mais estudos para compreender melhor os mecanismos moleculares do odontoblasto, bem como as possíveis interações entre os canais iônicos mecanossensíveis e sensíveis ao calor. Os mecanismos de integração dos sinais detetados pelo odontoblasto ainda não foram caracterizados.

Bibliografia

- Allard, B., Magloire, H., Couble, M. L., Maurin, J. C., & Bleicher, F. (2006). Voltage-gated Sodium Channels Confer Excitability to Human Odontoblasts. *Journal of Biological Chemistry*, 281(39), 29002–29010. doi:10.1074/jbc.m601020200
- Almaraz, L., Manenschijn, JA., de la Peña, E., & Viana, F. (2014). TRPM8. In: B. Nilius, V. Flockerzi (eds.), *Mammalian Transient Receptor Potential (TRP) Cation Channels* (pp.547-579). doi:10.1007/978-3-642-54215-2_22
- Bartold, P. M. (2006). Dentinal hypersensitivity: a review. *Australian dental journal*, 51(3), 212-218. doi:10.1111/j.1834-7819.2006.tb00431.x
- Beaulieu, P. (2013). *La douleur : guide pharmacologique et thérapeutique* [PDF]. Disponível em: <https://storage.googleapis.com/cantookhub-media-enqc/d5/360f9661acf51b48ac7d0d31347c0a9b72f85f.pdf>
- Benítez-Angeles, M., Morales-Lázaro, S. L., Juárez-González, E., & Rosenbaum, T. (2020). TRPV1: Structure, Endogenous Agonists, and Mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(10), 3421. doi:10.3390/ijms21103421
- Bleicher, F., Richard, B., Thivichon-Prince, B., Farges, J.-C., & Carrouel, F. (2015). Odontoblasts and Dentin Formation. In A, Vishwakarma (Eds.), *Stem Cell Biology and Tissue Engineering in Dental Sciences* (pp.379–395). doi:10.1016/b978-0-12-397157-9.00034-5
- Boscardin, E., Alijevic, O., Hummler, E., Frateschi, S., & Kellenberger, S. (2016). The function and regulation of acid-sensing ion channels (ASICs) and the epithelial Na⁺ channel (ENaC): IUPHAR Review 19. *British Journal of Pharmacology*, 173(18), 2671–2701. doi: 10.1111/bph.13533

- Boué-Grabot, E., & Rebola, N. (2014). Les purines: des acteurs clés de la neuromodulation du système nerveux central. *Lettre des Neurosciences*, 47, 12-14. Disponible em: <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01146663/document>
- Brännström, M., & Johnson, G. (1978). The sensory mechanism in human dentin as revealed by evaporation and mechanical removal of dentin. *Journal of Dental Research*, 57(1), 49-53. doi: 10.1177/00220345780570012001
- Burnstock, G. (2007). Purine and pyrimidine receptors. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 64(12), 1471–1483. doi: 10.1007/s00018-007-6497-0
- Byers, M. R., & Narhi, M. V. O. (1999). Dental injury models: experimental tools for understanding neuroinflammatory interactions and polymodal nociceptor functions. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 10(1), 4-39. doi: 10.1177/10454411990100010101
- Caterina, M. J., & Julius, D. (2001). The Vanilloid Receptor: A Molecular Gateway to the Pain Pathway. *Annual Review of Neuroscience*, 24(1), 487–517. doi:10.1146/annurev.neuro.24.1.487
- Calvino, B. (2006). Douleur et canaux ioniques : De l'importance de la famille des T.R.P. dans la douleur thermique. *Douleurs*, 7(1), 23–27. doi:10.1016/s1624-5687(06)71104-0
- Chen, J. (2015). The evolutionary divergence of TRPA1 channel: heat-sensitive, cold-sensitive and temperature-insensitive. *Temperature*, 2(2), 158–159. doi: 10.1080/23328940.2014.998903
- Chung, G., & Oh, S. B. (2013). TRP channels in dental pain. *The Open Pain Journal*, 6(1), 31-36. doi: 10.2174/1876386301306010031
- Clapham, D. E. (2007). SnapShot: Mammalian TRP Channels. *Cell*, 129(1), 220.e1–220.e2. doi: 10.1016/j.cell.2007.03.034

Cui, M., Gosu, V., Basith, S., Hong, S., & Choi, S. (2016). Polymodal Transient Receptor Potential Vanilloid Type 1 Nociceptor: Structure, Modulators, and Therapeutic Applications. *Advances in protein chemistry and structural biology*, 104, 81–125. doi:10.1016/bs.apcsb.2015.11.005

Danigo, A., Magy, L., & Demiot, C. (2013). TRPV1 dans les neuropathies douloureuses- Des modèles animaux aux perspectives thérapeutiques. *Médecine Sciences*, 29(6-7), 596-606. Doi:10.1051/medsci/2013296012

De La Peña, E., Mälkiä, A., Cabedo, H., Belmonte, C., & Viana, F. (2005). The contribution of TRPM8 channels to cold sensing in mammalian neurones. *The Journal of Physiology*, 567(2), 415–426. doi: 10.1113/jphysiol.2005.086546

Egbuniwe, O., Grover, S., Duggal, A. K., Mavroudis, A., Yazdi, M., Renton, T., ... Grant, A. D. (2014). TRPA1 and TRPV4 Activation in Human Odontoblasts Stimulates ATP Release. *Journal of Dental Research*, 93(9), 911–917. doi:10.1177/0022034514544507

El Karim, I. A., Linden, G. J., Curtis, T. M., About, I., McGahon, M. K., Irwin, C. R., & Lundy, F. T. (2011). Human odontoblasts express functional thermo-sensitive TRP channels: Implications for dentin sensitivity. *Pain*, 152(10), 2211–2223. doi:10.1016/j.pain.2010.10.016

Fein, A. (2011). *Nociceptores: As células que sentem dor* [PDF]. Disponível em: <http://www.dol.inf.br/Html/LivroNociceptores/Nociceptores.pdf>

Freud, S., Darkschewitsch, L. O., & Longé, T. (2015). De la relation du corps restiforme avec les cordons postérieurs et leurs noyaux, et de quelques observations sur deux régions du bulbe. *Essaim*, 1(34), 167-180. doi:10.3917/ess.034.0167

Gonzales, E. B., Kawate, T., & Gouaux, E. (2009). Pore architecture and ion sites in acid-sensing ion channels and P2X receptors. *Nature*, 460(7255), 599–604. doi:10.1038/nature08218

Heyeraas, K. J., & Berggreen, E. (1999). Interstitial Fluid Pressure in Normal and Inflamed Pulp. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 10(3), 328–336. doi:10.1177/10454411990100030501

Hossain, M., Bakri, M., Yahya, F., Ando, H., Unno, S., & Kitagawa, J. (2019). The Role of Transient Receptor Potential (TRP) Channels in the Transduction of Dental Pain. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(3), 1-31. doi:10.3390/ijms20030526

Jain, N., Gupta, A., & N., M. (2013). An insight into neurophysiology of pulpal pain: facts and hypotheses. *The Korean Journal of Pain*, 26(4), 347-355. doi:10.3344/kjp.2013.26.4.347

Jasti, J., Furukawa, H., Gonzales, E. B., & Gouaux, E. (2007). Structure of acid-sensing ion channel 1 at 1.9 Å resolution and low pH. *Nature*, 449(7160), 316–323. doi:10.1038/nature06163

Korkmaz, Y., Baumann, M. A., Steinritz, D., Schröder, H., Behrends, S., Addicks, K., ... Bloch, W. (2005). NO-cGMP Signaling Molecules in Cells of the Rat Molar Dentin-Pulp Complex. *Journal of Dental Research*, 84(7), 618–623. doi:10.1177/154405910508400707

Latorre, R., Brauchi, S., Madrid, R., & Orío, P. (2011). A Cool Channel in Cold Transduction. *Physiology*, 26(4), 273–285. doi:10.1152/physiol.00004.2011

Lin, M., Luo, Z. Y., Bai, B. F., Xu, F., & Lu, T. J. (2011). Fluid mechanics in dentinal microtubules provides mechanistic insights into the difference between hot and cold dental pain. *PLoS ONE*, 6(3), e18068. doi:10.1371/journal.pone.0018068

Linsuwanont, P., Versluis, A., Palamara, J. E., & Messer, H. H. (2008). Thermal stimulation causes tooth deformation: A possible alternative to the hydrodynamic theory? *Archives of Oral Biology*, 53(3), 261–272. doi:10.1016/j.archoralbio.2007.10.006

Liu, J., Que, K., Liu, Y., Zang, C., & Wen, J. (2020). Tumor Necrosis Factor- α Regulates the TRPA1 Expression in Human Odontoblast-Like Cells. *Journal of Pain Research*, 2020(13), 1655–1664. doi:10.2147/jpr.s255288

Liu, X., Wang, C., Fujita, T., Malmstrom, H. S., Nedergaard, M., Ren, Y. F., & Dirksen, R. T. (2015). External Dentin Stimulation Induces ATP Release in Human Teeth. *Journal of Dental Research*, 94(9), 1259–1266. doi:10.1177/0022034515592858

Magloire, H. (2011). Odontoblast and dentin thermal sensitivity. *Pain*, 152(10), 2191–2192. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2011.02.042>

Marra, S., & Deval, E. (2016). Acid-Sensing Ion Channels : des canaux ioniques sensibles au pH et aux lipides dans la douleur. *Douleur et Analgésie*, 29(4), 196–203. doi:10.1007/s11724-016-0483-y

Maurin, J. C., Couble, M. L., Thivichon-Prince, B., & Magloire, H. (2013). L'odontoblaste-Un acteur incontournable de la perception de la douleur dentinaire. *Med Sci*, 29(3), 293-299. doi:10.1051/medsci/2013293016

McKemy, D. D., Neuhauser, W. M., & Julius, D. (2002). Identification of a cold receptor reveals a general role for TRP channels in thermosensation. *Nature*, 416(6876), 52–58. doi:10.1038/nature719

Netter, F. (2011). *Atlas d'anatomie humaine*. Philadelphia, USA: Saunders Elsevier.

Nishiyama, A., Sato, M., Kimura, M., Katakura, A., Tazaki, M., & Shibukawa, Y. (2016). Intercellular signal communication among odontoblasts and trigeminal ganglion neurons via glutamate. *Cell Calcium*, 60(5), 341–355. doi:10.1016/j.ceca.2016.07.003

Numazaki, M., Tominaga, T., Takeuchi, K., Murayama, N., Toyooka, H., & Tominaga, M. (2003). Structural determinant of TRPV1 desensitization interacts with calmodulin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(13), 8002–8006. doi:10.1073/pnas.1337252100

Okumura, R., Shima, K., Muramatsu, T., Nakagawa, K., Shimono, M., Suzuki, T., ... Shibukawa, Y. (2005). The odontoblast as a sensory receptor cell? The expression of TRPV1 (VR-1) channels. *Archives of Histology and Cytology*, 68(4), 251–257. doi:10.1679/aohc.68.251

Osmakov, D. I., Khasanov, T. A., Andreev, Y. A., Lyukmanova, E. N., & Kozlov, S. A. (2020). Animal, Herb, and Microbial Toxins for Structural and Pharmacological Study of Acid-Sensing Ion Channels. *Frontiers in Pharmacology*, 11(911), 1-23. doi:10.3389/fphar.2020.00991

Paulsen, C. E., Armache, J.-P., Gao, Y., Cheng, Y., & Julius, D. (2015). Structure of the TRPA1 ion channel suggests regulatory mechanisms. *Nature*, 520(7548), 511–517. doi:10.1038/nature14367

Pazour, G. J., & Witman, G. B. (2003). The vertebrate primary cilium is a sensory organelle. *Current Opinion in Cell Biology*, 15(1), 105–110. doi:10.1016/s0955-0674(02)00012-1

Peyron, R. (2007). *Physiologie de la douleur*. Disponible em: [http://association.gens.free.fr/NEUROLOGIA/EMC%20neurologie/2%20Physiologie/\\$Physiologie%20de%20la%20douleur.pdf](http://association.gens.free.fr/NEUROLOGIA/EMC%20neurologie/2%20Physiologie/$Physiologie%20de%20la%20douleur.pdf)

Ramsey, I. S., Delling, M., & Clapham, D. E. (2006). An introduction to TRP channels. *Annual Review of Physiology*, 68(1), 619-647. doi:10.1146/annurev.physiol.68.040204.100431

Reigada, D., & Mitchell, C. H. (2005). Release of ATP from retinal pigment epithelial cells involves both CFTR and vesicular transport. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 288(1), C132–C140. doi:10.1152/ajpcell.00201.2004

Rosenbaum, T., Benítez-Angeles, M., Sánchez-Hernández, R., Morales-Lázaro, S. L., Hiriart, M., Morales-Buenrostro, L. E., & Torres-Quiroz, F. (2020). TRPV4: A Physio and Pathophysiologically Significant Ion Channel. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(11), 3837. doi:10.3390/ijms21113837

Rosenbaum, T., Gordon-Shaag, A., Munari, M., & Gordon, S. E. (2003). Ca²⁺/Calmodulin Modulates TRPV1 Activation by Capsaicin. *The Journal of General Physiology*, 123(1), 53–62. doi:10.1085/jgp.200308906

Sánchez-Moreno, A., Guevara-Hernández, E., Contreras-Cervera, R., Rangel-Yescas, G., Ladrón-de-Guevara, E., Rosenbaum, T., & Islas, L. D. (2018). Irreversible temperature gating in *trpv1* sheds light on channel activation. *Elife*, 7, e36372. doi:10.7554/eLife.36372

Sato, M., Ogura, K., Kimura, M., Nishi, K., Ando, M., Tazaki, M., & Shibukawa, Y. (2018). Activation of Mechanosensitive Transient Receptor Potential/Piezo Channels in Odontoblasts Generates Action Potentials in Cocultured Isolectin B 4 –negative Medium-sized Trigeminal Ganglion Neurons. *Journal of Endodontics*, 44(6), 984–991.e2. doi:10.1016/j.joen.2018.02.020

Sherwood, L. (2014). *Human Physiology- From Cells-To-Systems* [pdf]. Disponível em : https://www.academia.edu/42279524/Sherwood_Physiology_From_Cells_To_Systems_9th_Edition.

Shibukawa, Y., Sato, M., Kimura, M., Sobhan, U., Shimada, M., Nishiyama, A., ... Tazaki, M. (2014). Odontoblasts as sensory receptors: transient receptor potential channels, pannexin-1, and ionotropic ATP receptors mediate intercellular odontoblast-neuron signal transduction. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, 467(4), 843–863. doi:10.1007/s00424-014-1551-x

Solé-Magdalena, A., Martínez-Alonso, M., Coronado, C. A., Junquera, L. M., Cobo, J., & Vega, J. A. (2018). Molecular basis of dental sensitivity: The odontoblasts are multisensory cells and express multifunctional ion channels. *Annals of Anatomy*, 215, 20–29. doi:10.1016/j.aanat.2017.09.006

Solé-Magdalena, A., Revuelta, E. G., Menéñez-Díaz, I., Calavia, M. G., Cobo, T., García-Suárez, O., ... Vega, J. A. (2010). Human odontoblasts express transient receptor protein and acid-sensing ion channel mechanosensor proteins. *Microscopy Research and Technique*, 74(5), 457–463. doi:10.1002/jemt.20931

- Suzuki, H., Iwanaga, T., Yoshie, H., Li, J., Yamabe, K., Yanaihara, N., ... Maeda, T. (2002). Expression of galanin receptor-1 (GALR1) in the rat trigeminal ganglia and molar teeth. *Neuroscience Research*, 42(3), 197–207. doi:10.1016/s0168-0102(01)00323-6
- Tanaka, A., Shibukawa, Y., Yamamoto, M., Abe, S., Yamamoto, H., & Shintani, S. (2019). Developmental studies on the acquisition of perception conducting pathways via TRP channels in rat molar odontoblasts using immunohistochemistry and RT-qPCR. *Anatomical Science International*, 95(2), 251-257. doi:10.1007/s12565-019-00517-y
- Tazawa, K., Ikeda, H., Kawashima, N., & Okiji, T. (2017). Transient receptor potential melastatin (TRPM) 8 is expressed in freshly isolated native human odontoblasts. *Archives of Oral Biology*, 75, 55–61. doi:10.1016/j.archoralbio.2016.12.007
- Tominaga, M., & Caterina, M. J. (2004). Thermosensation and pain. *Journal of Neurobiology*, 61(1), 3–12. doi:10.1002/neu.20079
- Teixeira, M. J. (2001). Mecanismos de ocorrência de dor. *Revista de Medicina*, 80(3-4), 69-113. doi.org/10.11606/issn.1679-9836.v83i3-4p69-113
- Thivichon-Prince, B., Couble, M. L., Giamarchi, A., Delmas, P., Franco, B., Romio, L., ... Bleicher, F. (2009). Primary Cilia of Odontoblasts: Possible Role in Molar Morphogenesis. *Journal of Dental Research*, 88(10), 910–915. doi:10.1177/0022034509345822
- Tsavalier, L., Shapero, M. H., Morkowski, S., & Laus, R. (2001). Trp-p8, a novel prostate-specific gene, is up-regulated in prostate cancer and other malignancies and shares high homology with transient receptor potential calcium channel proteins. *Cancer research*, 61(9), 3760-3769. Disponível em: <https://cancerres.aacrjournals.org/content/61/9/3760.long>

Tsumura, M., Sobhan, U., Sato, M., Shimada, M., Nishiyama, A., Kawaguchi, A., ... Shibukawa, Y. (2013). Functional Expression of TRPM8 and TRPA1 Channels in Rat Odontoblasts. *PLoS ONE*, 8(12), e82233. doi:10.1371/journal.pone.0082233

Vandewauw, I., Owsianik, G., & Voets, T. (2013). Systematic and quantitative mRNA expression analysis of TRP channel genes at the single trigeminal and dorsal root ganglion level in mouse. *BMC Neuroscience*, 14(21), 1-7. doi:10.1186/1471-2202-14-21

Viana, F. (2016). TRPA1 channels: molecular sentinels of cellular stress and tissue damage. *The Journal of Physiology*, 594(15), 4151–4169. doi:10.1113/jp270935

Vibes, J. (2001). *Guide de la douleur, le syndrome douloureux chronique*. Paris, France: Éditions Estem.

Waldmann, R., Champigny, G., Bassilana, F., Heurteaux, C., & Lazdunski, M. (1997). A proton-gated cation channel involved in acid-sensing. *Nature*, 386(6621), 173–177. doi:10.1038/386173a0

White, J. P. M., Cibelli, M., Urban, L., Nilius, B., McGeown, J. G., & Nagy, I. (2016). TRPV4: Molecular Conductor of a Diverse Orchestra. *Physiological Reviews*, 96(3), 911–973. doi:10.1152/physrev.00016.2015

Yang, F., & Zheng, J. (2017). Understand spiciness: mechanism of TRPV1 channel activation by capsaicin. *Protein & Cell*, 8(3), 169–177. doi:10.1007/s13238-016-0353-7

Vassort, G., & Fauconnier, J. (2008). Les canaux TRP(transient receptor potential). *Médecine sciences*, 24(2), 163–168. doi:10.1051/medsci/2008242163

Venkatachalam, K., Luo, J., & Montell, C. (2014). Evolutionarily Conserved, Multitasking TRP Channels: Lessons from Worms and Flies. In: B. Nilius, V. Flockerzi (eds.), *Mammalian Transient Receptor Potential (TRP) Cation Channels* (pp.937–962). doi:10.1007/978-3-319-05161-1_9

Yin, Y., Wu, M., Zubcevic, L., Borschel, W. F., Lander, G. C., & Lee, S. Y. (2017). Structure of the cold- and menthol-sensing ion channel TRPM8. *Science*, 359(6372), 237–241. doi:10.1126/science.aan4325

Yoder, N., Yoshioka, C., & Gouaux, E. (2018). Gating mechanisms of acid-sensing ion channels. *Nature*, 555(7696), 397–401. doi:10.1038/nature25782

Yu, S., Huang, S., Ding, Y., Wang, W., Wang, A., & Lu, Y. (2019). Transient receptor potential ion-channel subfamily V member 4: a potential target for cancer treatment. *Cell Death & Disease*, 10(7),1-17. doi:10.1038/s41419-019-1708-9

Zygmunt, P. M., & Högestätt, E. D. (2014). TRPA1. In: B. Nilius, V. Flockerzi (eds.), *Mammalian Transient Receptor Potential (TRP) Cation Channels* (pp.583–630). doi:10.1007/978-3-642-54215-2_23