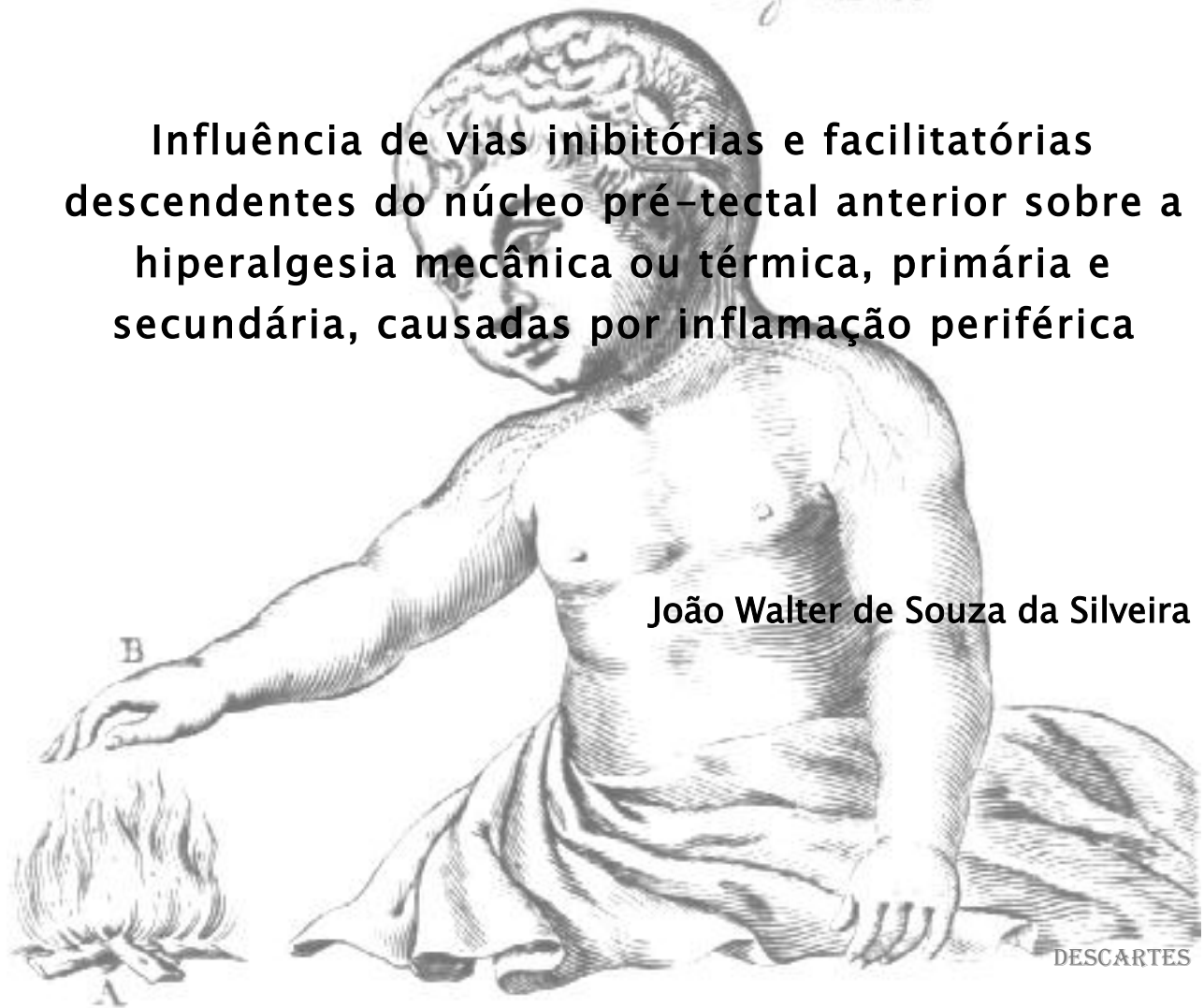


UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA

Fig. XLVII.

Influência de vias inibitórias e facilitatórias descendentes do núcleo pré-tectal anterior sobre a hiperalgesia mecânica ou térmica, primária e secundária, causadas por inflamação periférica

João Walter de Souza da Silveira



Ribeirão Preto
2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

JOÃO WALTER DE SOUZA DA SILVEIRA

Influência de vias inibitórias e facilitatórias descendentes do núcleo pré-tectal anterior sobre a hiperalgesia mecânica ou térmica, primária e secundária, causadas por inflamação periférica

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para a obtenção do grau de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Farmacologia

Orientador: Prof. Dr. Wiliam Alves do Prado

Ribeirão Preto
2010

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E/OU DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca Central do Campus Administrativo de
Ribeirão Preto/USP

Silveira, João Walter de Souza da

Influência de vias inibitórias e facilitatórias descendentes do núcleo pré-tectal anterior sobre a hiperalgesia mecânica ou térmica, primária e secundária, causadas por inflamação periférica / João Walter de Souza da Silveira; Orientador: Wiliam Alves do Prado – Ribeirão Preto, 2010.

283 f.

Tese (Doutorado em Ciências – Área de Concentração: Farmacologia) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

1. NPtA. 2. Inflamação. 3. Formalina 4. Hiperalgesia. 5.
Dor

FOLHA DE APROVAÇÃO

SILVEIRA, J. W. S. Influência de vias inibitórias e facilitatórias descendentes do núcleo pré-tectal anterior sobre a hiperalgesia mecânica ou térmica, primária e secundária, causadas por inflamação periférica. Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para a obtenção do título de Doutor em Ciências - Área de Concentração: Farmacologia

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. Wiliam Alves do Prado

Instituição: FMRP – USP

Assinatura: _____

Profa. Dra. Leda Menescal de Oliveira

Instituição: FMRP – USP

Assinatura: _____

Prof. Dr. Jyrson Guilherme Klamt

Instituição: FMRP – USP

Assinatura: _____

Prof. Dr. Carlos Amílcar Parada

Instituição: IB – UNICAMP

Assinatura: _____

Prof. Dr. Igor Dimitri Gama Duarte

Instituição: ICB – UFMG

Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

À minha família:

Riomar e Maria,

Soraia, Selene, Kennedy, Éfrem, Júnior, Angélica,

Aline e Amanda

AGRADECIMENTOS

A DEUS pela maravilha de toda criação, e por nos ter dado uma pitada de inteligência com a qual tornamos nossa vida mais confortável e outras vezes alimentamos nossa arrogância.

À todos da minha FAMÍLIA, onde vivencio o pleno significado dessa palavra. Aos que estão perto que sabem lidar com minhas imperfeições e limitações e tornam meu dia-a-dia muito agradável e feliz. Este trabalho contou muito com seus esforços. Aos que, embora distantes fisicamente, estão sempre muito presentes em meus pensamentos me fazendo sentir muito seguro em todos os momentos. À minha filha Amanda que preferiu chegar após a defesa desta tese. Aos meus sogros, d. Sônia e Sr. Eduardo.

Ao Prof. Dr. Wiliam Alves do Prado, pela orientação na realização desse trabalho. A liberdade intelectual, a confiança, o respeito pessoal e a tolerância exercidos sempre, me fizeram experimentar grande crescimento, quando tive que lidar com alguns de meus limites e conhecer alguns potenciais que, de outra forma, poderiam ainda estar fora de meu alcance.

A Profa. Dra. Elaine Aparecida Del Bel Belluz Guimarães, por ter me recebido em seu laboratório e pela importante colaboração que prestou na realização deste trabalho.

À professora Isaura Tavares da Universidade do Porto/Pt, por ter me recebido e orientado durante o período que passei em seu laboratório.

Aos queridos mestres Wellington da Silva Cortes, Luis Carlos Reis, Generoso Manoel Chagas e Frederico Argollo Vanderlinde, do Departamento de Ciências Fisiológicas da UFRRJ, onde conheci e me encantei com a beleza da ciência e da vida acadêmica. Vocês fizeram a diferença.

Aos mestres Estácio Pereira Mota e Walderes Camilo de Oliveira, ao tanto que me ensinaram, me incentivaram e me fizeram acreditar que este sonho, outrora tão distante, era possível.

Aos colegas de laboratório e amigos, Gláucia, Karina, Rafael, Quintino, Carol, Marcelo, Josie, Thiago, Ariane, Vânia, Ana Carolina, Liliane e Bete. O excelente convívio que tivemos nestes anos me ensinaram muito e só tenho a agradecer pelo carinho, compreensão, tolerância e amizade sempre dispensados.

Aos amigos Fernando, Walter Ubiali, Márcia, Renato, Gabriel, Chicão, Zé Wilson, Carlo, Naira pelos tantos momentos maravilhosos que compartilhamos. Aos colegas do laboratório da Profa. Dra. Elaine Del Bel, Carol, Fernando, Marcelo, Dani, Mariana, márcio e Célia que me acolheram com muito carinho.

A todos os colegas do departamento de Farmacologia.

A todos os professores do Departamento de Farmacologia, especialmente ao Prof. Dr. Alexandre P. Corrado pelos muitos momentos de discussão sobre os mais variados temas científicos que muito acrescentaram na minha formação.

Aos professores e colegas do DOL, pela oportunidade de vivenciar discussões de grande importância na minha formação científica.

Aos técnicos, Paulo Roberto Castania e Marcos Antônio de Carvalho pela ótima convivência e colaboração na realização dos experimentos.

Aos secretários Fátima Helena Ferreira Petean, José Waldik Ramon e Sônia Maria Stefanelli.

Enfim, a todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para a realização desse trabalho.

RESUMO

SILVEIRA, J. W. S. **Influência de vias inibitórias e facilitatórias descendentes do núcleo pré-tectal anterior sobre a hiperalgesia mecânica ou térmica, primária e secundária, causadas por inflamação periférica.** 2010. 283p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

A informação nociceptiva é modulada na periferia, no corno dorsal da medula espinal e em centros supraespinais. Diversos mecanismos estão envolvidos nesse processamento, incluindo inibição e facilitação exercidas por vias descendentes. Na vigência de processo inflamatório, núcleos supraespinais exibem plasticidade que geram mudanças dinâmicas na modulação descendente da nocicepção. Neste trabalho, utilizamos testes comportamentais e imunohistoquímica para avaliar a influência da ablação química ou ativação com glutamato (5 nmol ou 50 nmol) ou DAMGO (156 pmol ou 311 pmol) do núcleo pré-tectal anterior (NPtA) na instalação e desenvolvimento da hiperalgesia mecânica ou térmica, primária (medida na pata ipsilateral) e secundária (medida na pata contralateral e na cauda), até duas semanas após a injeção intraplantar (i.pl.) de formalina. Nossos resultados comportamentais apontam que o NPtA exerce efeito antinociceptivo semelhante sobre as hiperalgesias primárias e secundárias, porém as vias descendentes responsáveis por tais efeitos agem de forma diferente sobre a atividade neuronal das lâminas do corno dorsal da medula espinal. As lâminas contralaterais (que recebem as aferências da pata contralateral) foram sempre facilitadas pelos tratamentos que foram efetivos mesmo quando o resultado final foi inibição da hiperalgesia secundária. Já a hiperalgesia primária sofreu forte influência inibitória descendente sobre a atividade neuronal das lâminas do corno dorsal ipsilateral que se correlacionou diretamente com os resultados comportamentais. Os resultados comportamentais também mostram que o NPtA parece exercer influência semelhante sobre as hiperalgesias mecânica e térmica. Porém, a avaliação da atividade neuronal das lâminas do corno dorsal mostra que no início do processo inflamatório vias descendentes do NPtA inibem as lâminas profundas ipsilaterais em resposta a estimulação mecânica e, quando há estimulação térmica a inibição se dá nas lâminas ipsilaterais superficiais. Efeito oposto é observado com a microinjeção de 311 pmol de DAMGO no NPtA imediatamente após a injeção de formalina na pata, onde observa-se inibição das lâminas superficiais ipsilaterais em resposta a estimulação mecânica e inibição mais discreta das lâminas profundas ipsilaterais em resposta a estimulação térmica. A atividade neuronal da lâmina V do corno dorsal ipsilateral mostra forte correlação com a hiperalgesia primária mecânica e térmica desencadeada pela injeção de formalina na pata. Por outro lado, a hiperalgesia mecânica secundária observada na pata contralateral imediatamente após formalina i.pl. não encontrou correlação com a atividade neuronal do corno dorsal contralateral. Circuitos glutamatérgicos mais sensíveis presentes no NPtA e ativados por baixas doses de glutamato, desencadeiam facilitação descendente que aparece somente em condições fisiológicas, cuja função fisiopatológica precisa ser melhor estudada.

Palavras-chave: NPtA. Inflamação. Formalina. Hiperalgesia. Dor

ABSTRACT

SILVEIRA, J. W. S. **Inhibitory and facilitatory descending influences from the anterior pretectal nucleus upon primary and secondary, mechanical and thermal hyperalgesia caused by peripheral inflammation.** 2010. 283p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

Descending modulation of nociception is a mixture of inhibition and facilitation. It seems that different hyperalgesias can be handled differently by descending control systems. The Anterior Pretectal Nucleus (APtN) is known to be involved in descending pathways that control noxious spinal inputs. Here, immunohistochemistry and behavioral tests were used to examine the influence of APtN on mechanical and thermal hyperalgesia, primary (measured at ipsilateral paw) and secondary (measured at the contralateral paw and tail), caused by intraplantar (i.pl.) formalin in rats. Our results indicate that the APtN has similar antinociceptive effect on the primary and secondary hyperalgesia. Descending pathways responsible for such effects have different activity on the layers of the spinal dorsal horn. The contralateral laminae (which receive afferents from the contralateral paw) were always facilitated by effective APtN treatments, even if the behavioral result was inhibition of secondary hyperalgesia. On the other hand, the primary hyperalgesia was strongly inhibited by descending influences upon ipsilateral dorsal horn, which directly correlate with behavioral results. Also, APtN seems to exert similar influence on the mechanical and thermal hyperalgesia, as measured by behavioral tests. However, in the beginning of inflammation deep ipsilateral laminae are inhibited by descending pathways from the APtN in response to mechanical stimulation, while thermal stimulation triggers descending inhibition on superficial ipsilateral laminae. However, DAMGO (311pmol) microinjection into the APtN following formalin injection in the paw caused inhibition of the ipsilateral superficial laminae in response to mechanical stimulation and inhibition of the ipsilateral deep laminae in response to thermal stimulation. The ipsilateral lamina V activity shows strong correlation with the formalin-induced mechanical and thermal hyperalgesia. Furthermore, the secondary mechanical hyperalgesia observed in the contralateral paw immediately after formalin injection found no correlation with neuronal activity of the contralateral dorsal horn. More sensitive APtN glutamatergic circuits activated by low doses of glutamate, trigger descending facilitation only in physiological conditions, whose pathophysiological role should be further studied.

Keywords: APtN. Inflammation. Formalin. Hyperalgesia. Pain

Trabalho realizado com auxílio financeiro da FAPESP
(Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo)

Processo nº 05/02952-2



SUMÁRIO

RESUMO	
ABSTRACT	
1 INTRODUÇÃO	13
1.1 Controle da hiperalgesia inflamatória primária e secundária	18
1.2 A resposta à formalina	19
1.2.1 Controle da hiperalgesia primária durante a inflamação induzida por formalina	21
1.2.2 Controle da hiperalgesia secundária durante a inflamação induzida por formalina	22
1.3 O Núcleo Pré-tectal Anterior	23
2 OBJETIVOS	25
3 MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1 Animais	28
3.2 Injeção intraplantar de formalina	28
3.3 Implante de cânula-guia	29
3.4 Microinjeção	29
3.5 Avaliação da hiperalgesia mecânica	30
3.5.1 Teste de Pressão Crescente na Pata/Cauda de Rato	30
3.6 Avaliação da Hiperálgesia Térmica	31
3.6.1 Teste de Retirada da Cauda/Pata de rato	31
3.7 Imunohistoquímica c-Fos	32
3.7 Análise histológica	33
3.8 Análise estatística	33
3.9 Drogas	34
3.10 Protocolos	34
4 RESULTADOS	37

4.1	Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou salina (250 nl) no NPtA sobre a hiperalgesia mecânica e térmica, primária e secundária, <u>imediatamente</u> , <u>2 horas</u> , <u>1 dia</u> , <u>7 dias</u> , ou <u>14 dias</u> após a indução de inflamação pela injeção i.pl. de formalina 5%	38
4.2	Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou salina (250 nl) no NPtA sobre a hiperalgesia mecânica e térmica, primária e secundária, <u>imediatamente</u> , <u>2 horas</u> , <u>1 dia</u> , <u>7 dias</u> , ou <u>14 dias</u> após a indução de inflamação pela injeção i.pl. de formalina 5%	97
4.3	Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou salina (250 nl) no NPtA sobre a hiperalgesia mecânica e térmica, primária e secundária, <u>imediatamente</u> , <u>2 horas</u> , <u>1 dia</u> , <u>7 dias</u> , ou <u>14 dias</u> após a indução de inflamação pela injeção i.pl. de formalina 5%	157
4.4	Imunorreatividade a c-Fos na lâminas I/II e V do corno dorsal da medula espinal decorrentes de estimulação mecânica ou térmica periférica, e microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl), DAMGO (311 pmol/250 nl) ou salina no NPtA esquerdo <u>imediatamente</u> após a injeção intraplantar de formalina 5%	217
5	DISCUSSÃO	251
	CONCLUSÕES	273
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	275

A dor é o problema médico mais antigo e a aflição física universal do ser humano (MELDRUM, 2003). Em todas as civilizações, países e momentos históricos que se têm registros, tenta-se explicar o que é e porque sentimos dor e a forma de controlá-la, daí porque ela foi o motivo mais importante e decisivo para o desenvolvimento da arte de curar (OJUGAS, 1999).

A dor crônica tem sido cada vez mais reconhecida e tratada como uma doença (SIDDALL; COUSINS, 2004). Uma abundância de dados tem revelado que a dor crônica impõe duro sofrimento ao paciente e seus familiares e gera grande impacto ao sistema de saúde e à economia de um país (HENRY, 2008).

A ocorrência de dor, particularmente a crônica, mostra-se crescente na população mundial, talvez em virtude dos novos hábitos de vida, da maior longevidade e do prolongamento da sobrevivência de doentes com afecções fatais, de mudanças ambientais e, provavelmente, da caracterização de novas condições álgicas e utilização de novos conceitos e recursos para o seu tratamento (HUGE et al., 2006).

Durante os primórdios da humanidade era comum atribuir a dor aos maus espíritos e às punições por faltas cometidas, e a medicina era exercida por sacerdotes que, a serviço de deuses, empregavam remédios naturais e acreditavam que preces e sacrifícios poderiam curar e aliviar a dor, além perdoar as ofensas (FINGER, 2001)

Filósofos antigos tais como Platão e Aristóteles classificavam a dor não como uma sensação, mas como “paixão da alma”, assim como o prazer. Desse modo, acredita-se que a grande influência de Aristóteles no pensamento científico ocidental tenha postergado o reconhecimento da dor como uma sensação por quase dois milênios (DALLENBACH, 1939).

Entretanto, o século XIX rendeu razoáveis contribuições no entendimento das bases neurofisiológicas da dor e no reconhecimento de sua característica sensorial. Em 1884, Blix e Goldscheider de forma independente mostraram pontos sensoriais dolorosos específicos da pele (BLIX, 1884; GOLDSCHIEDER, 1884), e von Frey correlacionou estes pontos a estruturas histológicas da pele (PERL, 2007).

Um pouco mais tarde Sherrington descreveu terminações nervosas específicas para a dor (SHERRINGTON, 1906).

Por volta da metade do século XX, Melzack e Wall propuseram a importante teoria do portão. Esta teoria sugere um mecanismo de “portão” presente no corno dorsal da medula espinal, onde as aferências de fibras de grosso e fino calibre interagem na substância gelatinosa para controlar a ativação das projeções ascendentes (MELZACK; WALL, 1965).

Desde então, muitos estudos tem sido feitos com o intuito de esclarecer os mecanismos pelos quais a dor é gerada e seus mecanismos controladores endógenos, rendendo grandes avanços no entendimento da fisiologia e fisiopatologia da dor.

Em décadas recentes, considerações éticas tem assumido importante papel nos estudos experimentais e clínicos de dor. Rígidos padrões tem sido estabelecidos por governos e instituições para garantir os direitos de animais experimentais e pessoas, e a aprovação de comitês imparciais e independentes é necessária.

Apesar da grande influência da dor no bem estar do ser humano, somente recentemente tem ganhado importância nos custos dos cuidados à saúde e como entidade clínica de atenção específica.

Muita da dificuldade encontrada no entendimento e manejo da dor, reside no fato de que somente em 1979 a IASP (International Association for the Study of Pain) cunhou uma definição que procurou contemplar as diversas dimensões da experiência da dor. Neste sentido a dor foi definida como “uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a um dano tecidual potencial ou de fato, ou ainda descrita em termos que sugere tal dano” (IASP, 1979). Implícita nesta definição esta o fato de que o dano tecidual que é associado intimamente a dor, não é essencial para tal experiência. Além disso, o estado emocional atual do indivíduo, bem como sua cultura e experiências passadas tem importante papel.

Não obstante, a expressão vocal e comportamental da dor pode ter um valor adaptativo ao comunicar potenciais perigos para outros indivíduos que estão próximos.

Um estímulo nocivo aplicado periféricamente é convertido em impulsos elétricos pelos nociceptores. Estes são constituídos por terminações livres de neurônios pseudo-unipolares, cujos corpos celulares estão localizados nos gânglios da raiz dorsal da medula espinal ou nos gânglios trigeminiais. Além do ramo

periférico, estes neurônios têm um prolongamento central que penetra o corno dorsal da medula espinal pela raiz dorsal (KANDEL; SCHWARTZ; JESSEL, 2000).

Os nociceptores estão amplamente distribuídos na pele, mucosas, vísceras, músculos, periosteos e articulações, e respondem a estímulos nocivos de múltiplas modalidades como calor, frio, estímulos mecânicos e químicos. Os nociceptores denominados silenciosos não respondem normalmente a estímulos, mas são recrutados e tornam-se responsivos em determinadas circunstâncias (HABLER; JANIG; KOLTZENBURG, 1990).

A fibra aferente primária nociceptiva pode ser classificada com base em seu diâmetro, estrutura e velocidade de condução em fibras A δ , fracamente mielinizadas, com diâmetro variando entre 2-6 μ m e de condução relativamente rápida; fibras C, não mielinizadas, com diâmetro menor (0,4-1,2 μ m) e de condução mais lenta.

Após penetrar a medula espinal pela raiz dorsal, o ramo central da fibra aferente primária estabelece sinapses com neurônios presentes na substância cinzenta implicados no processamento e transmissão rostral da informação nociceptiva.

A substância cinzenta da medula espinal é citoarquiteticamente dividida em 10 lâminas, sendo que as lâminas I (marginal), II (substância gelatinosa), III e IV (nucleus proprius) e V e VI (lâminas profundas) compreendem o corno dorsal. As lâminas I e II (mais superficiais) e V e VI (profundas), constituem regiões espinais predominantemente implicadas na recepção, processamento e transmissão rostral da informação nociceptiva (MILLAN, 1999).

No corno dorsal são encontrados neurônios que respondem exclusivamente a estímulos nociceptivos e estão mais concentrados nas lâminas I e II, e em menor proporção, nas lâminas profundas V e VI. Neurônios multirreceptivos ou da faixa dinâmica ampla, que manifestam considerável convergência de aferências cutâneas, viscerais e musculares (MENSE, 1993; GEBHART, 1995), são encontrados predominantemente nas lâminas IV, V e VI, e em menor quantidade nas lâminas I e II. Estes neurônios de faixa dinâmica ampla respondem tanto à estimulação nociva quanto inócua (DUBNER et al., 1989). Neurônios não nociceptivos são encontrados principalmente nas lâminas II, III e IV, e em menor proporção, na lâmina I (MILLAN, 1999).

Os neurônios de projeção, por definição, são aqueles que transmitem a informação nociceptiva diretamente para centros supraespinais. Os interneurônios estão envolvidos com a transferência inter e intralaminar, integração e também com a modulação da informação nociceptiva, podendo ser excitatórios ou inibitórios.

Embora as fibras aferentes primárias atinjam predominantemente o lado ipsilateral, uma pequena população de fibras aferentes atinge o lado contralateral do corno dorsal (CULBERSON et al., 1979; DUMOULIN et al., 1996)

Os axônios dos neurônios de projeção compõe tratos ascendentes que transmitem a informação nociceptiva até estruturas superiores do sistema nervoso central onde as várias características da dor, como qualidade, intensidade, localização e aspectos emocionais e afetivos são integrados.

A modulação da transmissão nociceptiva pode ocorrer logo na periferia, no corno dorsal da medula espinal e em centros supraespinais. A proposição de um sistema modulatório específico para o controle da dor foi inicialmente feita por Melzack e Wall (MELZACK; WALL, 1965). Em 1969, Reynolds mostrou a importância de sistemas descendentes no controle da dor, ao observar que a estimulação elétrica da substância cinzenta periaquedutal mesencefálica (SCP) causava forte antinocicepção em ratos (REYNOLDS, 1969). Desde então, amplo mapeamento de sítios encefálicos tem sido feito a fim de encontrar locais onde a estimulação produza antinocicepção. Entre as estruturas encontradas podemos citar, além da SCP, o núcleo dorsal da rafe, núcleos do bulbo rostroventral (RVM) e o núcleo pretectal anterior (NPtA), entre outros. As vias descendentes moduladoras da nocicepção parecem acessar a medula espinal principalmente via funículo dorsolateral (FDL) (ZHUO; GEBHART, 1997; WEI; REN; DUBNER, 1998)

Os eventos moduladores da informação nociceptiva podem favorecer ou dificultar sua passagem. Diversos mecanismos estão envolvidos nesse processamento, incluindo a inibição e a facilitação estabelecidas pelas vias descendentes (FIELDS; BASBAUM, 1999; MILLAN, 1999)

Estudos mais recentes têm procurado definir em que circunstâncias o sistema descendente torna-se prioritariamente inibitório ou facilitatório. O equilíbrio entre estes dois sistemas parece ser modificado rápida e reversivelmente e, sob certas condições, de maneira durável, dependendo dos ambientes interno e externo ao organismo.

Estímulos persistentes geram aumento nas respostas a estímulos nocivos (hiperalgesia primária) e nocicepção a estímulos previamente inócuos (alodinia primária), além de expansão da hipersensibilidade para tecidos vizinhos mas não lesados (hiperalgesia e/ou alodinia secundárias). A hiperalgesia primária e secundária parece ser diferentemente influenciada pelo sistema descendente de controle da nocicepção.

O processo inflamatório desencadeia mecanismos descendentes que exercem tanto inibição quanto facilitação sobre processos espinais envolvidos com a hiperalgesia primária e secundária. Isto pode ocorrer simultânea ou sucessivamente no decorrer do desenvolvimento do processo inflamatório (VANEGAS; SCHAIBLE, 2004).

1.1 Controle da hiperalgesia inflamatória primária e secundária

Influências descendentes são extremamente importantes no controle da hiperalgesia primária. A secção bilateral do funículo dorso-lateral torna mais intensa a hiperalgesia térmica primária induzida pela injeção de carragenina na pata traseira (REN; DUBNER, 1996).

Há evidências de que influências facilitatórias do núcleo reticular gigantocelular (NRGC) competem com a inibição descendente sobre a hiperalgesia primária derivada de outros sítios supraespinais em modelos de inflamação periférica (WEI; DUBNER; REN, 1999; TERAYAMA; DUBNER; REN, 2002).

Quando o bulbo dorso-rostral de ratos está lesado a hiperalgesia térmica secundária desencadeada por carragenina não se desenvolve (URBAN, M. O.; ZAHN; GEBHART, 1999), entretanto, diferentemente de outros achados (WEI; DUBNER; REN, 1999), neste estudo a hiperalgesia térmica primária ficou inalterada. Essa diferença observada no controle descendente da hiperalgesia primária possivelmente decorre dos diferentes agentes inflamatórios usados em cada estudo, mostrando que diferentes inflamogênios possuem peculiaridades que exigem diferentes estratégias de controle da nocicepção.

Vários estudos indicam papel facilitatório do RVM sobre a hiperalgesia secundária na inflamação induzida por carragenina, sem efeitos sobre a hiperalgesia primária (URBAN, M.O. ; GEBHART, 1999; URBAN, M. O.; ZAHN; GEBHART, 1999).

Outros dados apontam que estruturas supraespinais contribuem para a facilitação descendente da hiperalgesia secundária (URBAN, M. O.; JIANG; GEBHART, 1996); (URBAN, M. O.; ZAHN; GEBHART, 1999), ou que influências inibitórias descendentes também parecem influenciar a hiperalgesia secundária durante a inflamação desencadeada por adjuvante completo de Freund (CFA) (HURLEY; HAMMOND, 2000; TERAYAMA et al., 2000; GUAN et al., 2002; TERAYAMA; DUBNER; REN, 2002).

Três horas após a injeção de CFA na pata, a microinjeção de 10 ou 1000 pmol de NMDA no RVM facilita e inibe, respectivamente, a hiperalgesia térmica primária (TERAYAMA et al., 2000; GUAN et al., 2002). Um dia após a injeção do CFA, entretanto, a microinjeção de NMDA, em qualquer dose, produz somente inibição da hiperalgesia primária. Corroborando estes achados, a estimulação elétrica do RVM, três horas após a injeção de CFA, inibe de forma menos eficaz as respostas de retirada da pata ao estímulo térmico nocivo do que uma hora pós CFA (TERAYAMA et al., 2000; TERAYAMA; DUBNER; REN, 2002). Plasticidade semelhante neste núcleo é vista quando se avalia a potência de agonistas opióides μ ou δ , que torna-se progressivamente maior quando testada 4 horas, 4 dias e 2 semanas após a injeção de CFA na pata traseira (HURLEY; HAMMOND, 2000). A SCP também parece desenvolver semelhante plasticidade nos mecanismos que modulam a nocicepção na vigência de inflamação (MORGAN et al., 1991).

1.2 A resposta à formalina

Um modelo de dano periférico persistente muito utilizado é o teste da formalina (DUBUISSON; DENNIS, 1977). Acredita-se que a nocicepção química/inflamatória gerada neste modelo, representa melhor a dor clínica do que testes térmicos ou mecânicos fásicos (DENNIS; MELZACK, 1979). A resposta à

injeção subcutânea de formalina consiste de uma fase inicial (1-5 minutos aproximadamente após a injeção) e uma fase tardia (15-60 minutos aproximadamente) de sensação dolorosa nos seres humanos e de comportamentos nociceptivos em animais de laboratório (PORRO; CAVAZZUTI, 1993). Os neurônios nociceptivos espinais com campos receptivos na pata injetada mostram correspondentes fases inicial e tardia de aumento de frequência de disparos (DICKENSON; SULLIVAN, 1987). Além disso, a formalina produz aumento imediato e intenso da atividade das fibras C aferentes melhor que outros inflamogênios freqüentemente usados (HEAPY; JAMIESON; RUSSEL, 1987).

Estudos mais recentes mostram que além do comportamento nociceptivo espontâneo característico que dura aproximadamente 1h, alodinia e hiperalgesia de longa duração são detectáveis em locais remotos ao da injeção da formalina. A resposta hiperalgésica a estímulos térmicos aplicados à cauda dura muitas horas após a injeção da formalina na pata de ratos (WIERTELAK et al., 1994), e a injeção de formalina na cauda reduz por várias horas o limiar de retirada da pata a estímulos térmicos (BIANCHI; PANERAI, 1997).

A injeção subcutânea de formalina 5% danifica os nociceptores no local da injeção, levando a respostas hipoalgésicas a estímulos mecânicos e térmicos. Entretanto, respostas hiperalgésicas são induzidas na superfície oposta à da injeção na pata (hiperalgesia primária), e também na pata contralateral (hiperalgesia secundária) (FU; LIGHT; MAIXNER, 2001).

A administração subcutânea de formalina parece ativar vias facilitatórias descendentes que são abolidas por transecção ou lesão espinal (WATKINS et al., 1994). Os mecanismos que contribuem para esses estados de dor de longa duração ainda não estão bem identificados. Diversos trabalhos sugerem que os mecanismos envolvidos com a sensibilização central são, pelo menos parcialmente, responsáveis pela hiperalgesia e alodinia persistentes observadas. O fato de que hiperalgesia e alodinia ocorrem em locais remotos ao da injeção da formalina, reforçam estas afirmações (FU; LIGHT; MAIXNER, 2001).

1.2.1 Controle da hiperalgesia primária durante a inflamação induzida por formalina

Influências inibitórias descendentes tônicas parecem já estar presentes quando a formalina é injetada (ABBOTT; HONG; FRANKLIN, 1996). Há, no entanto, evidências de que a fase inicial das respostas comportamentais à formalina é facilitada por projeções descendentes serotoninérgicas. De fato, a aplicação espinal de antagonista de receptor serotoninérgico 5-HT₃, deprime fortemente a atividade dos neurônios do corno dorsal desencadeada por formalina nesta fase (GREEN; SCARTH; DICKENSON, 2000), mas os mecanismos neuronais responsáveis por tal facilitação requerem ainda melhor definição.

A resposta tardia à formalina também está sujeita a mecanismos descendentes de facilitação/inibição. Altas concentrações de formalina resultam em maior atividade gabaérgica no RVM, o que pressupõe maior atenuação de mecanismos inibitórios descendentes a partir deste núcleo (GILBERT; FRANKLIN, 2001). Outros achados sugerem que projeções descendentes serotoninérgicas também facilitam as respostas da fase tardia da formalina (OYAMA et al., 1996).

A hiperalgesia mecânica e térmica observada na pata tratada com formalina ocorre rapidamente após a injeção, porém, diferentemente do comportamento nociceptivo espontâneo, estende-se por aproximadamente 4 semanas, e mostra efeito bifásico, com a fase inicial ocorrendo algumas horas após a estimulação e aumentando até o 3º dia, enquanto que a segunda fase ocorre por volta do 10º dia (FU; LIGHT; MAIXNER, 2001). O grau de hiperalgesia induzida pela formalina parece ser limitado pelo aumento concomitante da sensibilidade de mecanismos neuronais espinais à inibição noradrenérgica descendente (GREEN; SCARTH; DICKENSON, 2000). Finalmente, resultados semelhantes indicam que a inibição opioidérgica espinal também está sensibilizada (HYLDEN et al., 1991).

1.2.2 Controle da hiperalgesia secundária durante a inflamação induzida por formalina

Respostas hiperalgésicas a estímulos mecânicos também são detectadas na pata contralateral àquela tratada com formalina (FU; LIGHT; MAIXNER, 2001). Após a injeção de formalina em uma pata traseira, ocorre facilitação do reflexo de retirada da cauda evocado por estímulo térmico ou mecânico (hiperalgesia secundária) (CALEJESAN; CH'ANG; ZHUO, 1998). A administração de metisergida por via intratecal bloqueia essa facilitação (GOGAS et al., 1991), e a lesão prévia do RVM provoca inibição desse reflexo (WIERTELAK et al., 1997). Quando a medula espinal é transeccionada antes da injeção de formalina, não ocorre facilitação ou inibição do reflexo de retirada da cauda (WIERTELAK et al., 1994), mostrando assim o caráter descendente dessa modulação. Estes resultados sugerem que a injeção intraplantar de formalina desencadeia influências facilitatórias descendentes sobre mecanismos envolvidos com a hiperalgesia secundária, tanto quanto influências inibitórias descendentes que se tornam aparentes quando as facilitatórias são removidas.

Aferentes primários da pata terminam em neurônios localizados em segmentos espinais diferentes daqueles onde estão neurônios envolvidos no controle do reflexo de retirada da cauda (WIERTELAK et al., 1994). Assim, a facilitação do reflexo de retirada da cauda após a injeção de formalina na pata (hiperalgesia secundária) requer processamento intraespinal e/ou circuitaria descendente. De fato, a transecção espinal impede a redução do limiar de retirada da cauda produzida pela injeção intraplantar de formalina, mostrando que influências descendentes são necessárias para o desenvolvimento desse fenômeno (WIERTELAK et al., 1994). Porém, há de se considerar que a estimulação nociceptiva repetitiva (como a que ocorre com a formalina) provoca excitação difusa na medula espinal, mesmo entre segmentos diferentes (COGHILL et al., 1991).

1.3 O Núcleo Pré-tectal anterior

Não há absoluta separação anatômica entre as estruturas envolvidas na iniciação de mecanismos descendentes inibitórios e facilitatórios. Loci comuns em diversas áreas encefálicas dão origem a vias que levam à facilitação ou inibição descendentes (FIELDS; HEINRICHER; MASON, 1991). Dentre as estruturas supraespinais com importante papel nestes mecanismos encontra-se o núcleo pretectal anterior (NPtA).

A estimulação elétrica do NPtA de ratos promove antinocicepção nos testes da formalina, de pressão da pata (WILSON; REES; ROBERTS, 1991) e abertura da mandíbula (CHIANG et al., 1989). Após injeção intraplantar de formalina, há maior captação de glicose pelos neurônios do NPtA de ratos, efeito significativamente maior no 14^o do que no 2^o dia, o que sugere que o estímulo nociceptivo prolongado é mais eficaz na ativação deste núcleo (PORRO et al., 1991; NETO et al., 1999).

Também, a estimulação elétrica do NPtA inibe a atividade de neurônios multirreceptivos de camadas profundas do corno dorsal da medula espinal em resposta a estímulos térmicos nocivos, sem afetar as respostas destes neurônios a estímulos não nocivos (REES; ROBERTS, 1987), e facilita a atividade de neurônios nociceptivos específicos superficiais em resposta a estímulos nocivos (REES; TERENCE; ROBERTS, 1995).

Villarreal e cols. (2003), observaram aumento significativo do número de células c-Fos imunorreativas no NPtA ipsilateral, e principalmente no contralateral em ratos com incisão cirúrgica da pata. A imunorreatividade à c-Fos nas lâminas superficiais e profundas do corno dorsal ipsilateral foi significativamente maior que nos animais controles, o que não ocorreu no lado contralateral. A microinjeção de anestésico local no NPtA contralateral à incisão da pata diminuiu o número de células que expressaram a proteína c-Fos nas lâminas superficiais em resposta à incisão na pata, e aumentou o número de células c-Fos imunorreativas nas lâminas profundas do corno dorsal da medula espinal. Esses achados nos levam a concluir que a estimulação nociceptiva persistente ativa aferências que atingem o NPtA principalmente no lado contralateral, de onde partem vias descendentes que atuam

ativando células superficiais e inibindo as células profundas do corno dorsal da medula espinal.

Muitos estudos ainda são necessários para entender os complexos mecanismos de controle endógeno da dor desencadeados quando há um dano periférico persistente como a inflamação. Avanços nesse sentido podem resultar em melhores estratégias terapêuticas e, conseqüentemente, melhor qualidade de vida.

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência de vias descendentes de controle da nocicepção que partem do NPtA sobre a hiperalgesia mecânica ou térmica, primária e secundária, implicadas com o início e manutenção de processo inflamatório periférico persistente.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Avaliar, através de testes comportamentais, os efeitos do bloqueio neural do NPtA na indução e desenvolvimento da hiperalgesia mecânica ou térmica, primária e secundária, até duas semanas após o início de inflamação periférica;
- 2) Avaliar, através de testes comportamentais, os efeitos da estimulação de circuitos glutamatérgicos e μ -opioidérgicos presentes no NPtA na indução e desenvolvimento da hiperalgesia mecânica ou térmica, primária e secundária, até duas semanas após o início de inflamação periférica;
- 3) Avaliar a influência de vias inibitórias e facilitatórias descendentes do NPtA sobre a atividade neuronal do corno dorsal da medula espinal na vigência de processo inflamatório periférico;
- 4) Procurar correlações entre a atividade neuronal das lâminas do corno dorsal da medula espinal os achados comportamentais.

3.1 Animais

Foram utilizados ratos Wistar machos, provenientes do Biotério Central do Campus da USP de Ribeirão Preto, pesando por volta de 160 gramas no momento da cirurgia estereotáxica. Estes animais foram inicialmente mantidos no biotério do Departamento de Farmacologia, com água e alimentação *ad libitum*, temperatura controlada ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) e ciclo de luz claro/escuro de 12 x 12 horas, com início do período claro às 7:00 horas. Para a realização dos experimentos, os animais foram levados previamente à sala de experimentação para adaptação.

Os experimentos foram conduzidos conforme protocolo aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (Protocolo 189/2005) da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Foram respeitadas as normas éticas que compreendem cuidados com os animais de laboratório e seu uso em experimentos que envolvem dor (ZIMMERMANN, 1983; 1986; PORTER, 1992). Todo esforço foi feito no sentido de minimizar tanto o número de animais quanto seu sofrimento.

3.2 Injeção intraplantar de formalina

50 μl de formalina 5% em salina ou salina, foram injetados sob a pele do dorso da pata posterior direita. Para a injeção, a agulha, com o bisel voltado para cima, foi inserida cuidadosamente. A visualização da agulha através da pele permitiu que a formalina fosse injetada sempre na mesma região da pata. A agulha foi retirada com leve rotação, evitando-se o refluxo do volume injetado.

3.3 Implante de cânula-guia

Os animais foram anestesiados com tribromoetanol (50mg/kg, intraperitoneal) e fixados em aparelho estereotáxico (DKI). A calota craniana foi exposta e os animais receberam implante crônico de cânula guia de aço inoxidável (23G) de 12 mm de comprimento. As cânulas foram direcionadas de modo a manter a extremidade inferior 3,0 mm acima do alvo, segundo as coordenadas do Atlas de Paxinos & Watson, 1986 (anteroposterior: +3,2 mm relativo à linha interaural; lateral: +1,8 mm relativo à sutura sagital; dorsoventral: -2,4 mm relativo à superfície da calota craniana). Para evitar obstrução, um mandril de aço inoxidável (30-G) foi introduzido e fixado no interior da cânula-guia. Os implantes foram fixados com acrílico autopolimerizável (Simplex®, São Paulo, Brasil) ancorado por dois parafusos de aço inoxidável rosqueados na calota craniana do animal. Após a cirurgia os animais foram tratados com injeção intramuscular de 0,2 ml de antibiótico (Pentabiótico Veterinário®, Fontoura-Wyeth) e permaneceram no biotério por um período mínimo de repouso de cinco dias.

3.4 Microinjeção

A microinjeção foi feita através de agulha de vidro (70-90 μ m) conectada a um tubo de aço inoxidável (30-G). O conjunto é protegido por um sistema telescópico de tubos de aço inoxidável que compreende um tubo 30-G conectado a um tubo 23-G. Esta proteção permite o deslizamento do conjunto de agulha de vidro e tubo de aço no seu interior. O tubo 30-G, conectado à agulha de vidro, tem sua outra extremidade ligada a um tubo de polietileno (PE 10) sobreposto a um papel milimetrado para medida do deslocamento de volume. O polietileno é preenchido com solução contendo droga ou salina e sua outra extremidade é conectada a uma seringa de 10 ml (vazia) utilizada para fazer pressão dentro do polietileno, provocando o deslocamento da solução (visualizado por uma bolha de ar). A proteção de aço com a agulha é colocada na cânula-guia e a agulha introduzida até

o alvo (3,0 mm abaixo da ponta da cânula). O volume total de injeção de 250 nl foi administrado lentamente a uma velocidade constante durante 2 minutos (a fim de evitar rápida expansão do tecido) e a agulha foi removida 20 segundos após esse procedimento.

3.5 Avaliação da Hiperalgisia Mecânica

3.5.1 Teste de Pressão Crescente na Pata/Cauda de Rato

O uso de filamentos de von Frey (VON FREY, 1896) é um método para avaliar nocicepção. Essa técnica foi transformada em um método eletrônico usado primeiramente em humanos (JENSEN et al., 1986) e posteriormente em ratos (MOLLER; JOHANSSON; BERGE, 1998). Os experimentos foram realizados com um anesthesiômetro eletrônico (Insight®), que consiste em um transdutor de pressão conectado a um contador digital de força expressa em gramas. A precisão do aparelho é de 0,1 g. O contato do transdutor de pressão à pata é realizado através de uma ponteira descartável de polipropileno com 0,5 mm de diâmetro adaptada a esse. Os animais foram colocados em caixas de acrílico, medindo 12X20X17 cm cujo assoalho é uma rede de malha igual a 5 mm² constituída de arame não maleável de 1 mm de espessura, no mínimo 30 minutos antes do experimento para adaptação. Espelhos são posicionados 25 cm abaixo das caixas de experimentação para facilitar a visualização. O experimentador aplica uma pressão linearmente crescente na superfície plantar da pata do rato, ou na região dorsal da cauda a 5 cm da extremidade, até que o animal produza uma resposta caracterizada como sacudida da pata ou da cauda estimuladas. Os estímulos são repetidos por até seis vezes, em geral até o animal apresentar 3 medidas similares. A intensidade da resposta foi quantificada como a variação na pressão (Δ do limiar de estímulo) obtida subtraindo-se a média de três valores observados antes (limiares basais) da média de três valores obtidos após o procedimento experimental:

$$\Delta(g) = (\text{média de 3 medidas basais similares}) - (\text{média de 3 medidas similares pós procedimentos})$$

3.6 Avaliação da Hiperalgisia Térmica

3.6.1 Teste de Retirada da Cauda/Pata de rato

Com os animais nas caixas de acrílico usadas na avaliação da hiperalgisia mecânica, um filamento de níquel-cromo foi colocado em contato com a superfície ventral da pata traseira direita e da pata traseira esquerda do rato (na região plantar) ou com a superfície ventral da cauda entre 2 cm e 3 cm da extremidade. Este filamento é eletricamente aquecido à taxa de 6° C/segundo a partir da temperatura ambiente (24° C), atingindo temperatura máxima aproximada de 80°C. Dessa forma o reflexo de retirada da cauda/pata em ratos não tratados ocorre por volta de 4 segundos. O aquecimento é automaticamente interrompido ao alcançar 9 segundos a fim de evitar lesão tecidual.

Os estímulos são repetidos três vezes nas primeiras leituras (leituras basais) e por duas vezes nas demais leituras. A intensidade da resposta foi quantificada como a variação (Δ) do limiar de estímulo) no tempo obtida subtraindo-se a média de 3 valores expressos em segundos (tempo) observada antes de qualquer procedimento (limiares basais) da média de 2 valores obtidos após os procedimentos experimentais:

$$\Delta(s) = (\text{média das 3 medidas basais}) - (\text{média de 2 medidas pós procedimentos})$$

A temperatura da sala de experimentação foi cuidadosamente mantida constante a $24 \pm 1^\circ$ C, uma vez que esta parece interferir com as respostas nociceptivas a estímulos térmicos (BERGE; GARCIA-CABRERA; HOLE, 1988; TJOLSEN et al., 1988; MILNE; GAMBLE, 1989; ROSLAND, 1991).

3.7 Imunohistoquímica c-Fos

130 minutos após a microinjeção de salina, lidocaína, glutamato (5 ou 50 nmol) ou 311 pmol de DAMGO no NPtA, os animais foram anestesiados com dose letal de tiopental sódico 2,5% (Abbott®) e feita a perfusão transcardíaca com solução salina tamponada, seguida por paraformaldeído 4% (Sigma®) em tampão fostato 0,1 M (pH=7,4). As medulas espinais foram removidas, fixadas por 2 horas no paraformaldeído e estocadas por tempo mínimo de 48 horas em sacarose 30% (Vetec®). Decorridos este tempo, as medulas foram congeladas em Tissue Teck (Sakura®) para serem seccionadas em cortes de 40 µm usando-se um aparelho criostato (Leica CM 1850). O lado da medula espinal ipsilateral à pata injetada com formalina ou salina foi marcado por meio de pequena perfuração.

Seguindo metodologia descrita anteriormente (DE OLIVEIRA; DEL BEL; GUIMARAES, 2000), foi realizada imunohistoquímica c-Fos nas secções transversais da medula espinal obtidas. As secções foram sucessivamente lavadas, e incubadas por 20 horas em anticorpo primário (c-Fos – rabbit polyclonal IgG 1/1000 em PBS+, Santa Cruz, USA), após novas lavagens, foi feita exposição ao anticorpo secundário (anti-rabbit; Vector) por 1 hora e, a seguir, à reação da imunoperoxidase avidina-biotina (Kit Vectastain ABC, Vector Lab, Burlingame, CA, USA), e a imunorreatividade à c-Fos foi revelada pela adição do corante diaminobenzidina (Sigma).

As secções da medula foram distendidas em lâminas (Knittel Glaser®) previamente gelatinizadas. Depois de secas à temperatura ambiente, estas secções foram desidratadas por meio de uma série de álcoois (70%, 80%, 95% e 100%, 3 minutos em cada), clareadas em xilol (2 vezes de 3 minutos) e cobertas com Entellan (ProSciTech®) e lamínulas (Perfecta®).

O número de células c-Fos imunorreativas foi quantificado em áreas correspondentes as lâminas I/II e lâmina V bilateralmente no corno dorsal da medula espinal. As imagens das secções foram capturadas utilizando-se um microscópio Leica com câmera CCD e o sistema computadorizado de análise de imagem 9.0 (W. Rasband, National Institute of Mental Health). As lâminas do corno dorsal foram identificadas e delimitadas com auxílio do atlas de Paxinos e Watson (PAXINOS;

WATSON, 1986). Cada contagem obtida foi confirmada por análise visual das lâminas. Para cada tratamento, foram avaliadas três secções da medula espinal lombo-sacra (L3-L4) por animal. Toda a quantificação histológica foi feita de forma cega.

3.8 Análise histológica

Terminados os testes, os animais receberam microinjeção do corante Fast Green (250 nl) no NPtA. Procedeu-se anestesia com dose letal de tiopental sódico 2,5% (Abbott®) e foi feita perfusão transcardíaca com solução salina tamponada, seguida por paraformaldeído 4% (Sigma®) em tampão fostato 0,1 M (pH=7,4). Os encéfalos foram removidos, fixadas por 2 horas no paraformaldeído e estocadas por tempo mínimo de 48 horas em sacarose 30% (Vetec®). Decorridos este tempo, os encéfalos foram congeladas e seccionadas em cortes de 60 µm usando-se um aparelho criostato (Leica CM 1850). Os cortes foram montados em lâminas de vidro gelatinizadas, secas ao ar e corados com solução de vermelho neutro 1%. Posteriormente, foram analisados com o auxílio de uma lupa e os sítios de injeção anotados sobre figuras retiradas do atlas de Paxinos & Watson (PAXINOS; WATSON, 1986).

3.9 Análise estatística

Os resultados foram representados como a média \pm erro padrão da média (EPM) de pelo menos 4 animais por grupo. Para os resultados dos testes comportamentais foi usada Análise de variância a um critério (One-way ANOVA) seguido pelo teste de Tukey, e para os resultados de imunohistoquímica foi usada análise de variância a um critério seguida pelo teste de Newman Keuls. O software GraphPad Prism® 5 foi utilizado para fazer estas análises.

3.10 Drogas

As seguintes drogas foram utilizadas: [D-Ala², N-Me-Phe⁴, Gly-ol⁵]-enkephalin (DAMGO) foi adquirida de Tocris Cookson Inc. (Ellisville, MO, USA), 2% lidocaine chloride (Xylocaine[®]) adquirida de AstraZeneca do Brasil (São Paulo, Brazil) e L-glutamic acid hydrochloride adquirida de RBI/Sigma (Natick, MA, USA). Todas as drogas foram diluídas em salina.

3.11 Protocolos

3.11.1 Indução da hiperalgesia primária e secundária

Para indução da hiperalgesia foi administrada 50 µl de formalina 5% (diluída em salina) no dorso da pata direita dos ratos, como descrito no item 3.2. Os animais controles receberam a injeção de mesmo volume de salina (NaCl 0,9%). A hiperalgesia primária mecânica e térmica foram avaliadas na superfície ventral da pata injetada; a hiperalgesia mecânica secundária foi avaliada na superfície ventral da pata esquerda e na superfície dorsal da cauda, e a hiperalgesia térmica secundária na superfície ventral da pata esquerda e na superfície ventral da cauda.

3.11.2 Avaliação dos efeitos do bloqueio neural ou estimulação do NPtA sobre a hiperalgesia mecânica ou térmica primária e secundária, **imediatamente, 2 horas, 1 dia, 7 dias e 14 dias** do início do processo inflamatório.

A leitura dos limiares mecânico e térmico basais foi tomada nas patas posteriores direita e esquerda e na calda. Após as leituras basais, foi feita injeção de formalina 5% ou salina no dorso da pata direita. Nos tempos 0, 2 horas, 1 dia, 7 dias

e 14 dias após a injeção i.pl. foi feita microinjeção de lidocaína 2%, glutamato (5 ou 50 nmol), DAMGO (156 pmol ou 311 pmol), ou salina, no NPtA esquerdo e então foram feitas novas leituras do limiar mecânico e térmicos nas patas posteriores e na cauda nos tempos 0 e 15 minutos após a microinjeção.

Quando a microinjeção no NPtA foi feita no tempo 2 horas após a injeção i.pl., foi feita leitura adicional dos limiares mecânico e térmico logo após a injeção i.pl. de salina ou formalina. Quando a microinjeção ocorreu nos tempos 1 dia, 7 dias e 14 dias após a injeção i.pl., foram feitas leituras adicionais dos limiares mecânico e térmico logo após a injeção intraplantar e imediatamente antes das microinjeções.

3.11.3 Avaliação dos efeitos do bloqueio neural ou estimulação do NPtA sobre a atividade neuronal do corno dorsal da medula espinal, imediatamente e 7 dias do início do processo inflamatório.

Para este protocolo, os animais seguiram os mesmos passos descritos no protocolo anterior (3.11.2) com a diferença de que agora os estímulos mecânicos ou térmicos foram feitos em grupos distintos de animais, para permitir averiguar a ação do controle descendente na atividade neuronal do corno dorsal da medula espinal frente ao estímulo mecânico ou térmico individualmente. Além disso, os estímulos mecânicos foram sempre padronizados em 5 estimulações em cada momento.

Cento e trinta minutos após as microinjeções de lidocaína, glutamato (5 ou 50 nmol) ou 311 pmol de DAMGO no NPtA os animais foram sacrificados e suas medulas espinais retiradas e processadas para realização de imunohistoquímica c-Fos (como descrito no item 3.7).

4.1 Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou salina (250 nl) no NPtA sobre a hiperalgesia mecânica e térmica, primária e secundária, imediatamente, 2 horas, 1 dia, 7 dias, ou 14 dias após a indução de inflamação pela injeção i.pl. de formalina 5%

4.1.1 Pata direita (hiperalgesia primária)

4.1.1.1 Limiar mecânico

4.1.1.1.1 Imediatamente após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 01**.

A microinjeção de glutamato (5 nmol/250 nl) no NPtA após a injeção de salina (50 µl) na pata direita (grupo **salina i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) diminuiu levemente o limiar mecânico desta pata, enquanto que a microinjeção de glutamato (50 nmol/250 nl) no NPtA (grupo **salina i.pl.+glut 50 nmol NPtA**) teve efeito oposto, comparado com animais controle (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**), ambos porém, sem diferença estatística significativa. A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita diminuiu de forma significativa o limiar mecânico quando seguida pela microinjeção de salina (250 nl) no NPtA (grupo **formalina i.pl.+salina NPtA**) e, de forma menos intensa, quando glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) foi microinjetado no NPtA (grupos **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 50 nmol NPtA**), comparado com animais controle (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**).

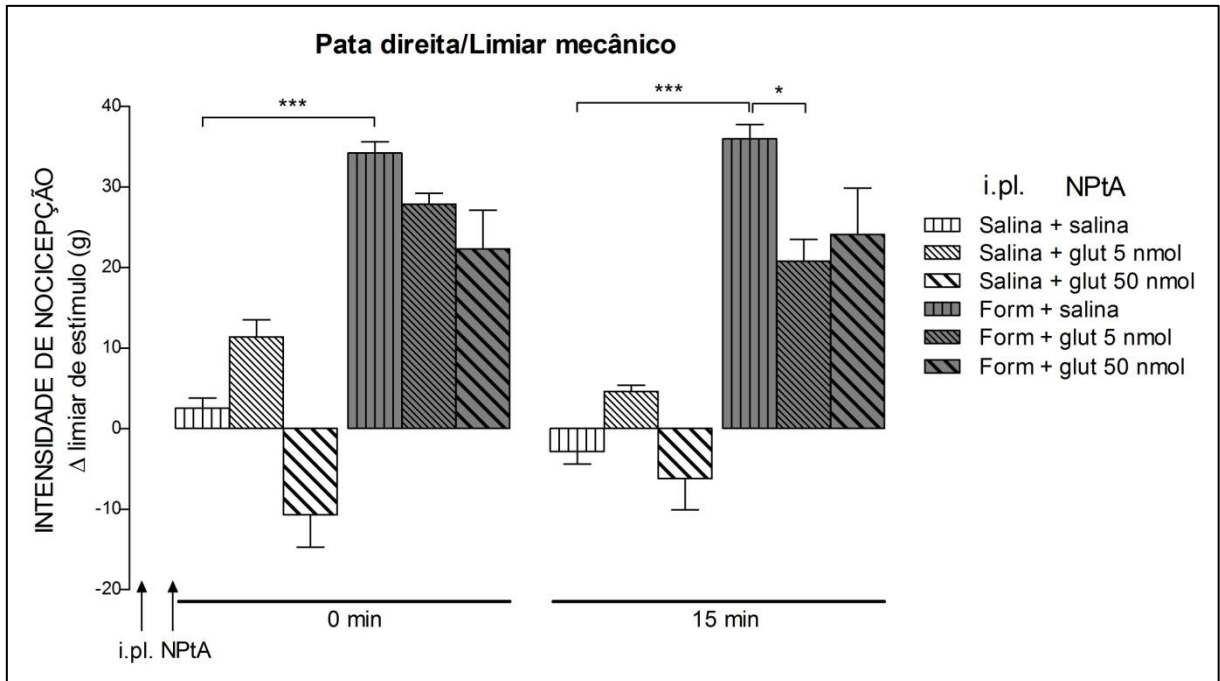


Figura 01. Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica primária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata direita antes da injeção intraplantar (i.pl.). Após a injeção de formalina ou salina (50 μ l) na superfície dorsal da pata direita, foi feita microinjeção de glutamato ou de salina no NPtA esquerdo e novas medidas do limiar para estímulos mecânicos foram aferidas nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata direita antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.1.1.1.2 2 horas após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 02**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) causou drástica e imediata diminuição no limiar mecânico desta pata comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.**), que se prolongou até 2 horas após a injeção i.pl. (grupo **salina i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+salina NPtA**). 2 horas após as injeções intraplantares de salina, a microinjeção de glutamato (5 nmol/250 nl) no NPtA esquerdo (grupo **salina i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) não alterou o limiar mecânico da pata direita, enquanto que a microinjeção de glutamato (50 nmol/250 nl) aumentou o limiar no tempo 0 após a microinjeção (grupo **salina i.pl.+glut 50 nmol NPtA**), comparado com animais controle (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). Já os animais que haviam recebido formalina i.pl. e, 2 horas após, receberam a microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) no NPtA (grupos **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 50 nmol NPtA**) não apresentaram mudanças significativas no limiar mecânico da pata direita quando comparado com os animais com injeção i.pl. de formalina e microinjeção de salina no NPtA (grupo **form i.pl.+salina NPtA**).

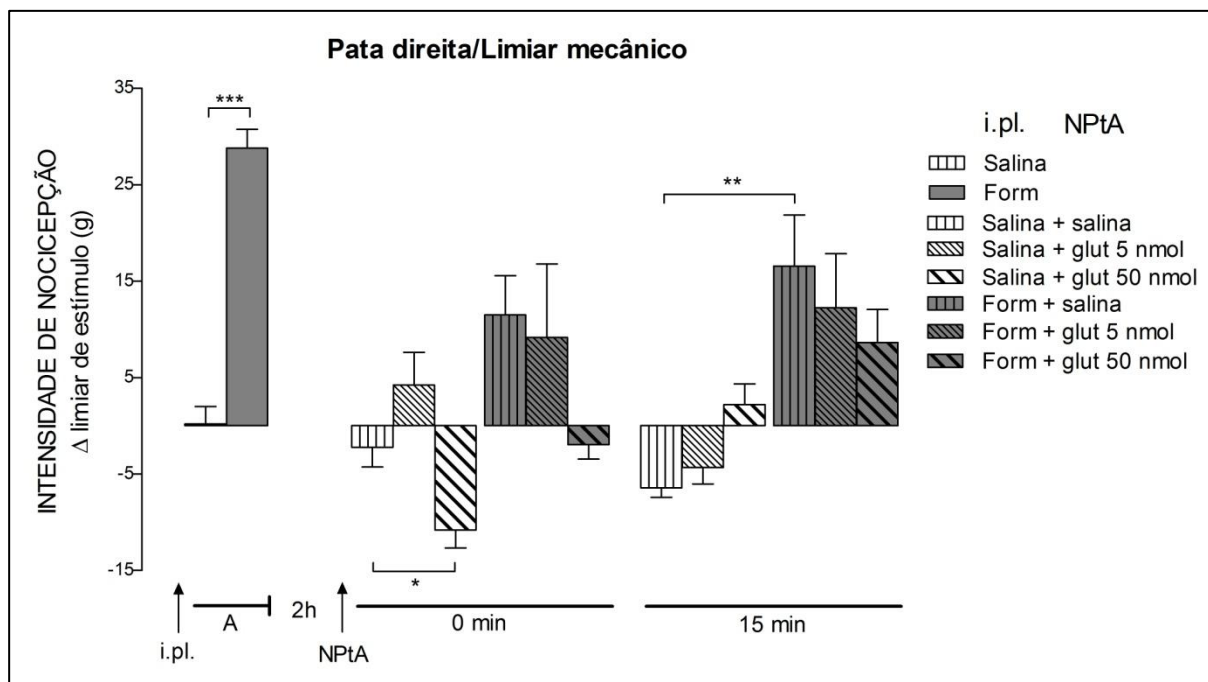


Figura 02. Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica primária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata direita antes da injeção intraplantar (i.pl.). Após a injeção de formalina ou salina (50 μ l) na superfície dorsal da pata direita, foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (**A**). Duas horas após a injeção i.pl., glutamato ou salina foram microinjetados no NPtA esquerdo e novos limiares foram aferidos nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata direita antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.1.1.1.3 1 dia após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 03**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) causou drástica e imediata diminuição no limiar mecânico desta pata comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.**), que se prolongou até 1 dia após a injeção i.pl. Um dia após as injeções intraplantares de salina, a microinjeção de glutamato (5 nmol/250 nl) no NPtA esquerdo (grupo **salina i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) não alterou o limiar mecânico da pata direita, enquanto que a microinjeção de glutamato (50 nmol/250 nl) aumentou estes limiares especialmente no tempo 0 após a microinjeção (grupo **salina i.pl.+glut 50 nmol NPtA**), comparado com animais controle (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). Da mesma forma, a microinjeção de 5 nmol de glutamato no NPtA, 2 horas após a injeção i.pl. de formalina (grupo **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) não apresentou mudanças significativas no limiar mecânico da pata direita, e aqueles animais que, nas mesmas condições, receberam microinjeção de 50 nmol de glutamato no NPtA (**form i.pl.+glut 50 nmol NPtA**) apresentaram aumento destes limiares, comparado com os animais com injeção i.pl. de formalina e microinjeção de salina no NPtA (grupo **form i.pl.+salina NPtA**).

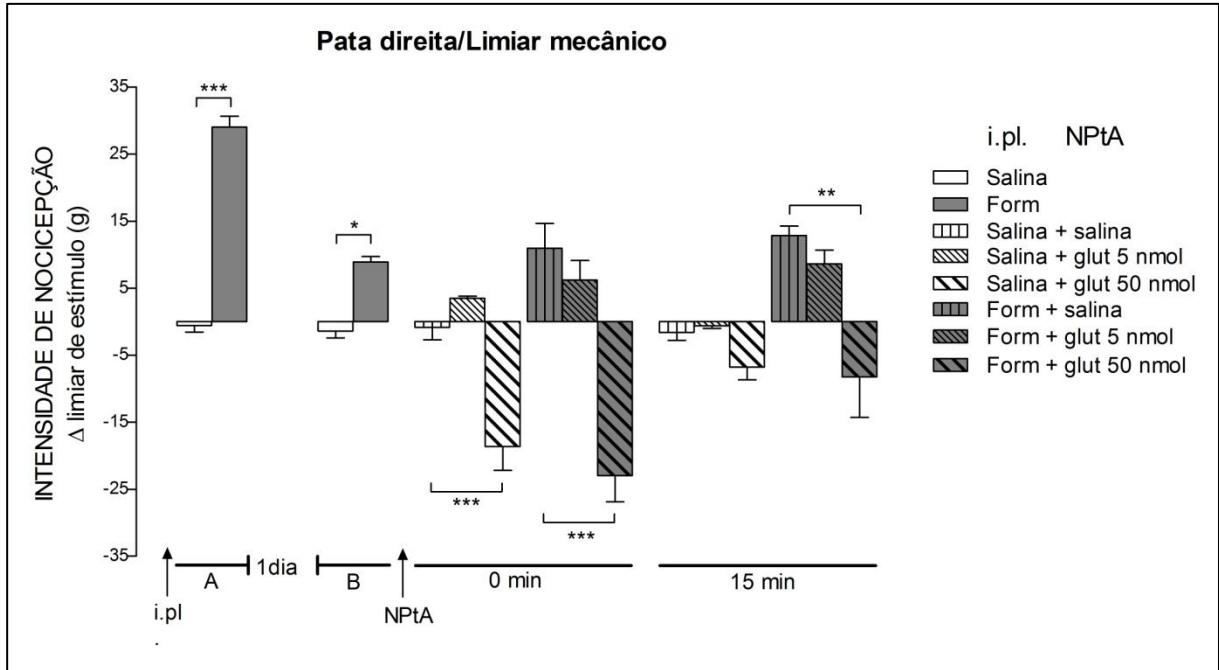


Figura 03. Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica primária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata direita antes da injeção intraplantar (i.pl.). Após a injeção de formalina ou salina (50 μ l) na superfície dorsal da pata direita, foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (**A**). Um dia após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de glutamato ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata direita antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.1.1.1.4 7 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 04**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) causou drástica e imediata diminuição no limiar mecânico desta pata comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.**), que se prolongou até 7 dias após a injeção i.pl. Sete dias após as injeções intraplantares de salina, a microinjeção de glutamato (5 nmol/250 nl) no NPtA esquerdo (grupo **salina i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) diminuiu o limiar mecânico da pata direita no tempo 0 após a microinjeção, enquanto que a microinjeção de 50 nmol de glutamato no NPtA (250 nl, grupo **salina i.pl.+glut 50 nmol NPtA**) aumentou este limiars, comparado com animais controle (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). Animais com injeção de formalina na pata direita e que, 7 dias após, receberam microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) no NPtA (grupos **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 50 nmol NPtA**) apresentaram aumento do limiar mecânico, significativo estatisticamente somente naqueles com a maior dose de glutamato, comparado com com os animais com injeção i.pl. de formalina e microinjeção de salina no NPtA (grupo **form i.pl.+salina NPtA**).

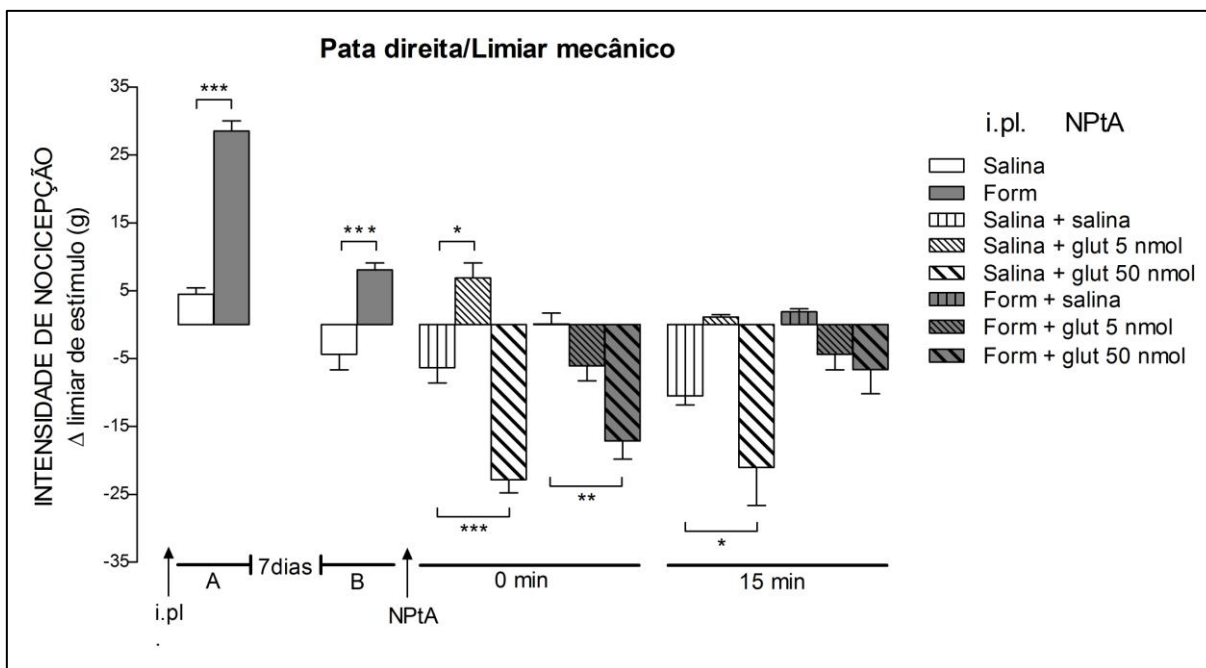


Figura 04. Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica primária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata direita antes da injeção intraplantar (i.pl.). Após a injeção de formalina ou salina (50 μ l) na superfície dorsal da pata direita, foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (**A**). Sete dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de glutamato ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata direita antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.1.1.1.5 14 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 05**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) causou drástica e imediata diminuição no limiar mecânico desta pata comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.**), que não se prolongou até o 14º dia após a injeção i.pl. Catorze dias após as injeções intraplantares de salina, a microinjeção de glutamato (5 nmol/250 nl) no NPtA esquerdo (grupo **salina i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) diminuiu de forma não significativa o limiar mecânico da pata direita no tempo 0 após a microinjeção, enquanto que a microinjeção de 50 nmol de glutamato no NPtA (250 nl, grupo **salina i.pl.+glut 50 nmol NPtA**) aumentou este limiars de forma significativa, comparado com animais controle (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). A microinjeção de 5 nmol de glutamato no NPtA (grupo **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) 14 dias após injeção i.pl. de formalina provocou diminuição não significativa do limiar mecânico da pata direita, e aqueles animais, que nas mesmas condições, receberam microinjeção de 50 nmol de glutamato no NPtA (grupo **form i.pl.+glut 50 nmol NPtA**) não apresentaram mudanças significativas nestes limiars, comparado com os animais com injeção i.pl. de formalina e microinjeção de salina no NPtA (grupo **form i.pl.+salina NPtA**).

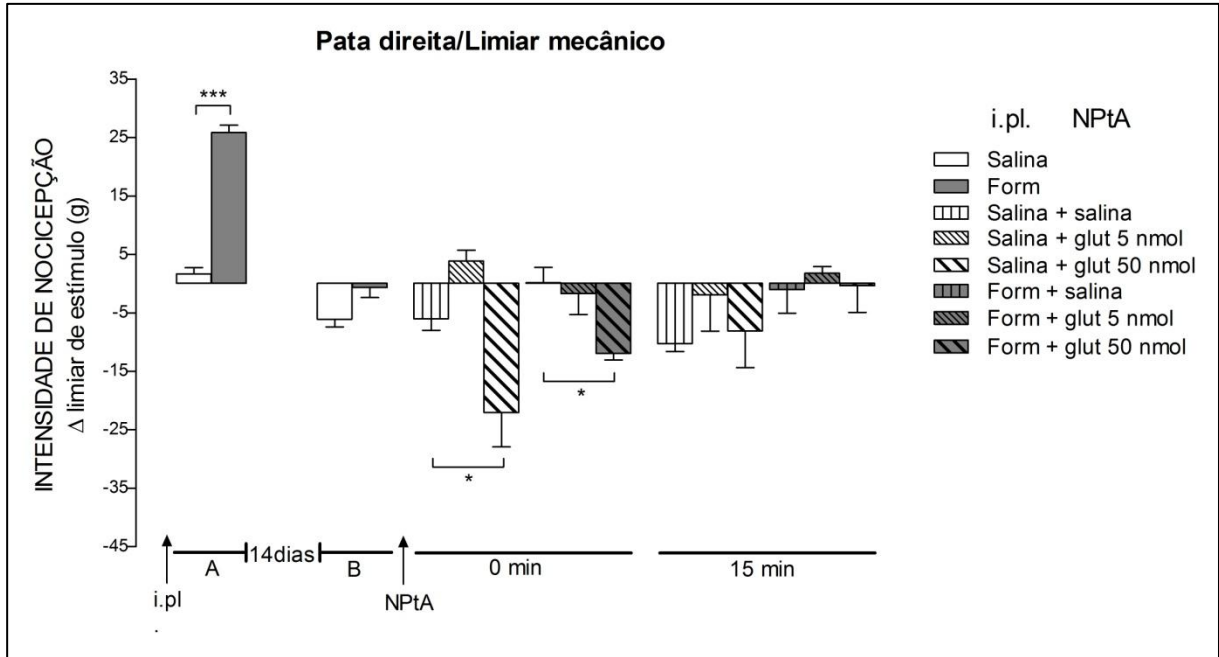


Figura 05. Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica primária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata direita antes da injeção intraplantar (i.pl.). Após a injeção de formalina ou salina (50 μ l) na superfície dorsal da pata direita, foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (**A**). 14 dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de glutamato ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata direita antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.1.1.2 Limiar térmico

4.1.1.2.1 Imediatamente após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 06**.

A microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) no NPtA esquerdo após a injeção de 50 µl de salina na pata direita (grupos **salina i.pl.+glut 5 nmol NPtA** e **salina i.pl.+glut 50 nmol NPtA**) não teve efeitos significativos sobre o limiar térmico da pata direita, comparado com animais controle (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**), apesar da dose maior de glutamato ter provocado leve aumento destes limiares. A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita diminuiu de forma significativa o limiar térmico desta pata quando seguida pela microinjeção de salina no NPtA (grupo **formalina i.pl.+salina NPtA**) e, de forma menos intensa, quando 5 nmol ou, principalmente, 50 nmol de glutamato foi microinjetado no NPtA (grupos **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 50 nmol NPtA**), comparado com animais controle (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**).

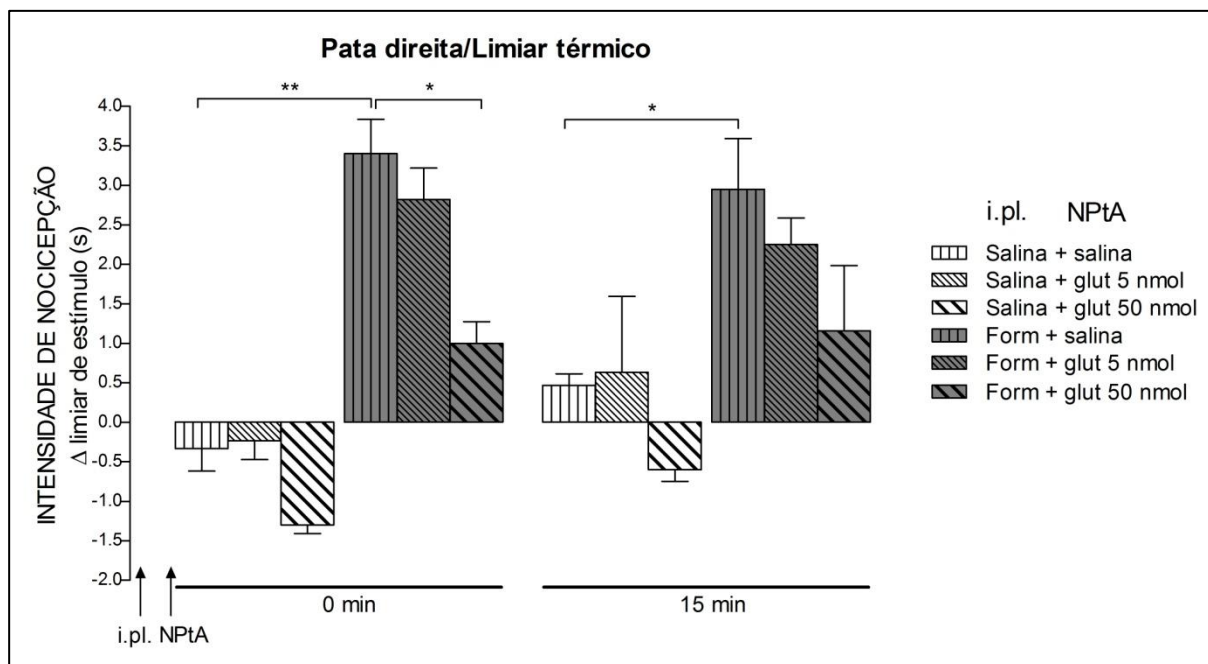


Figura 06. Efeitos da microinjeção de 250 nl de glutamato (5 ou 50 nmol,) ou de salina no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica primária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata direita antes da injeção intraplantar (i.pl.). Após a injeção de formalina ou salina (50 μ l) na superfície dorsal da pata direita, foi feita microinjeção de glutamato ou de salina no NPtA esquerdo e novas medidas do limiar para estímulos mecânicos foram aferidas nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata direita antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.1.1.2.2 2 horas após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 07**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) causou imediata diminuição no limiar térmico desta pata comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.**), que se prolongou até 2 horas após a injeção i.pl. (grupo **salina i.pl.+salina NPtA x form i.pl.+salina NPtA**). 2 horas após as injeções intraplantares de salina, a microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) no NPtA (grupos **salina i.pl.+glut 5 nmol NPtA** e **salina i.pl.+glut 50 nmol NPtA**) não alterou o limiar térmico da pata direita, comparado com animais controle (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). Já os animais que haviam recebido formalina i.pl. e, 2 horas após, receberam a microinjeção de glutamato no NPtA (grupos **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 50 nmol NPtA**) apresentaram aumento destes limiares, estatisticamente significativo com a maior dose de glutamato e no tempo 0 após a microinjeção, quando comparado com os animais com injeção i.pl. de formalina e microinjeção de salina no NPtA (grupo **form i.pl.+salina NPtA**).

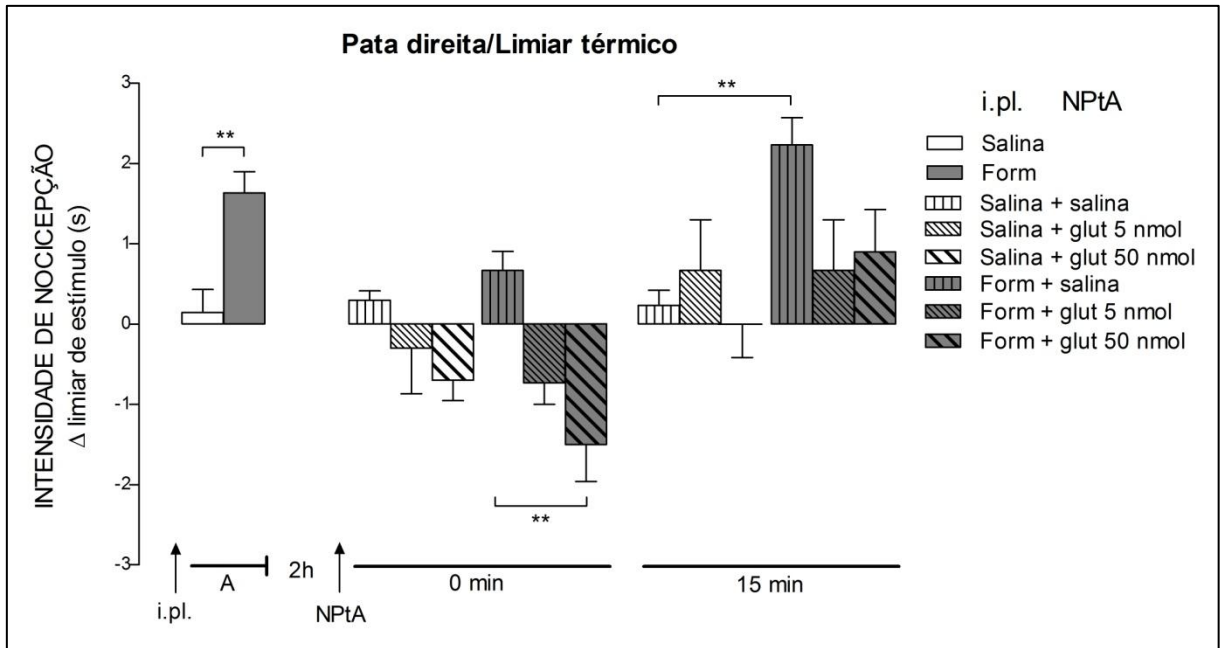


Figura 07. Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica primária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata direita antes da injeção intraplantar (i.pl.). Após a injeção de formalina ou salina (50 μ l) na superfície dorsal da pata direita, foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (**A**). Duas horas após a injeção i.pl., glutamato ou salina foram microinjetados no NPtA esquerdo e novos limiares foram aferidos nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na pata direita antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. ** $P < 0,01$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.1.1.2.3 1 dia após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 08**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) causou imediata diminuição no limiar térmico desta pata comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.**), que não se prolongou até 1 dia após a injeção i.pl. Um dia após as injeções intraplantares de salina, a microinjeção de glutamato (5 nmol/250 nl) no NPtA (grupo **salina i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) não alterou significativamente o limiar térmico da pata direita, e naqueles animais que nas mesmas condições, receberam microinjeção de 50 nmol de glutamato no NPtA (250 nl, grupo **salina i.pl.+glut 50 nmol NPtA**) houve aumento destes limiares no tempo 0 após a microinjeção, comparado com animais controle (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). Da mesma forma, os animais que haviam recebido formalina i.pl. e, 1 dia após, receberam a microinjeção de 5 nmol de glutamato no NPtA (grupo **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) não mostraram alteração significativa do limiar térmico da pata direita, e naqueles animais que nas mesmas condições, receberam microinjeção de 50 nmol de glutamato no NPtA (grupo **form i.pl.+glut 50 nmol NPtA**) houve aumento destes limiares no tempo 0 após a microinjeção, comparado com os animais com injeção i.pl. de formalina e microinjeção de salina no NPtA (grupo **form i.pl.+salina NPtA**).

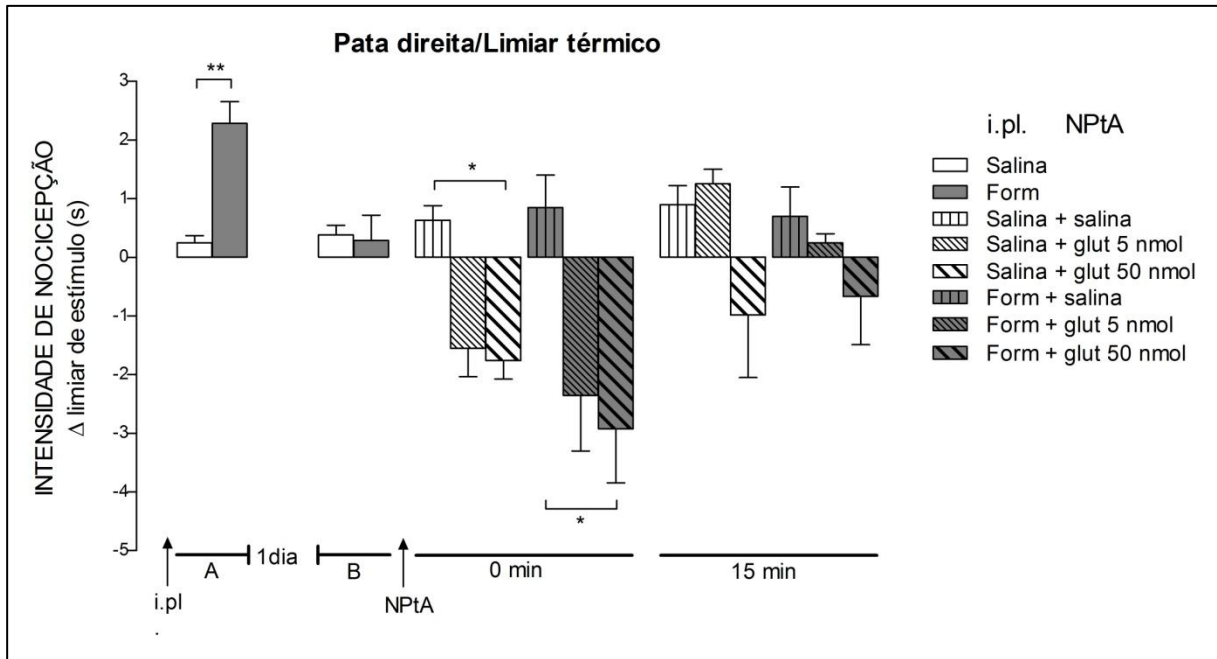


Figura 08. Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica primária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata direita antes da injeção intraplantar (i.pl.). Após a injeção de formalina ou salina (50 μ l) na superfície dorsal da pata direita, foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (A). Um dia após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (B) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de glutamato ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na pata direita antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.1.1.2.4 7 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 09**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) causou imediata diminuição no limiar térmico desta pata comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.**), que não se prolongou até o 7º dia após a injeção i.pl. Sete dias após as injeções intraplantares de salina, a microinjeção de glutamato (5 nmol/250 nl) no NPtA (grupo **salina i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) não alterou significativamente o limiar térmico da pata direita, e naqueles animais que nas mesmas condições, receberam microinjeção de 50 nmol de glutamato no NPtA (grupo **salina i.pl.+glut 50 nmol NPtA**) houve aumento destes limiares no tempo 0 após a microinjeção, comparado com animais controle (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). Os animais que haviam recebido formalina i.pl. e, 7 dias após, receberam a microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) no NPtA (grupos **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 50 nmol NPtA**) não mostraram mudanças significativas no limiar térmico da pata direita, comparado com os animais com injeção i.pl. de formalina e microinjeção de salina no NPtA (grupo **form i.pl.+salina NPtA**).

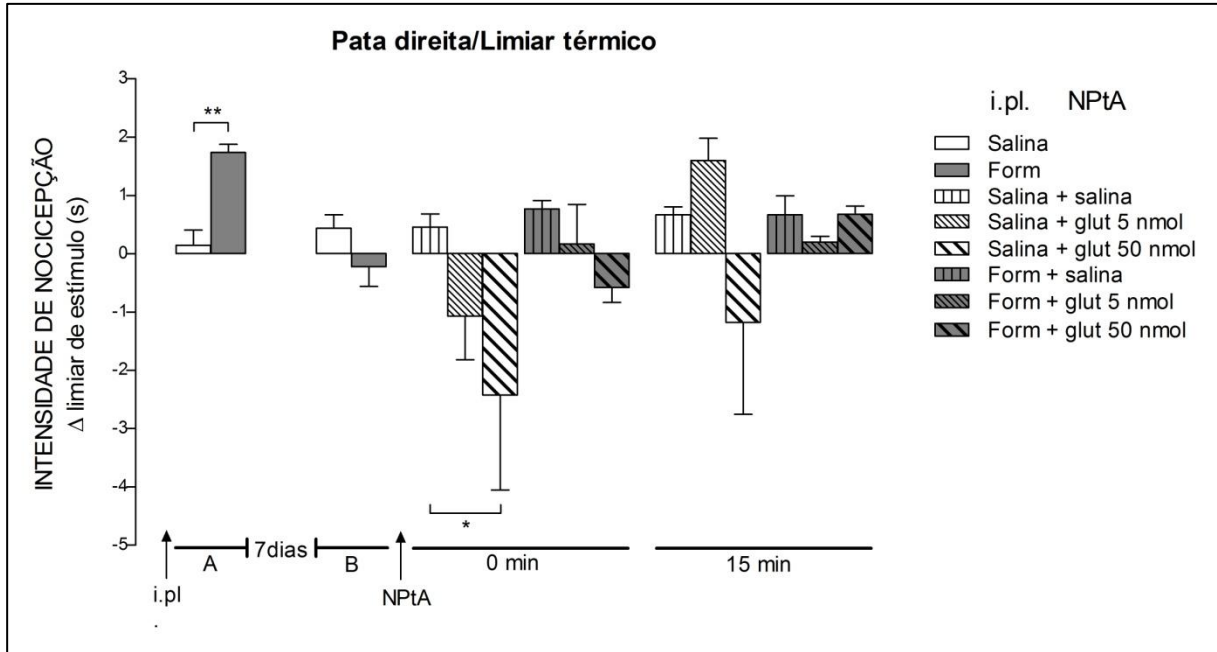


Figura 09. Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica primária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata direita antes da injeção intraplantar (i.pl.). Após a injeção de formalina ou salina (50 μ l) na superfície dorsal da pata direita, foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (**A**). Sete dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de glutamato ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na pata direita antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.1.1.2.5 14 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 10**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) causou imediata diminuição no limiar térmico desta pata comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.**), que não se prolongou até o 14º dia após a injeção i.pl. Catorze dias após as injeções intraplantares de salina, a microinjeção de glutamato (5 nmol/250 nl) no NPtA (grupo **salina i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) não alterou significativamente o limiar térmico da pata direita, e naqueles animais que nas mesmas condições, receberam microinjeção de glutamato (50 nmol/250 nl) no NPtA (grupo **salina i.pl.+glut 50 nmol NPtA**) houve aumento destes limiares no tempo 0 após a microinjeção, comparado com animais controle (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). Os animais que haviam recebido formalina i.pl. e, 14 dias após, receberam a microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) no NPtA (grupos **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 50 nmol NPtA**) não mostraram mudanças significativas no limiar térmico da pata direita, comparado com os animais com injeção i.pl. de formalina e microinjeção de salina no NPtA (grupo **form i.pl.+salina NPtA**).

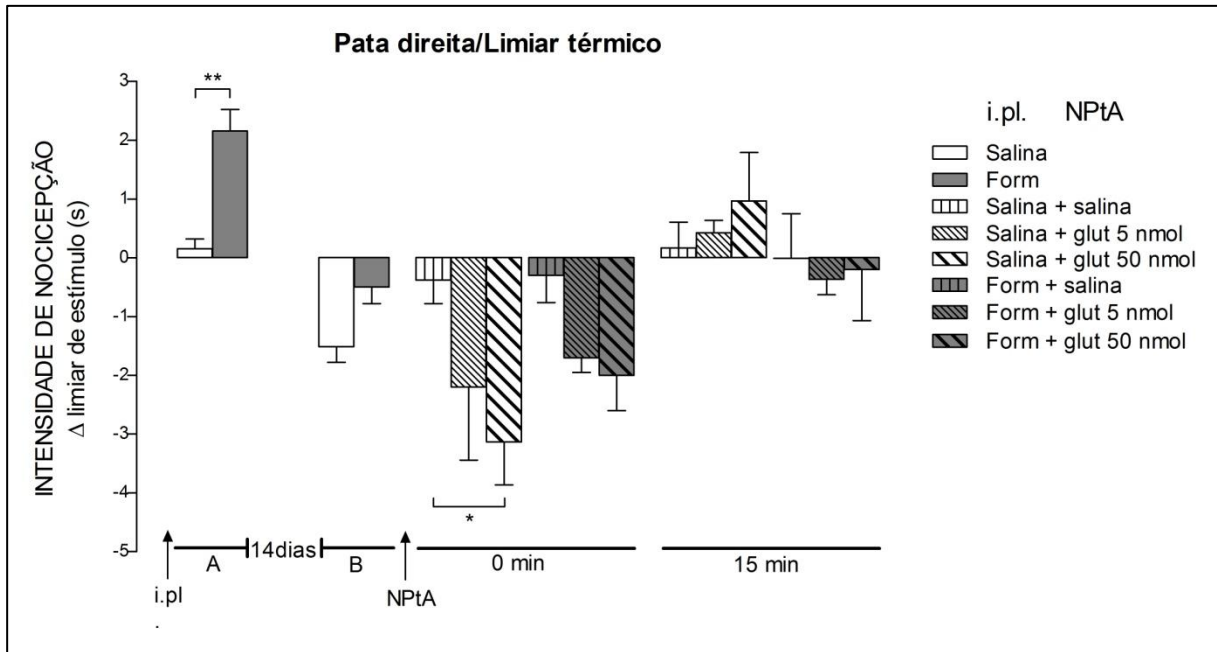


Figura 10. Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica primária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata direita antes da injeção intraplantar (i.pl.). Após a injeção de formalina ou salina (50 μ l) na superfície dorsal da pata direita, foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (**A**). 14 dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de glutamato ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na pata direita antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.1.2 Pata esquerda (hiperalgesia secundária)

4.1.2.1 Limiar mecânico

4.1.2.1.1 Imediatamente após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 11**.

A microinjeção de glutamato (5 nmol/250 nl) no NPtA após a injeção de salina (50 µl) na pata direita (grupo **salina i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) diminuiu o limiar mecânico da pata esquerda, enquanto que a dose de 50 nmol de glutamato microinjetada no NPtA (250 nl, grupo **salina i.pl.+glut 50 nmol NPtA**) não teve efeito significativo, comparado com animais controle (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita diminuiu de forma significativa o limiar mecânico da pata esquerda quando seguida pela microinjeção de salina no NPtA (grupo **formalina i.pl.+salina NPtA**) e, de forma menos intensa, quando 5 nmol de glutamato foi microinjetado no NPtA (grupo **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**), quando comparado com os animais com injeção i.pl. de salina e microinjeção de salina no NPtA (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). A microinjeção de glutamato (50 nmol) no NPtA após a injeção de formalina na pata direita (**form i.pl.+glut 50 nmol NPtA**) aumentou drasticamente o limiar mecânico da pata esquerda, quando comparado com os animais com injeção i.pl. de formalina e microinjeção de salina no NPtA (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**).

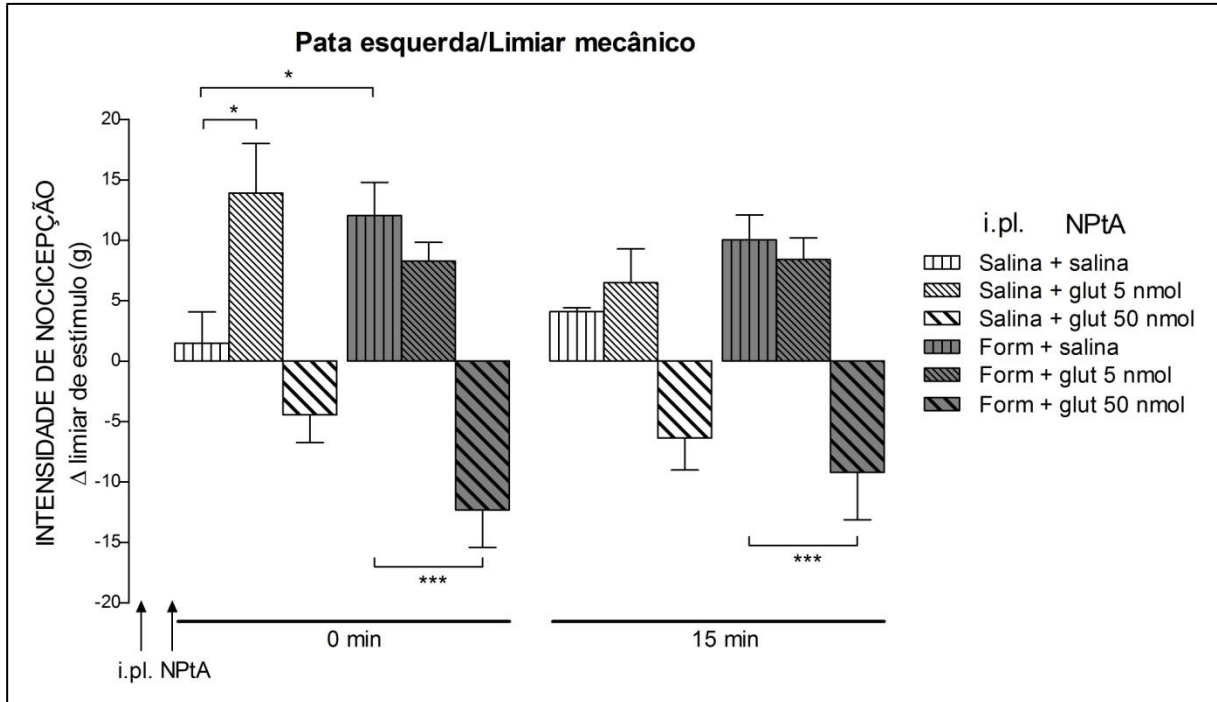


Figura 11. Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata esquerda antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após a injeção i.pl. foi feita microinjeção de glutamato ou salina no NPtA esquerdo e os limiares da pata esquerda foram aferidos novamente nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata esquerda antes da injeção i.pl. na pata direita e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.1.2.1.2 2 horas após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 12**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) causou drástica e imediata diminuição no limiar mecânico da pata esquerda comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.**), que se prolongou até 2 horas após a injeção i.pl. (grupo **salina i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+salina NPtA**). 2 horas após a injeção de salina na pata direita, a microinjeção de glutamato (5 nmol/250 nl) no NPtA esquerdo (grupo **salina i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) diminuiu o limiar mecânico da pata esquerda, especialmente no tempo 0 após a microinjeção, enquanto nenhuma alteração significativa foi vista nos animais que nas mesmas condições receberam microinjeção de 50 nmol de glutamato no NPtA (grupo **salina i.pl.+glut 50 nmol NPtA**), comparado com animais controle (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). Já os animais que haviam recebido formalina i.pl. e, 2 horas após, receberam a microinjeção de 5 nmol de glutamato no NPtA (grupo **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) não apresentaram mudança significativa no limiar mecânico da pata esquerda, enquanto que os animais que nas mesmas condições receberam microinjeção de 50 nmol de glutamato (**form i.pl.+glut 50 nmol NPtA**) apresentaram aumento destes limiares quando comparado com os animais com injeção i.pl. de formalina e microinjeção de salina no NPtA (grupo **form i.pl.+salina NPtA**).

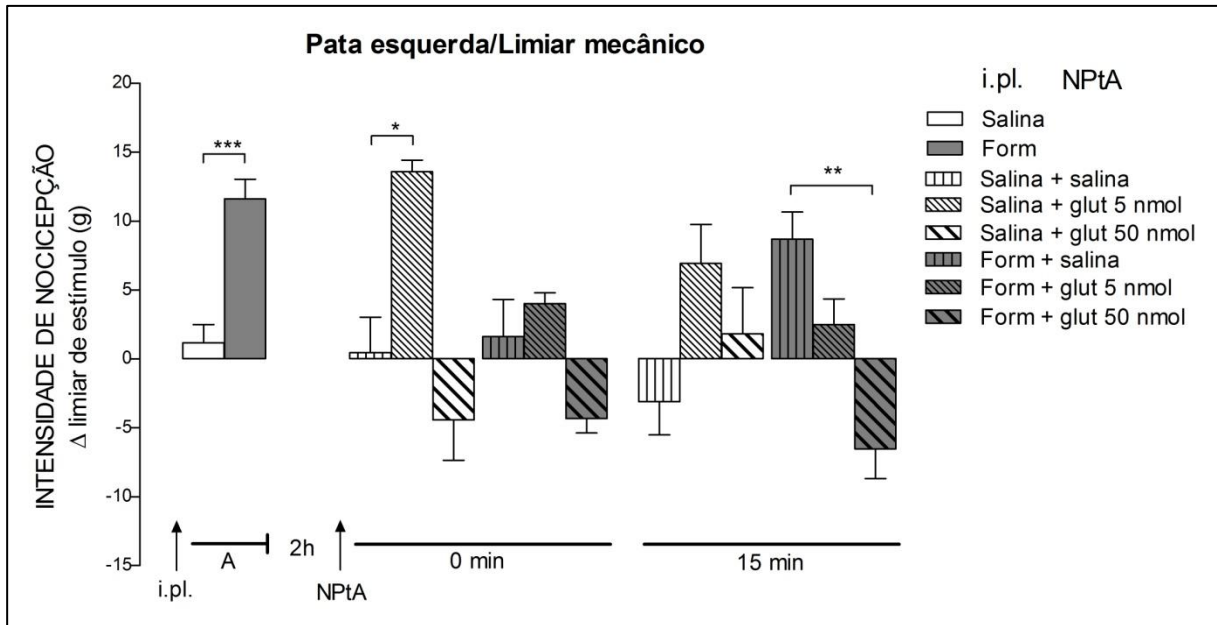


Figura 12. Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata esquerda antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (A). 2 horas após a injeção i.pl. foi feita microinjeção de glutamato ou salina no NPtA esquerdo e os limiares da pata esquerda foram aferidos novamente nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata esquerda antes da injeção i.pl. na pata direita e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.1.2.1.3 1 dia após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 13**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) causou drástica e imediata diminuição no limiar mecânico da pata esquerda, comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.**), que se prolongou até 1 dia após a injeção i.pl. Um dia após as injeções intraplantares de salina, a microinjeção de glutamato (5 nmol/250 nl) no NPtA esquerdo (grupo **salina i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) diminuiu levemente o limiar mecânico da pata esquerda, enquanto que a microinjeção de glutamato (50 nmol/250 nl) aumentou estes limiares especialmente no tempo 0 após a microinjeção (grupo **salina i.pl.+glut 50 nmol NPtA**), comparado com animais controle (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). Da mesma forma, os animais com injeção i.pl. formalina e que, 1 dia após, receberam microinjeção de 5 nmol de glutamato no NPtA (grupos **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) não apresentaram mudanças significativas no limiar mecânico da pata esquerda, e aqueles animais que, nas mesmas condições, receberam microinjeção de 50 nmol de glutamato no NPtA (**form i.pl.+glut 50 nmol NPtA**) apresentaram aumento destes limiares, comparado com os animais com injeção i.pl. de formalina e microinjeção de salina no NPtA (grupo **form i.pl.+salina NPtA**).

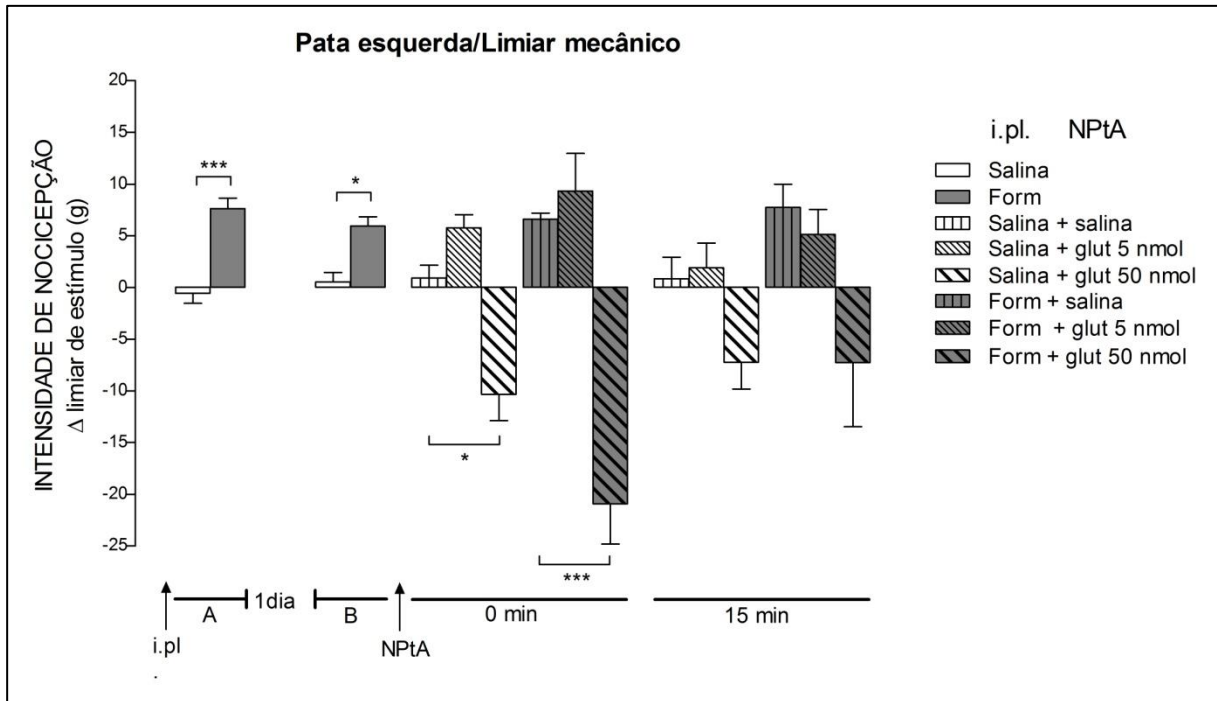


Figura 13. Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata esquerda antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (**A**). Um dia após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de glutamato ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata esquerda antes da injeção i.pl. na pata direita e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.1.2.1.4 7 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 14**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) causou drástica e imediata diminuição no limiar mecânico da pata esquerda, comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.**), que não se prolongou até o 7º dia após a injeção i.pl. Sete dias após as injeções intraplantares de salina, a microinjeção de glutamato (5 nmol/250 nl) no NPtA esquerdo (grupo **salina i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) diminuiu o limiar mecânico da pata esquerda, enquanto que a microinjeção de 50 nmol de glutamato no NPtA (250 nl, grupo **salina i.pl.+glut 50 nmol NPtA**) aumentou levemente estes limiares, comparado com animais controle (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). Da mesma forma, os animais com injeção i.pl. formalina e que, 7 dias após, receberam microinjeção de 5 nmol de glutamato no NPtA (grupos **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) não apresentaram mudanças significativas no limiar mecânico da pata esquerda, e aqueles animais que, nas mesmas condições, receberam microinjeção de 50 nmol de glutamato no NPtA (**form i.pl.+glut 50 nmol NPtA**) apresentaram aumento destes limiares no tempo 0 após a microinjeção, comparado com os animais com injeção i.pl. de formalina e microinjeção de salina no NPtA (grupo **form i.pl.+salina NPtA**).

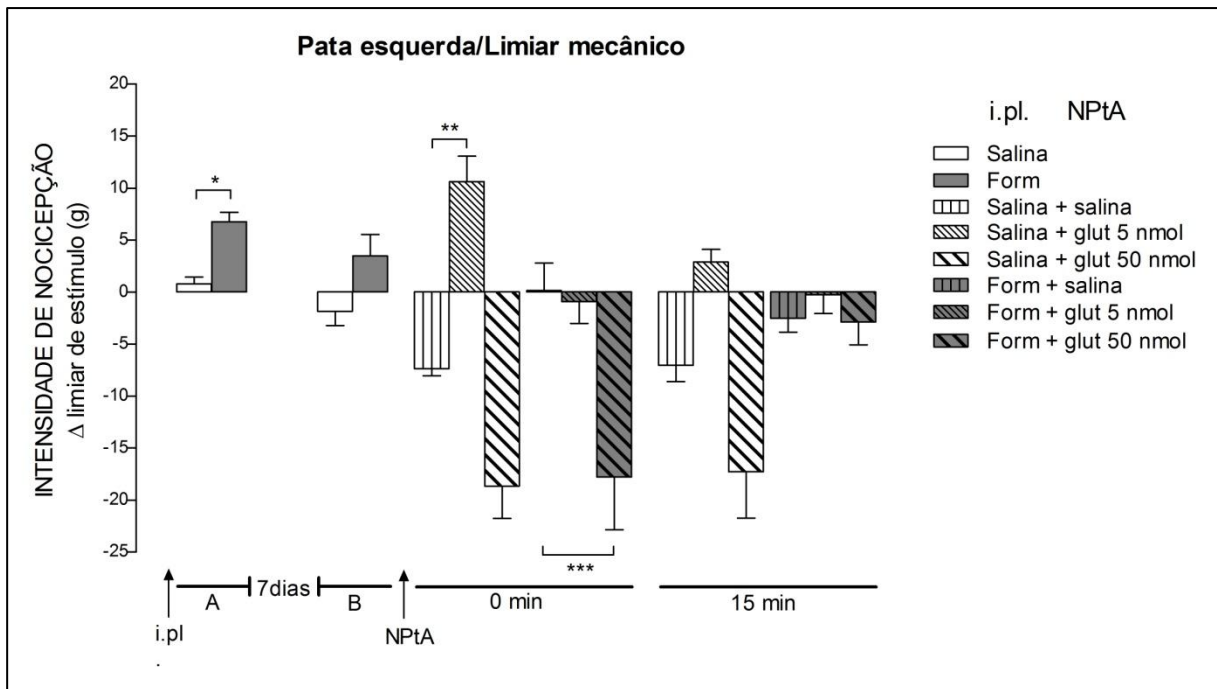


Figura 14. Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata esquerda antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (**A**). Sete dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de glutamato ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata esquerda antes da injeção i.pl. na pata direita e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.1.2.1.5 14 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 15**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) causou drástica e imediata diminuição no limiar mecânico da pata esquerda, comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.**), que não se prolongou até o 14º dia após a injeção i.pl. Catorze dias após as injeções intraplantares de salina, a microinjeção de glutamato (5 nmol/250 nl) no NPtA esquerdo (grupo **salina i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) diminuiu discretamente o limiar mecânico da pata esquerda, enquanto que a microinjeção de glutamato (50 nmol/250 nl) aumentou estes limiares (grupo **salina i.pl.+glut 50 nmol NPtA**), comparado com animais controle (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). Os animais com injeção de formalina na pata direita e que, 14 dias após, receberam microinjeção de 5 nmol de glutamato no NPtA (grupos **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) apresentaram discreta diminuição no limiar mecânico da pata esquerda, e aqueles animais que, nas mesmas condições, receberam microinjeção de 50 nmol de glutamato no NPtA (**form i.pl.+glut 50 nmol NPtA**) não apresentaram mudanças significativas destes limiares, comparado com os animais com injeção i.pl. de formalina e microinjeção de salina no NPtA (grupo **form i.pl.+salina NPtA**).

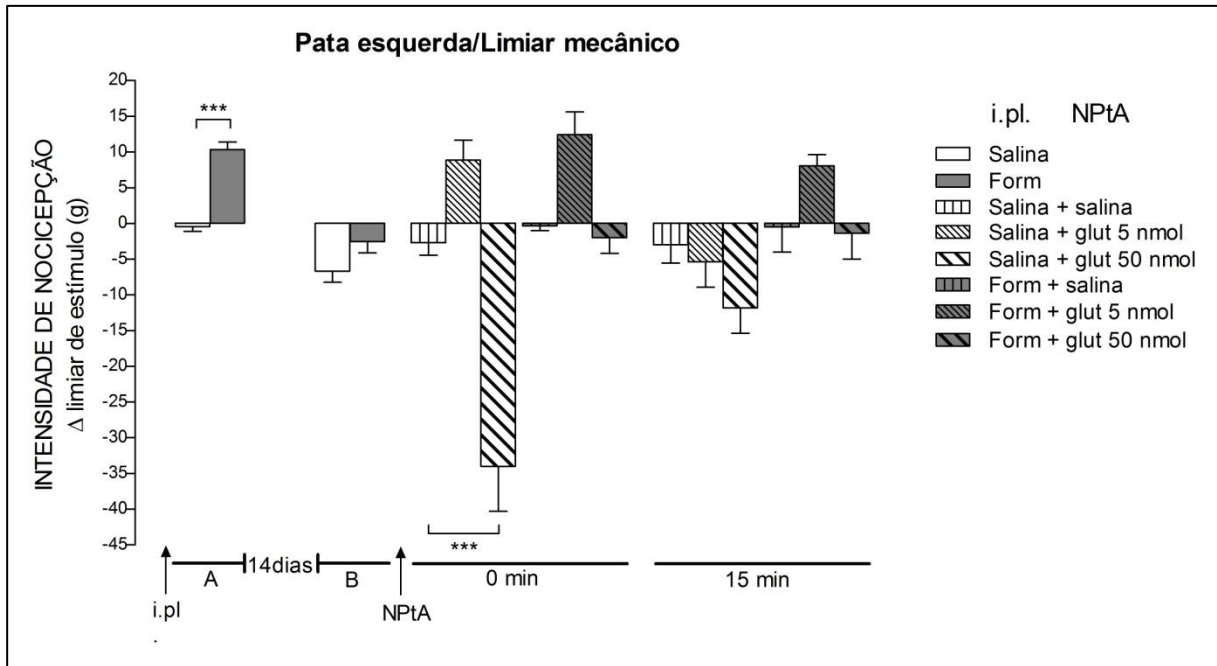


Figura 15. Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata esquerda antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (**A**). Duas semanas após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de glutamato ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata esquerda antes da injeção i.pl. na pata direita e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.1.2 Pata esquerda (hiperalgesia secundária)

4.1.2.2 Limiar térmico

4.1.2.2.1 Imediatamente após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 16**.

A microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) no NPtA após a injeção de 50 µl de salina na pata direita (grupos **salina i.pl.+glut 5 nmol NPtA** e **salina i.pl.+glut 50 nmol NPtA**) não teve efeitos significativos sobre o limiar térmico da pata esquerda, comparado com animais controle (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). Da mesma forma, a injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita não teve efeitos significativos sobre estes limiares quando seguida pela microinjeção de salina (grupo **formalina i.pl.+salina NPtA**), 5 nmol de glutamato (grupo **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) ou 50 nmol de glutamato no NPtA (grupo **form i.pl.+glut 50 nmol NPtA**), comparado com os animais com injeção de salina i.pl. e microinjeção de salina no NPtA (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**).

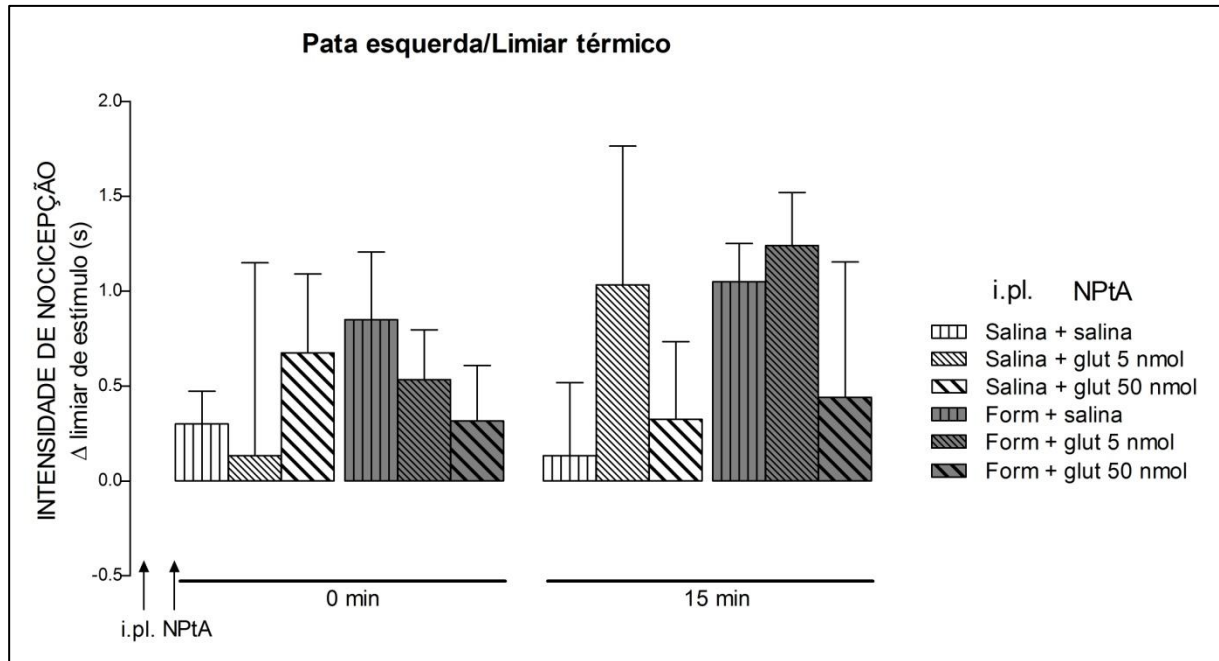


Figura 16. Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata esquerda antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após a injeção i.pl. foi feita microinjeção de glutamato ou salina no NPtA esquerdo e os limiares da pata esquerda foram aferidos novamente nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na pata esquerda antes da injeção i.pl. na pata direita e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo.

4.1.2.2.2. 2 horas após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 17**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) diminuiu levemente o limiar térmico da pata esquerda, comparado com os animais com injeção de salina (50 µl) na pata direita (grupo **salina i.pl.**). Duas horas após a injeção de formalina ou salina na pata direita, a microinjeção de 5 nmol (250 nl, grupos **salina i.pl.+glut 5 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) ou 50 nmol de glutamato (250 nl, grupos **salina i.pl.+glut 50 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) não provocou mudanças significativas no limiar térmico da pata esquerda.

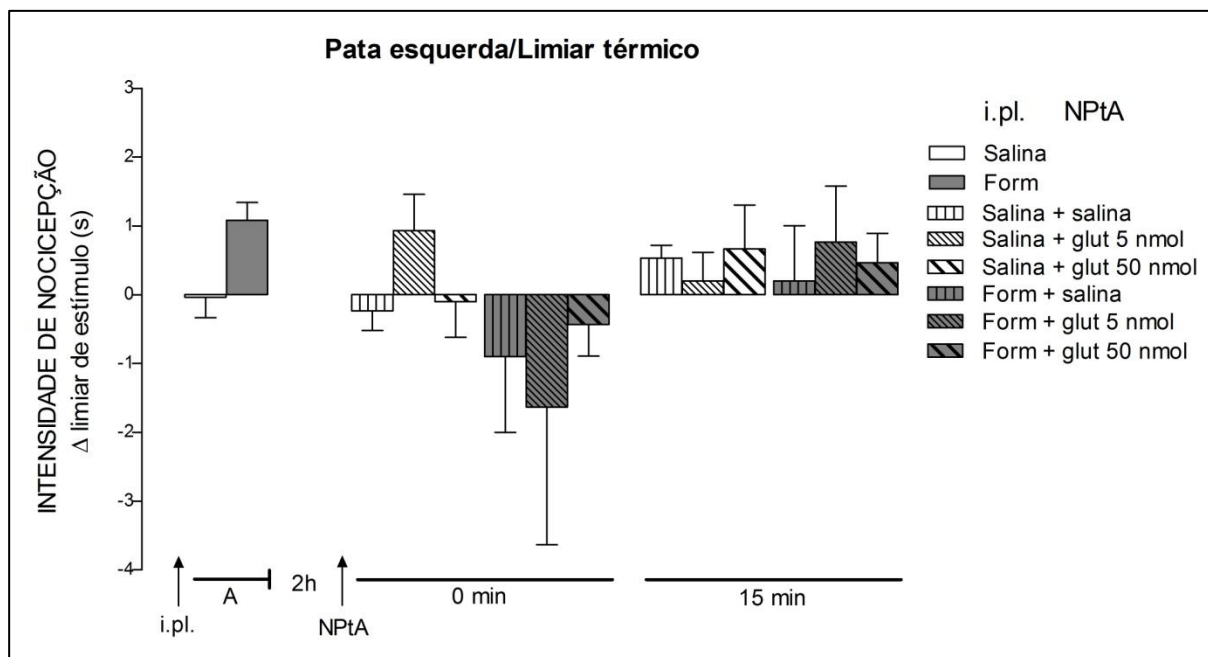


Figura 17. Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata esquerda antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (**A**). 2 horas após a injeção i.pl. foi feita microinjeção de glutamato ou salina no NPtA esquerdo e os limiares da pata esquerda foram aferidos novamente nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na pata esquerda antes da injeção i.pl. na pata direita e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo.

4.1.2.2.3 1 dia após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 18**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) diminuiu levemente o limiar térmico da pata esquerda, comparado com os animais com injeção de salina (50 µl) na pata direita (grupo **salina i.pl.**). Um dia após a injeção de formalina ou salina na pata direita, a microinjeção de 5 nmol (250 nl, grupos **salina i.pl.+glut 5 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) ou 50 nmol de glutamato no NPtA (250 nl, grupos **salina i.pl.+glut 50 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) não provocou mudanças significativas no limiar térmico da pata esquerda.

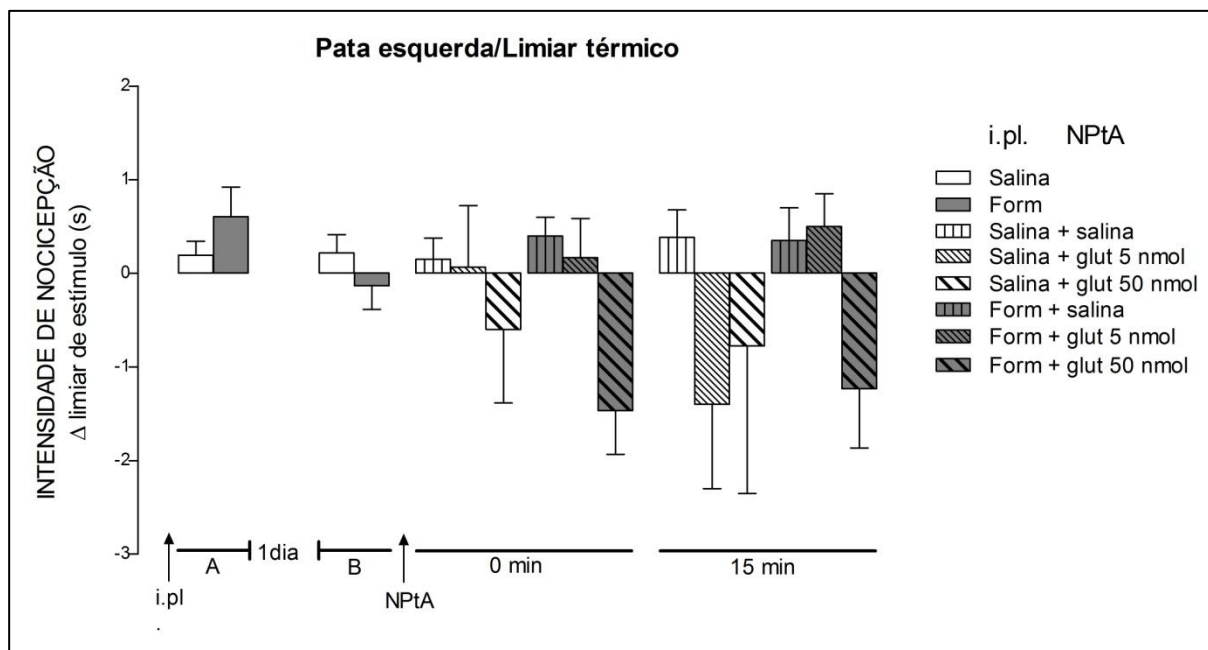


Figura 18. Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata esquerda antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (**A**). Um dia após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de glutamato ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na pata esquerda antes da injeção i.pl. na pata direita e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo.

4.1.2.2.4 7 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 19**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) diminuiu levemente o limiar térmico da pata esquerda, comparado com os animais com injeção de salina (50 µl) na pata direita (grupo **salina i.pl.**). Sete dias após a injeção de formalina ou salina na pata direita, a microinjeção de 5 nmol (250 nl, grupos **salina i.pl.+glut 5 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) ou 50 nmol de glutamato (250 nl, grupos **salina i.pl.+glut 50 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) não provocou mudanças significativas no limiar térmico da pata esquerda.

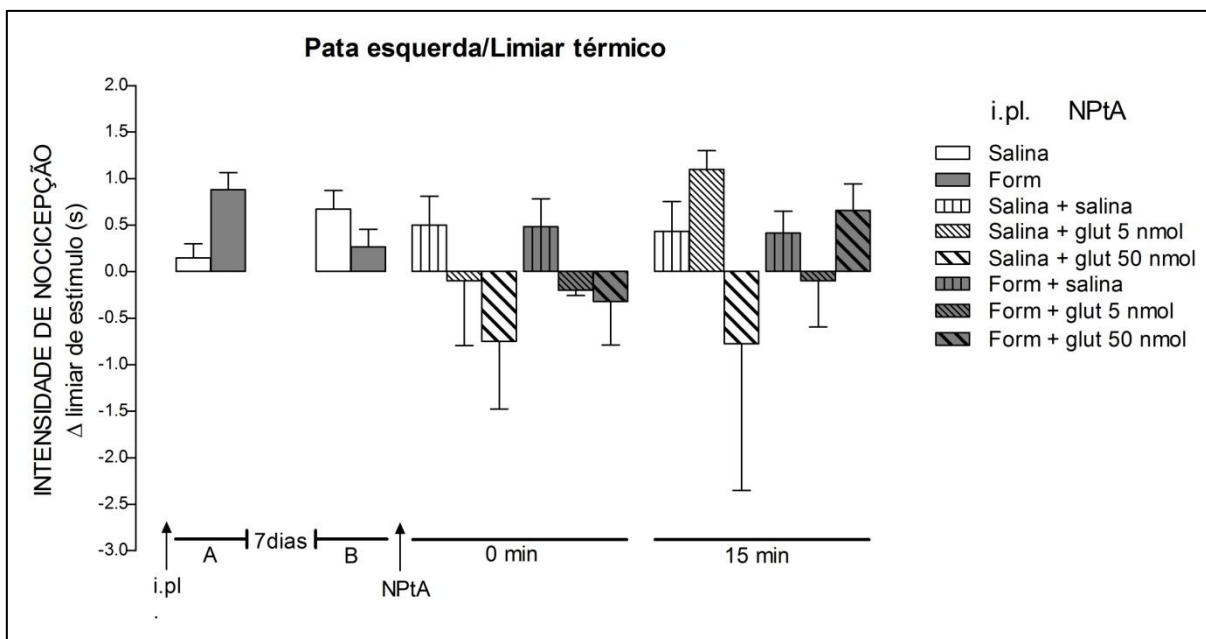


Figura 19. Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata esquerda antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (**A**). Sete dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de glutamato ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na pata esquerda antes da injeção i.pl. na pata direita e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo.

4.1.2.2.5 14 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 20**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) diminuiu levemente o limiar térmico da pata esquerda, comparado com os animais com injeção de salina (50 µl) na pata direita (grupo **salina i.pl.**). Catorze dias após a injeção de formalina ou salina na pata direita, a microinjeção de 5 nmol (250 nl, grupos **salina i.pl.+glut 5 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) ou 50 nmol de glutamato (250 nl, grupos **salina i.pl.+glut 50 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) não provocou mudanças significativas no limiar térmico da pata esquerda.

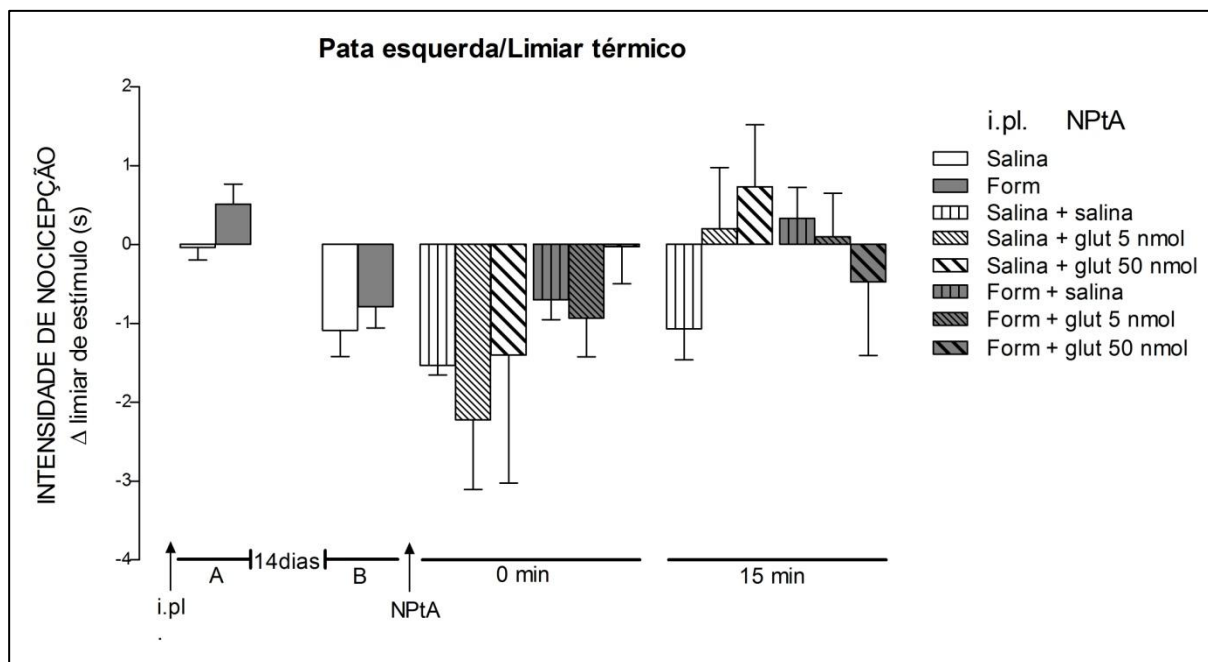


Figura 20. Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata esquerda antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (**A**). Catorze dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de glutamato ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na pata esquerda antes da injeção i.pl. na pata direita e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo.

4.1.3 Cauda (hiperalgesia secundária)

4.1.3.2. Limiar Mecânico

4.1.3.2.1. Imediatamente após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 21**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) não provocou mudanças significativas no limiar mecânico da cauda, comparado com os animais com injeção de salina (50 µl) na pata direita (grupo **salina i.pl.**). Da mesma forma, após a injeção de formalina ou salina na pata direita, a microinjeção de 5 nmol (250 nl, grupos **salina i.pl.+glut 5 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) ou 50 nmol de glutamato (250 nl, grupos **salina i.pl.+glut 50 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) não provocou mudanças significativas no limiar mecânico da cauda.

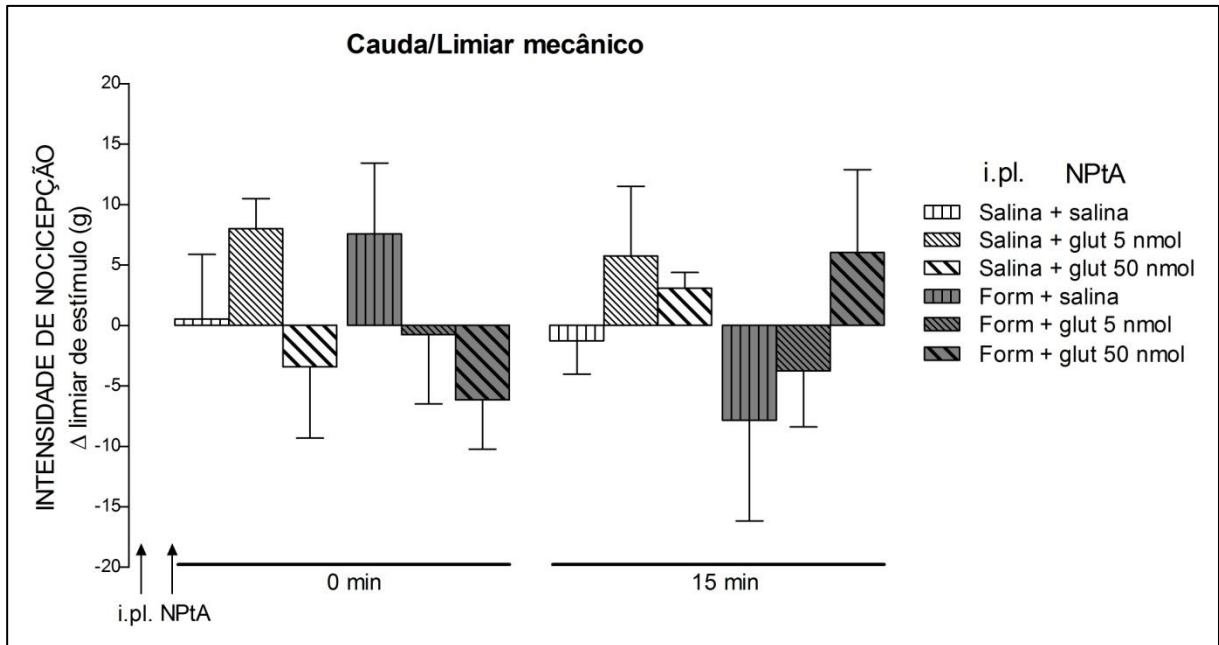


Figura 21. Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície dorsal da cauda, a 5 cm da extremidade, antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após a injeção i.pl. foi feita microinjeção de glutamato ou salina no NPtA esquerdo e os limiares da cauda foram aferidos novamente nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na cauda antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo.

4.1.3.2.2 2 horas após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 22**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) não provocou mudanças significativas no limiar mecânico da cauda, comparado com os animais com injeção de salina (50 µl) na pata direita (grupo **salina i.pl.**). Da mesma forma, 2 horas após a injeção de formalina ou salina na pata direita, a microinjeção de 5 nmol (250 nl, grupos **salina i.pl.+glut 5 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) ou 50 nmol de glutamato (250 nl, grupos **salina i.pl.+glut 50 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) não provocou mudanças significativas no limiar mecânico da cauda.

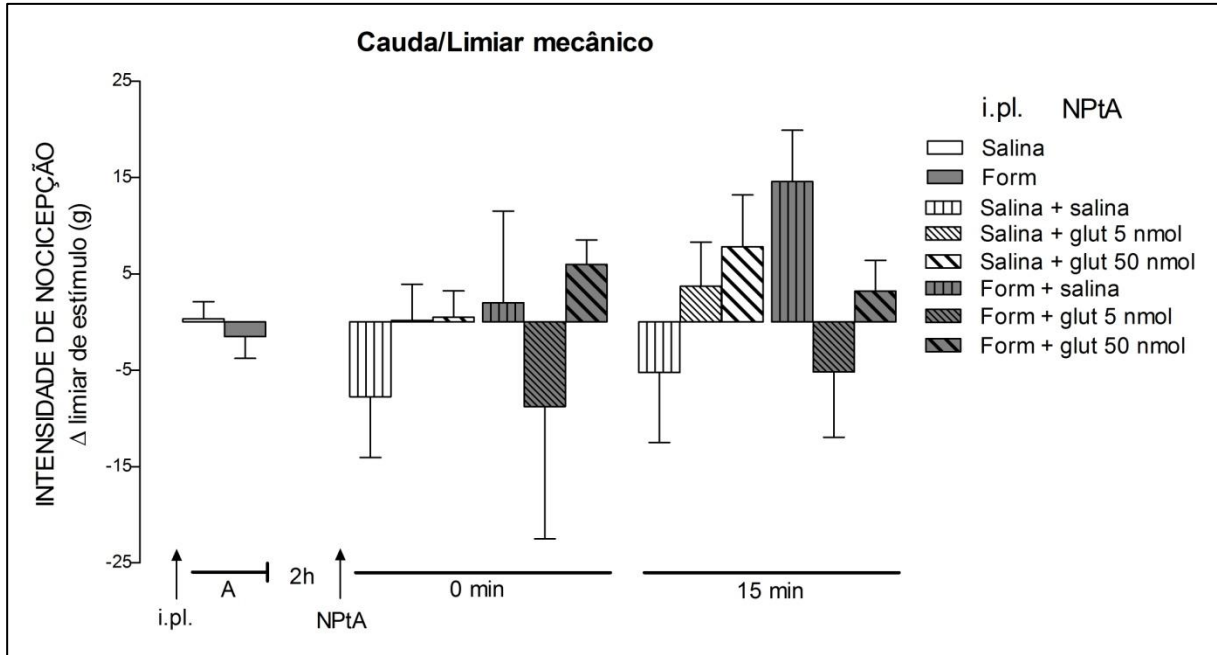


Figura 22. Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície dorsal da cauda, a 5 cm da extremidade, antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (**A**). 2 horas após a injeção i.pl. foi feita microinjeção de glutamato ou salina no NPtA esquerdo e os limiares da cauda foram aferidos novamente nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na cauda antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo.

4.1.3.2.3 1 dia após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 23**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) não provocou mudanças significativas no limiar mecânico da cauda, comparado com os animais com injeção de salina (50 µl) na pata direita (grupo **salina i.pl.**). Da mesma forma, 1 dia após a injeção de formalina ou salina na pata direita, a microinjeção de 5 nmol (250 nl, grupos **salina i.pl.+glut 5 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) ou 50 nmol de glutamato (250 nl, grupos **salina i.pl.+glut 50 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) não provocou mudanças significativas no limiar mecânico da cauda.

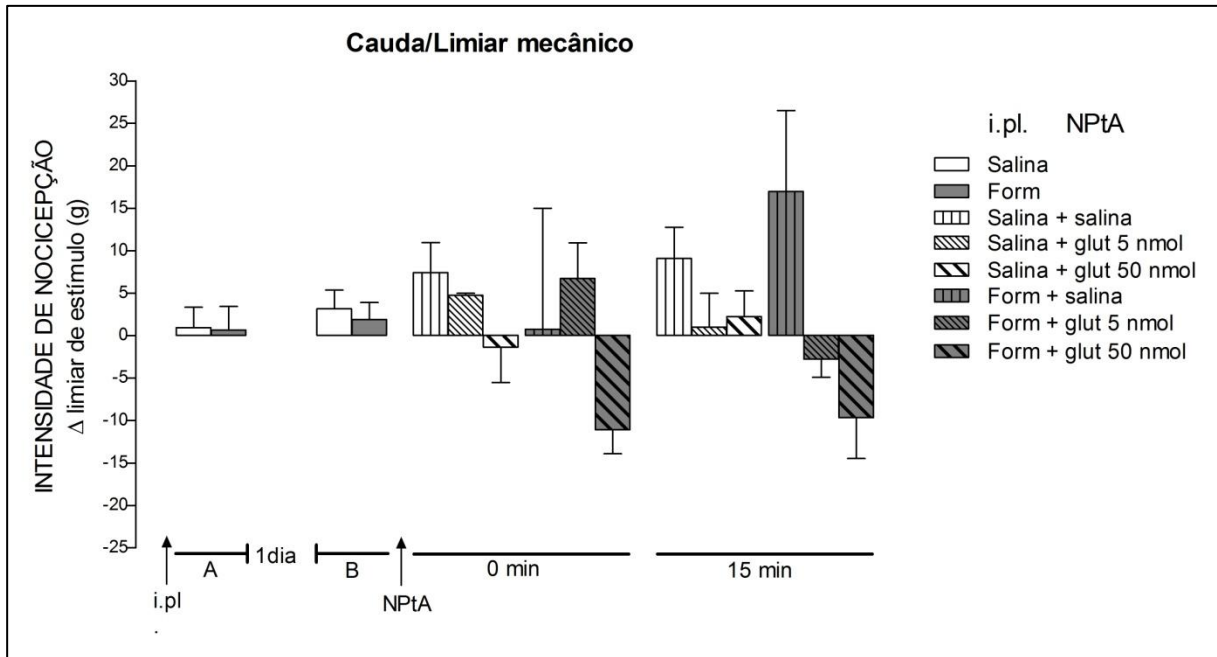


Figura 23. Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície dorsal da cauda, a 5 cm da extremidade, antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (**A**). Um dia após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de glutamato ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na cauda antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo.

4.1.3.2.4 7 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 24**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) não provocou mudanças significativas no limiar mecânico da cauda, comparado com os animais com injeção de salina (50 µl) na pata direita (grupo **salina i.pl.**). Da mesma forma, 7 dias após a injeção de formalina ou salina na pata direita, a microinjeção de 5 nmol (250 nl, grupos **salina i.pl.+glut 5 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) ou 50 nmol de glutamato (250 nl, grupos **salina i.pl.+glut 50 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) não provocou mudanças significativas no limiar mecânico da cauda.

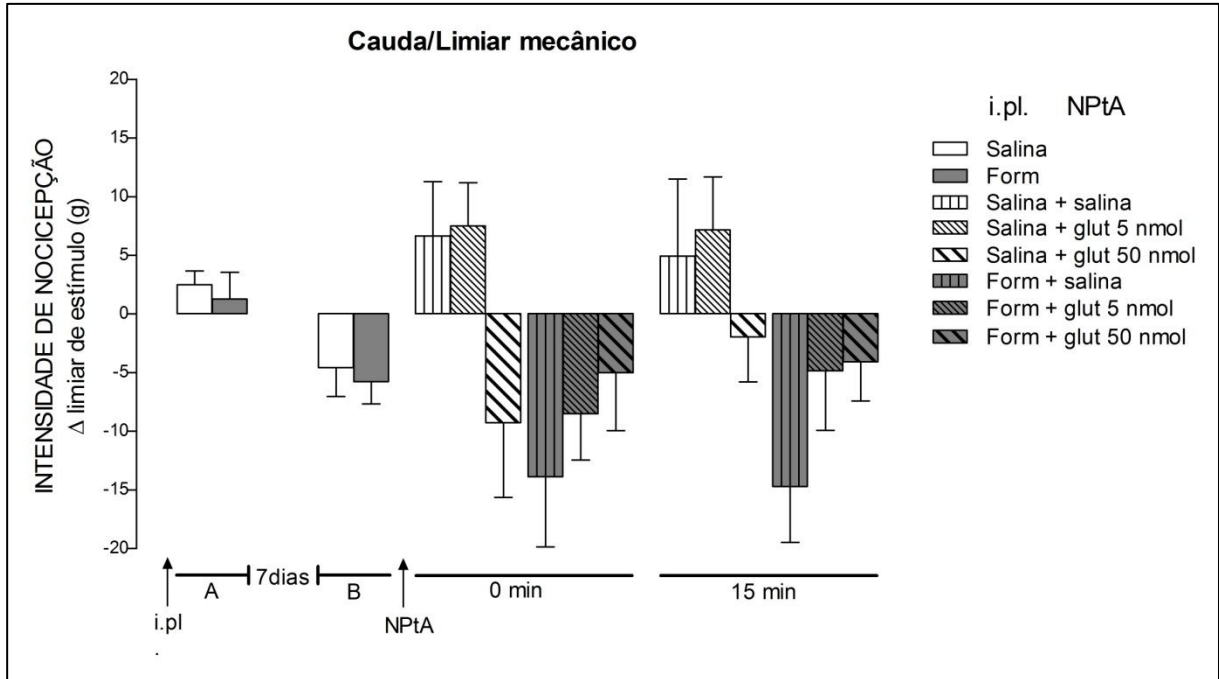


Figura 24. Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície dorsal da cauda, a 5 cm da extremidade, antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (**A**). Sete dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de glutamato ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na cauda antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo.

4.1.3.2.5 14 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 25**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) não provocou mudanças significativas no limiar mecânico da cauda, comparado com os animais com injeção de salina (50 µl) na pata direita (grupo **salina i.pl.**). Da mesma forma, 14 dias após a injeção de formalina ou salina na pata direita, a microinjeção de 5 nmol (250 nl, grupos **salina i.pl.+glut 5 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) ou 50 nmol de glutamato (250 nl, grupos **salina i.pl.+glut 50 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) não provocou mudanças significativas no limiar mecânico da cauda.

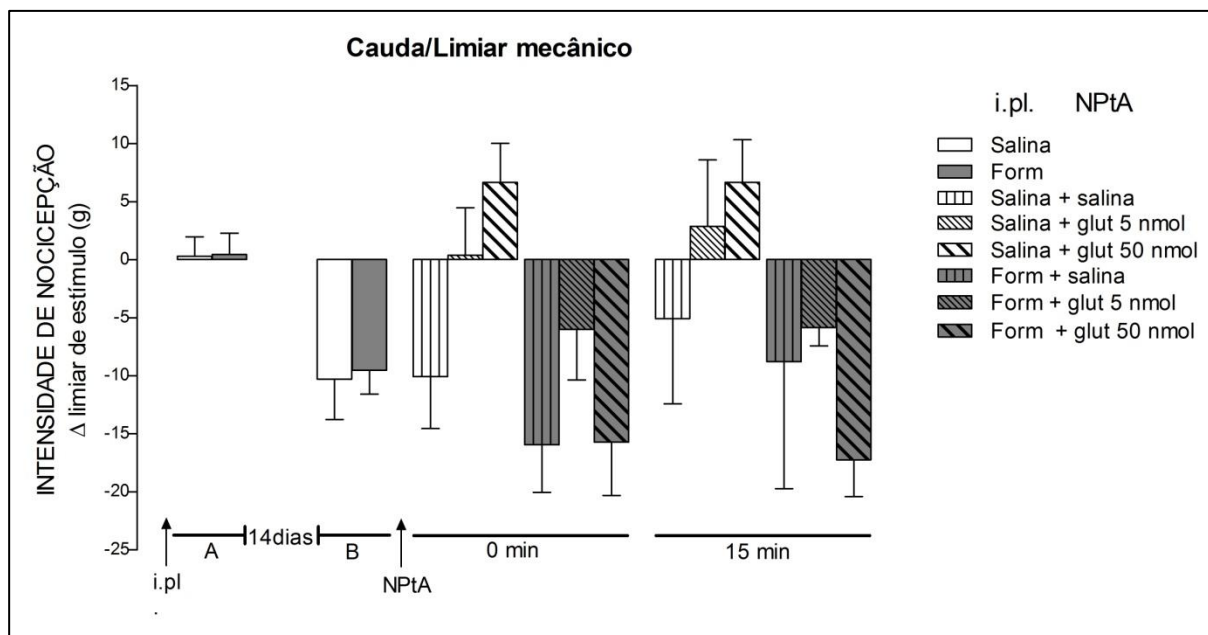


Figura 25. Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície dorsal da cauda, a 5 cm da extremidade, antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (**A**). 14 dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de glutamato ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na cauda antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo.

4.1.3 Cauda (hiperalgesia secundária)

4.1.3.3 Limiar térmico

4.1.3.3.1 Imediatamente após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 26**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita seguida pela microinjeção de 250 nl de salina no NPtA (grupo **form i.pl.+salina NPtA**) não provocou mudanças significativas no limiar térmico da cauda, comparado com os animais com injeção de salina na pata direita (50 µl) e microinjeção de salina no NPtA (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). Da mesma forma, após a injeção de formalina ou salina na pata direita, a microinjeção de 5 nmol (250 nl, grupos **salina i.pl.+glut 5 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) ou 50 nmol de glutamato (250 nl, grupos **salina i.pl.+glut 50 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) não provocou mudanças significativas no limiar térmico da cauda.

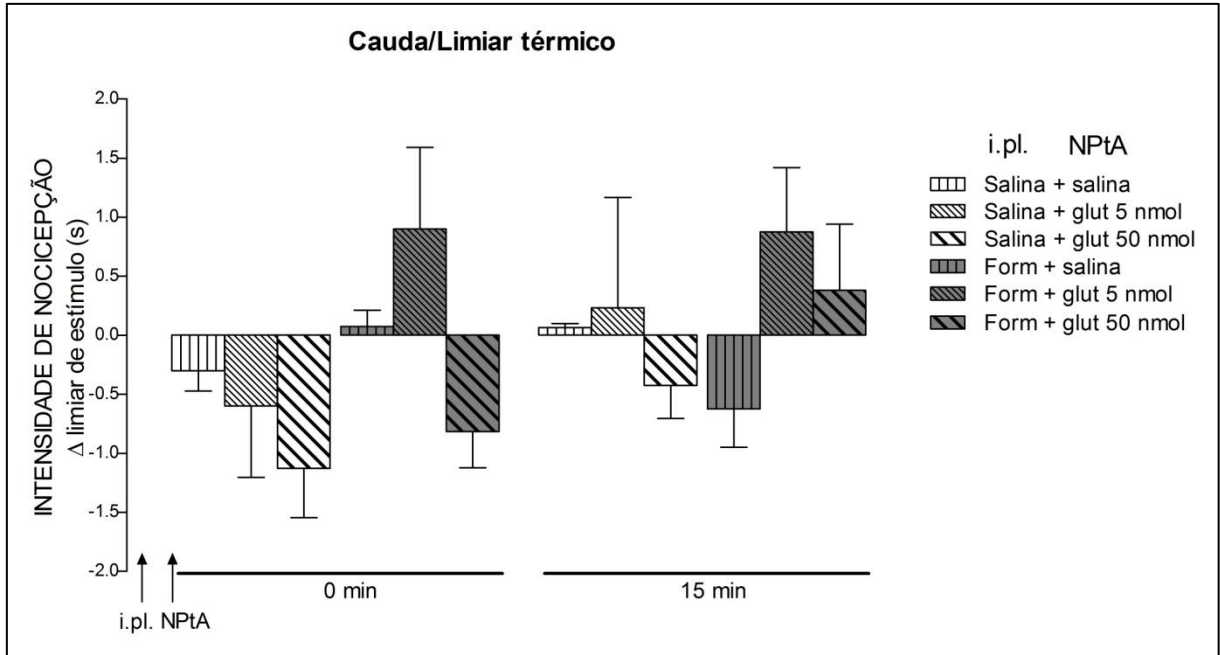


Figura 26. Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície ventral da cauda, entre 2 e 3 cm da extremidade, antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após a injeção i.pl. foi feita microinjeção de glutamato ou salina no NPtA esquerdo e os limiares da cauda foram aferidos novamente nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na cauda antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo.

4.1.3.3.2 2 horas após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 27**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) não provocou mudanças significativas no limiar térmico da cauda, comparado com os animais com injeção de salina (50 µl) na pata direita (grupo **salina i.pl.**). Da mesma forma, 2 horas após a injeção de formalina ou salina na pata direita, a microinjeção de 5 nmol (250 nl, grupos **salina i.pl.+glut 5 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) ou 50 nmol de glutamato (250 nl, grupos **salina i.pl.+glut 50 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) não provocou mudanças estatisticamente significativas no limiar térmico da cauda.

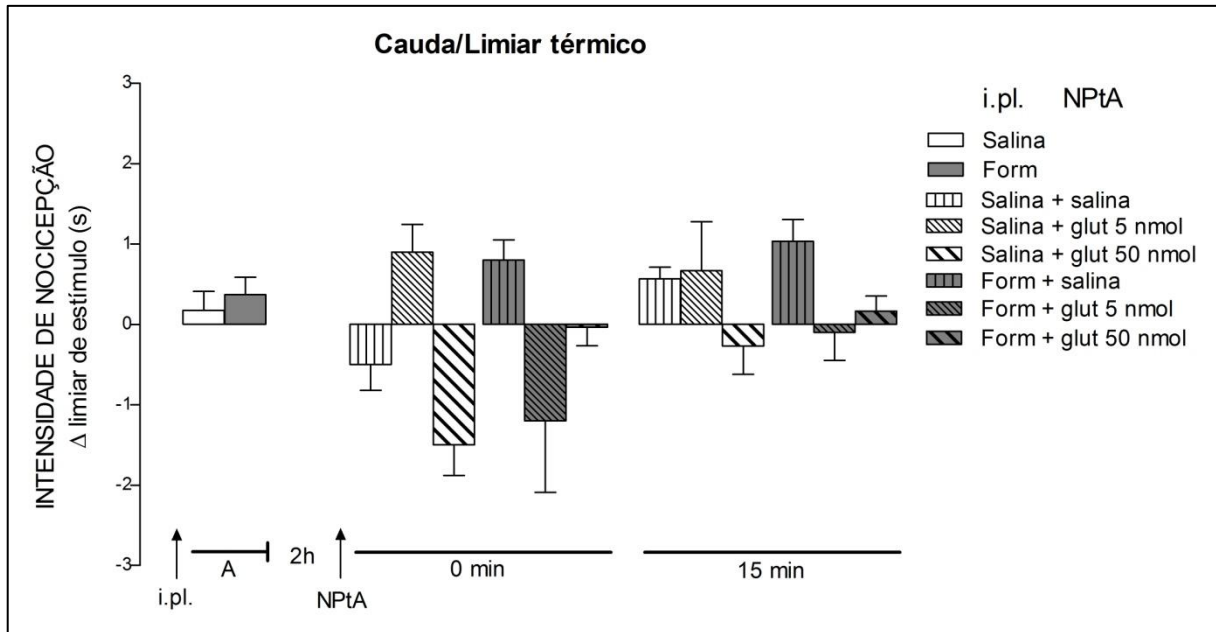


Figura 27. Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície ventral da cauda, entre 2 e 3 cm da extremidade, antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (**A**). 2 horas após a injeção i.pl. foi feita microinjeção de glutamato ou salina no NPtA esquerdo e os limiares da cauda foram aferidos novamente nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na cauda antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo.

4.1.3.3.3 1 dia após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 28**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) não provocou mudanças significativas no limiar térmico da cauda, comparado com os animais com injeção de salina (50 µl) na pata direita (grupo **salina i.pl.**). Da mesma forma, 1 dia após a injeção de salina na pata direita, a microinjeção de 5 nmol de glutamato (250 nl, grupo **salina i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) não provocou mudanças significativas no limiar térmico da cauda, enquanto que a microinjeção de glutamato (50 nmol/250 nl) aumentou estes limiares (grupo **salina i.pl.+glut 50 nmol NPtA**), comparado com os animais com injeção de salina na pata direita e microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA**). A microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) no NPtA 1 dia após a injeção de formalina na pata (grupos **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 50 nmol NPtA**) não provocou mudanças significativas no limiar térmico da cauda.

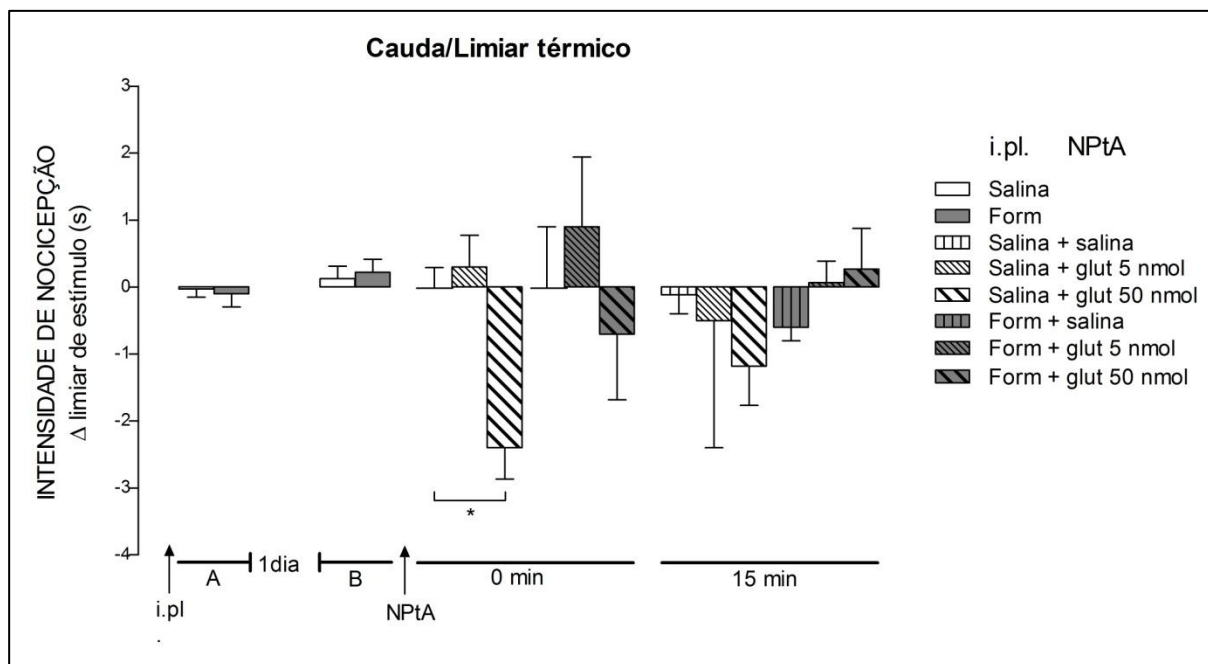


Figura 28. Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície ventral da cauda, entre 2 e 3 cm da extremidade, antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (**A**). Um dia após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de glutamato ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na cauda antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.1.3.3.4 7 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 29**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) não provocou mudanças significativas no limiar térmico da cauda, comparado com os animais com injeção de salina (50 µl) na pata direita (grupo **salina i.pl.**). Sete dias após a injeção de salina na pata direita, a microinjeção de 5 nmol de glutamato (250 nl, grupo **salina i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) diminuiu levemente o limiar térmico da cauda, enquanto que a microinjeção de glutamato (50 nmol/250 nl) aumentou estes limiares (grupo **salina i.pl.+glut 50 nmol NPtA**), comparado com os animais com injeção de salina na pata direita e microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA**). A microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) no NPtA 7 dias após a injeção de formalina na pata (grupos **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 50 nmol NPtA**) não provocou mudanças significativas no limiar térmico da cauda.

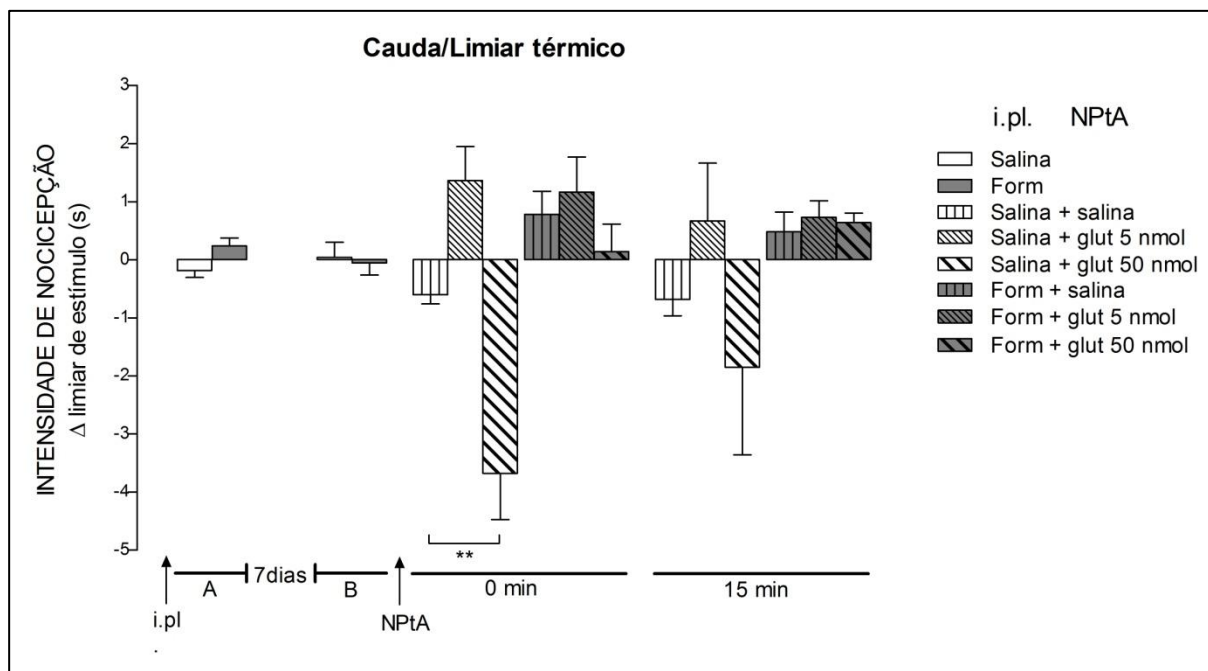


Figura 29. Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície ventral da cauda, entre 2 e 3 cm da extremidade, antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (**A**). Sete dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de glutamato ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na cauda antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. ** $P < 0,01$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.1.3.3.5 14 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 30**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) não provocou mudanças significativas no limiar térmico da cauda, comparado com os animais com injeção de salina (50 µl) na pata direita (grupo **salina i.pl.**). Da mesma forma, 14 dias após a injeção de formalina ou salina na pata direita, a microinjeção de 5 nmol (250 nl, grupos **salina i.pl.+glut 5 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) ou 50 nmol de glutamato (250 nl, grupos **salina i.pl.+glut 50 nmol NPtA** e **form i.pl.+glut 5 nmol NPtA**) não provocou mudanças significativas no limiar térmico da cauda.

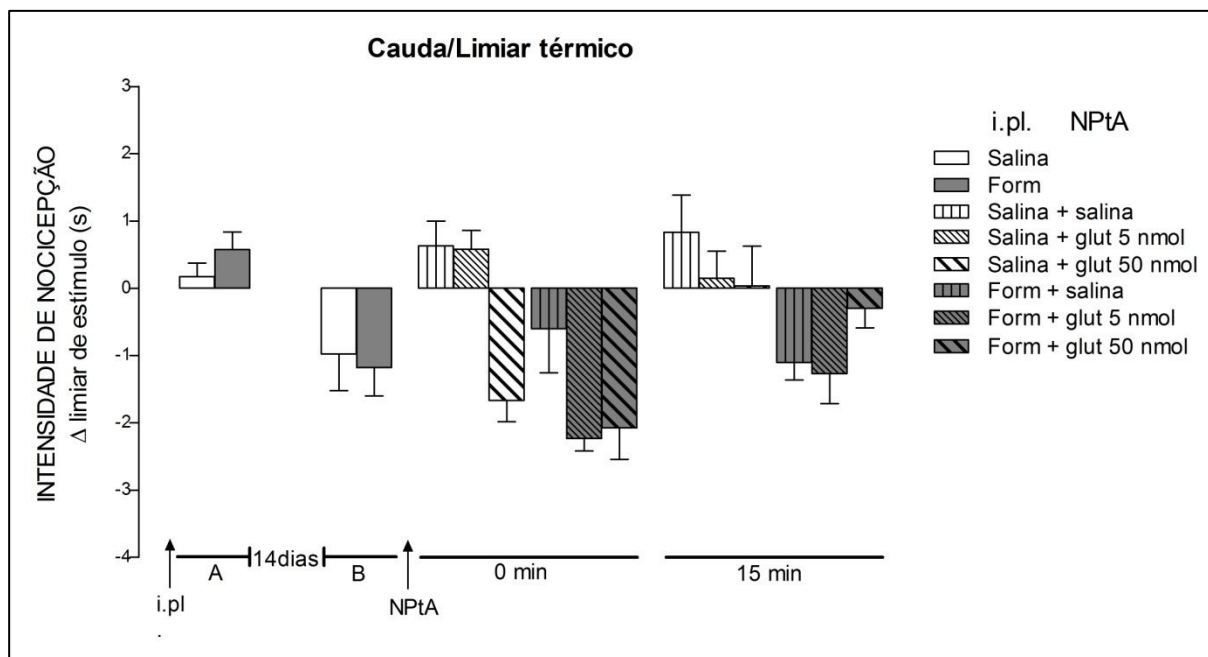


Figura 30. Efeitos da microinjeção de glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície ventral da cauda, entre 2 e 3 cm da extremidade, antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (A). 14 dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (B) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de glutamato ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na cauda antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo.

4.2 Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou salina (250 nl) no NPtA sobre a hiperalgesia mecânica e térmica, primária e secundária, imediatamente, 2 horas, 1 dia, 7 dias, ou 14 dias após a indução de inflamação pela injeção i.pl. de formalina 5%

4.2.1. Pata direita (hiperalgesia primária)

4.2.1.1. Limiar mecânico

4.2.1.1.1. Imediatamente após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 31**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita seguida pela microinjeção de salina (250 nl) no NPtA (grupo **form i.pl.+salina NPtA**) diminuiu de forma significativa o limiar mecânico desta pata, comparado com os animais com injeção de salina (50 µl) na pata direita e microinjeção de salina no NPtA (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). A microinjeção de DAMGO (156 pmol/250 nl) no NPtA aumentou levemente o limiar mecânico da pata direita nos animais com injeção i.pl. de salina (grupos **salina i.pl.+ DAMGO 156 pmol NPtA x salina i.pl.+salina NPtA**) e de forma significativa naqueles animais com injeção i.pl. de formalina (grupos **form i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA x form i.pl.+salina NPtA**). Já a microinjeção de DAMGO (311 pmol/250 nl) no NPtA, aumentou estes limiares tanto nos animais com injeção i.pl. de salina (grupos **salina i.pl.+ DAMGO 156 pmol NPtA x salina i.pl.+salina NPtA**) quanto naqueles com injeção i.pl. de formalina (grupos **form i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA x form i.pl.+salina NPtA**).

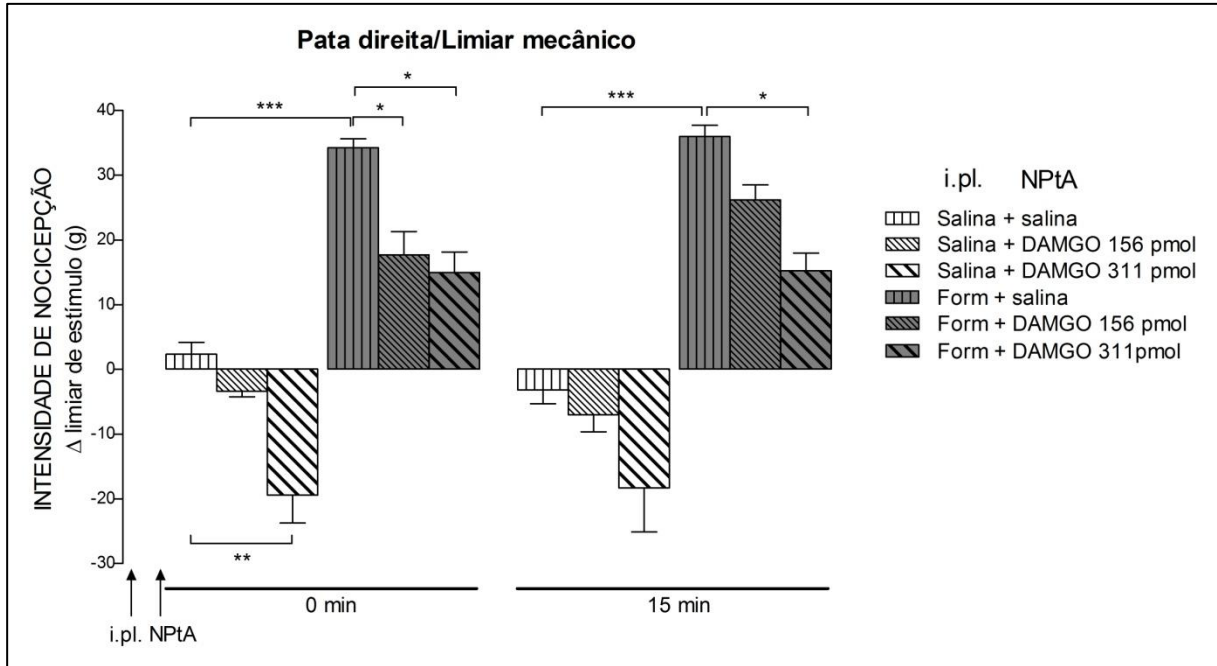


Figura 31. Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica primária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata direita antes da injeção intraplantar (i.pl.). Após a injeção de formalina ou salina (50 μ l) na superfície dorsal da pata direita, foi feita microinjeção de DAMGO ou de salina no NPtA esquerdo e novas medidas do limiar para estímulos mecânicos foram aferidas nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata direita antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.2.1.1.2 2 horas após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 32**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) causou drástica e imediata diminuição no limiar mecânico desta pata comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.**), que se prolongou até 2 horas após a injeção i.pl. (grupo **salina i.pl.+salina NPtA x form i.pl.+salina NPtA**). 2 horas após as injeções intraplantares de salina, a microinjeção de DAMGO (156 pmol/250 nl) no NPtA esquerdo (grupo **salina i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA**) não alterou o limiar mecânico da pata direita, enquanto que a microinjeção de DAMGO (311 pmol/250 nl) no NPtA (grupo **salina i.pl.+ DAMGO 311 pmol NPtA**) aumentou estes limiares especialmente 15 minutos após a microinjeção, comparado com animais controle (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). Animais que haviam recebido injeção i.pl. de formalina e, 2 horas após, receberam a microinjeção de 156 pmol (grupo **form i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA**) ou 311 pmol de DAMGO no NPtA (grupo **form i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA**) apresentaram aumento do limiar mecânico da pata direita, quando comparado com os animais com injeção i.pl. de formalina e microinjeção de salina no NPtA (grupo **form i.pl.+salina NPtA**).

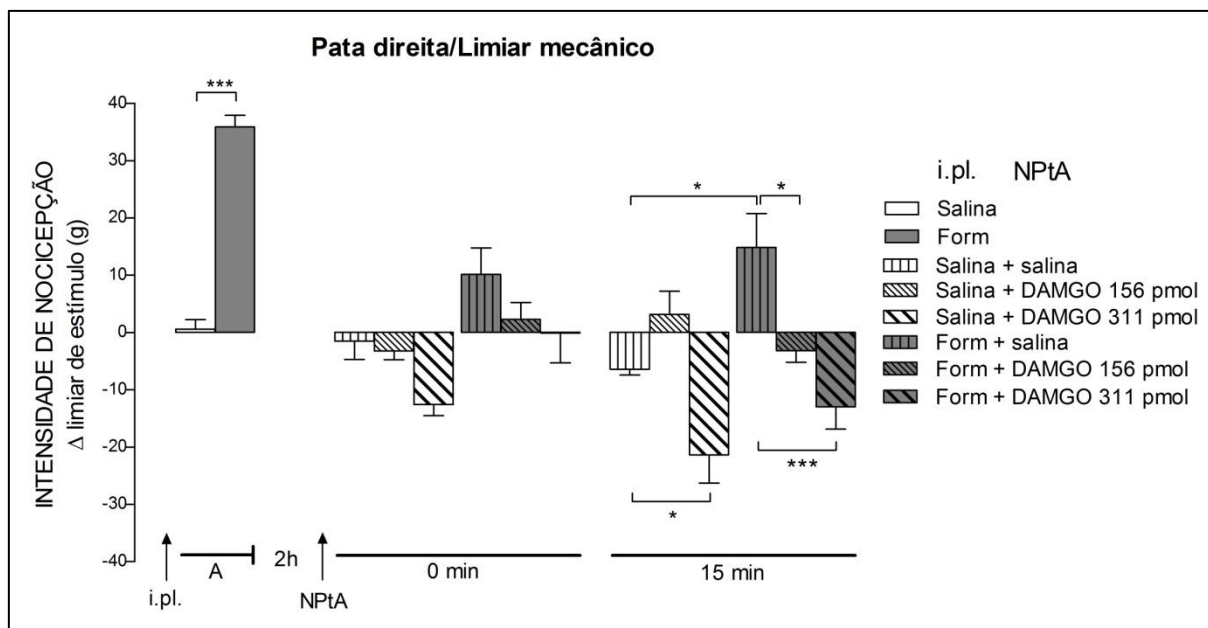


Figura 32. Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica primária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata direita antes da injeção intraplantar (i.pl.). Após a injeção de formalina ou salina (50 μ l) na superfície dorsal da pata direita, foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (A). Duas horas após a injeção i.pl., DAMGO ou salina foram microinjetados no NPtA esquerdo e novos limiares foram aferidos nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata direita antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.2.1.1.3 1 dia após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 33**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) causou drástica e imediata diminuição no limiar mecânico desta pata comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (50 µl, grupo **salina i.pl.**), que se prolongou até 1 dia após a injeção i.pl. (grupo **salina i.pl.+salina NPtA x form i.pl.+salina NPtA**). 1 dia após as injeções intraplantares de salina ou de formalina, a microinjeção de 156 pmol ou 311 pmol de DAMGO no NPtA esquerdo (250 nl, grupos **salina i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA**, **salina i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA**, **form i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA** e **form i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA**) aumentou de forma significativa o limiar mecânico da pata direita.

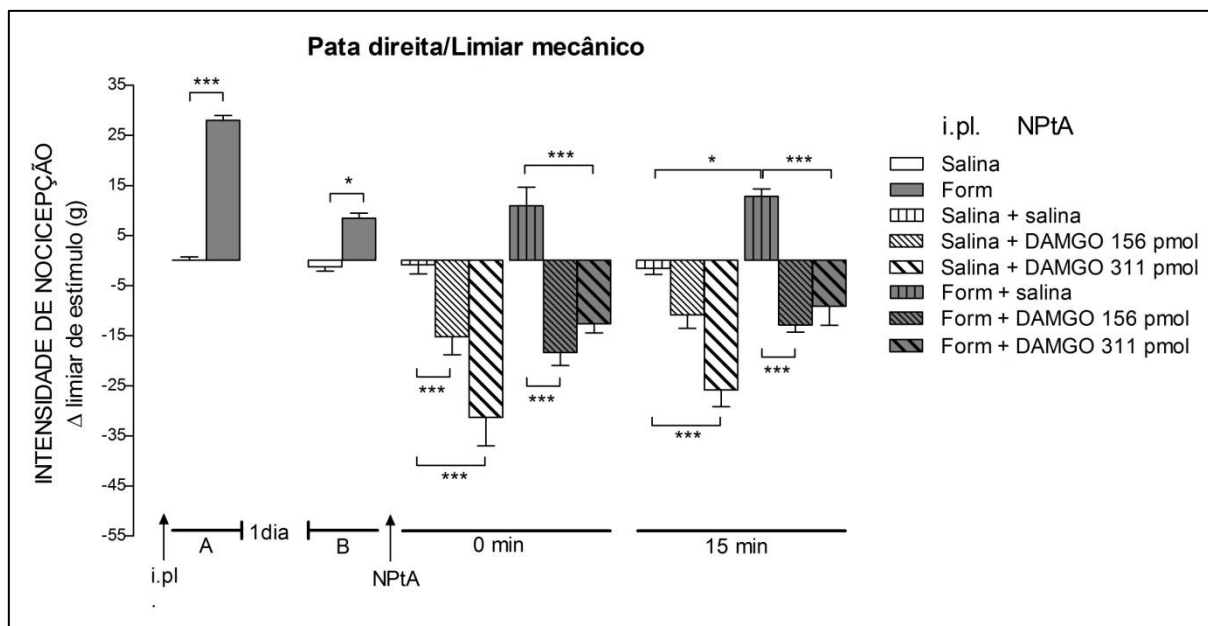


Figura 33. Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica primária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata direita antes da injeção intraplantar (i.pl.). Após a injeção de formalina ou salina (50 μ l) na superfície dorsal da pata direita, foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (A). Um dia após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (B) e nos tempos 0 min e 15 min após a microinjeção de DAMGO ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata direita antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.2.1.1.4 7 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 34**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) causou drástica e imediata diminuição no limiar mecânico desta pata comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (50 µl, grupo **salina i.pl.**), que se prolongou até o 7º dia após a injeção i.pl. Sete dias após a injeção intraplantar de formalina, a microinjeção de 156 pmol (grupo **form i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA**) e principalmente 311 pmol de DAMGO (**form i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA**) no NPtA aumentou o limiar mecânico da pata direita, comparado com os animais com injeção i.pl. de formalina e microinjeção de salina no NPtA (grupo **form i.pl.+salina NPtA**). Nos animais com salina i.pl. somente a dose de 311 pmol de DAMGO foi capaz de aumentar estes limiares (grupo **salina i.pl.+ DAMGO 311 pmol NPtA**), comparado com os animais que receberam injeção de salina na pata e microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA**).

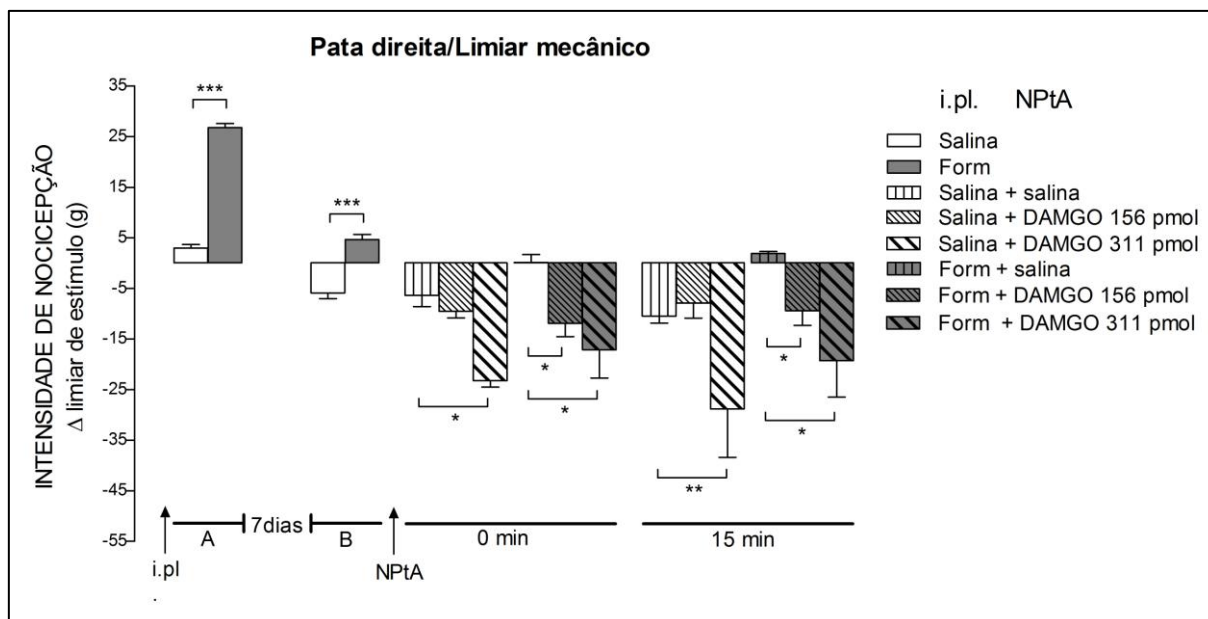


Figura 34. Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica primária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata direita antes da injeção intraplantar (i.pl.). Após a injeção de formalina ou salina (50 μ l) na superfície dorsal da pata direita, foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (**A**). Sete dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de DAMGO ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata direita antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.2.1.1.5 14 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 35**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) causou drástica e imediata diminuição no limiar mecânico desta pata comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (50 µl, grupo **salina i.pl.**), que não se prolongou até o 14º dia após a injeção i.pl. Catorze dias após a injeção intraplantar de salina ou de formalina, a microinjeção de DAMGO (156 pmol/250 nl) no NPtA não provocou mudanças significativas no limiar mecânico da pata direita comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA e injeção de salina na pata ou microinjeção de salina no NPtA e injeção de formalina na pata, respectivamente (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+ DAMGO 156 pmol NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA**). Já a microinjeção de DAMGO (311 pmol/250 nl) no NPtA aumentou de forma significativa o limiar mecânico da pata direita, tanto nos animais que haviam recebido injeção de salina quanto formalina na pata direita 14 dias antes (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+ DAMGO 311 pmol NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA**).

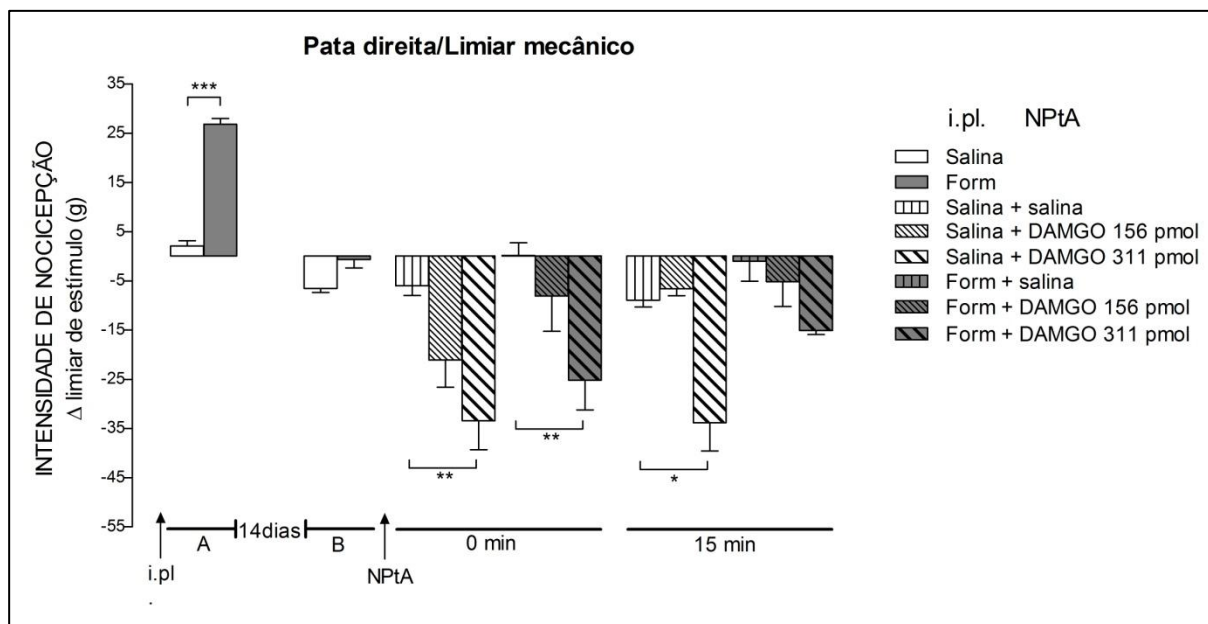


Figura 35. Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica primária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata direita antes da injeção intraplantar (i.pl.). Após a injeção de formalina ou salina (50 μ l) na superfície dorsal da pata direita, foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (A). 14 dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (B) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de DAMGO ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata direita antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.2.1.2 Limiar térmico

4.2.1.2.1 Imediatamente após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 36**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita seguida pela microinjeção de 250 nl de salina no NPtA (grupo **formalina i.pl.+salina NPtA**) diminuiu de forma significativa o limiar térmico desta pata comparado com os animais com injeção de salina na pata e microinjeção de salina no NPtA (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). A microinjeção de DAMGO (156 pmol/250 nl) no NPtA não alterou o limiar térmico da pata direita nos animais com salina i.pl. (grupo **salina i.pl.+ DAMGO 156 pmol NPtA**) comparado com os animais com injeção i.pl. de salina e microinjeção de salina no NPtA (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**), e aumentou de forma significativa estes limiares naqueles animais com injeção i.pl. de formalina (grupo **form i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA**) comparado com os animais com injeção de formalina na pata e microinjeção de salina no NPtA (grupo **formalina i.pl.+salina NPtA**). Já a dose de 311 pmol de DAMGO aumentou o limiar térmico da pata direita tanto nos animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.+ DAMGO 311 pmol NPtA**) quanto naqueles com formalina (**form i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA**), quando comparado com os animais que receberam microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** e **formalina i.pl.+salina NPtA**).

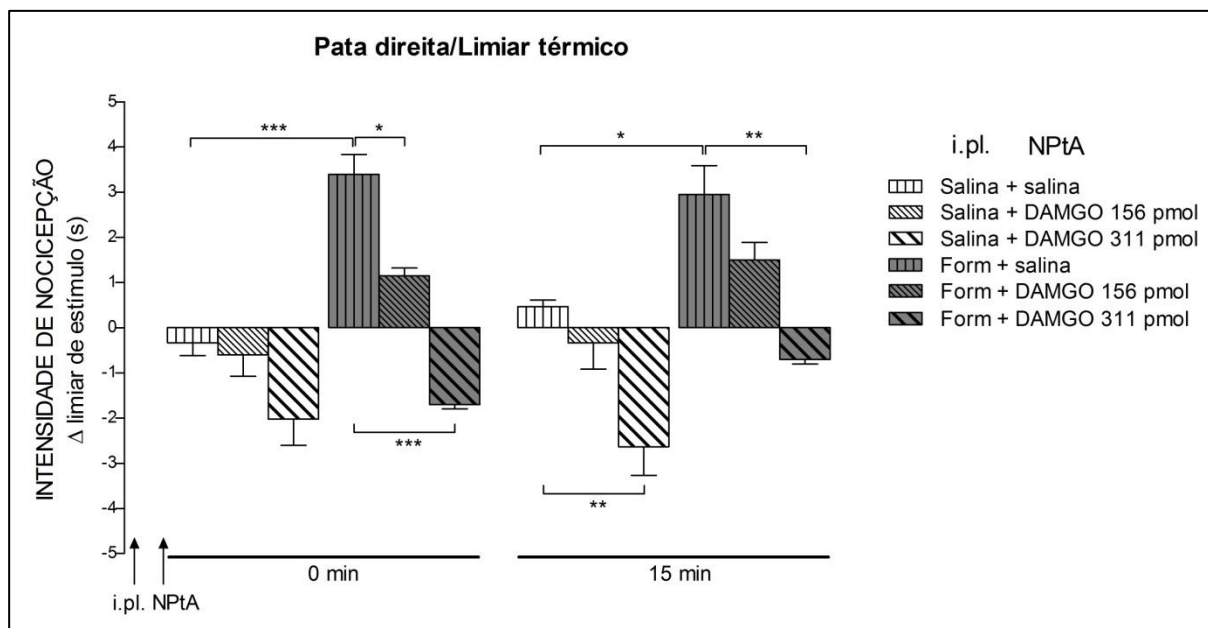


Figura 36. Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica primária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata direita antes da injeção intraplantar (i.pl.). Após a injeção de formalina ou salina (50 μ l) na superfície dorsal da pata direita, foi feita microinjeção de DAMGO ou de salina no NPtA esquerdo e novas medidas do limiar para estímulos mecânicos foram aferidas nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata direita antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.2.1.2.2 2 horas após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 37**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) causou drástica e imediata diminuição no limiar térmico desta pata comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (50 µl, grupo **salina i.pl.**), que se prolongou até 2 horas após a injeção i.pl. (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+salina NPtA**). 2 horas após a injeção intraplantar de salina ou de formalina, a microinjeção de DAMGO (156 pmol/250 nl) no NPtA aumentou discretamente o limiar térmico da pata direita comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA e injeção de salina na pata ou microinjeção de salina no NPtA e injeção de formalina na pata, respectivamente (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+ DAMGO 156 pmol NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA**). Já a microinjeção de DAMGO (311 pmol/250 nl) no NPtA aumentou de forma significativa o limiar térmico da pata direita, tanto nos animais que haviam recebido injeção de salina quanto formalina na pata direita 2 horas antes (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+ DAMGO 311 pmol NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA**).

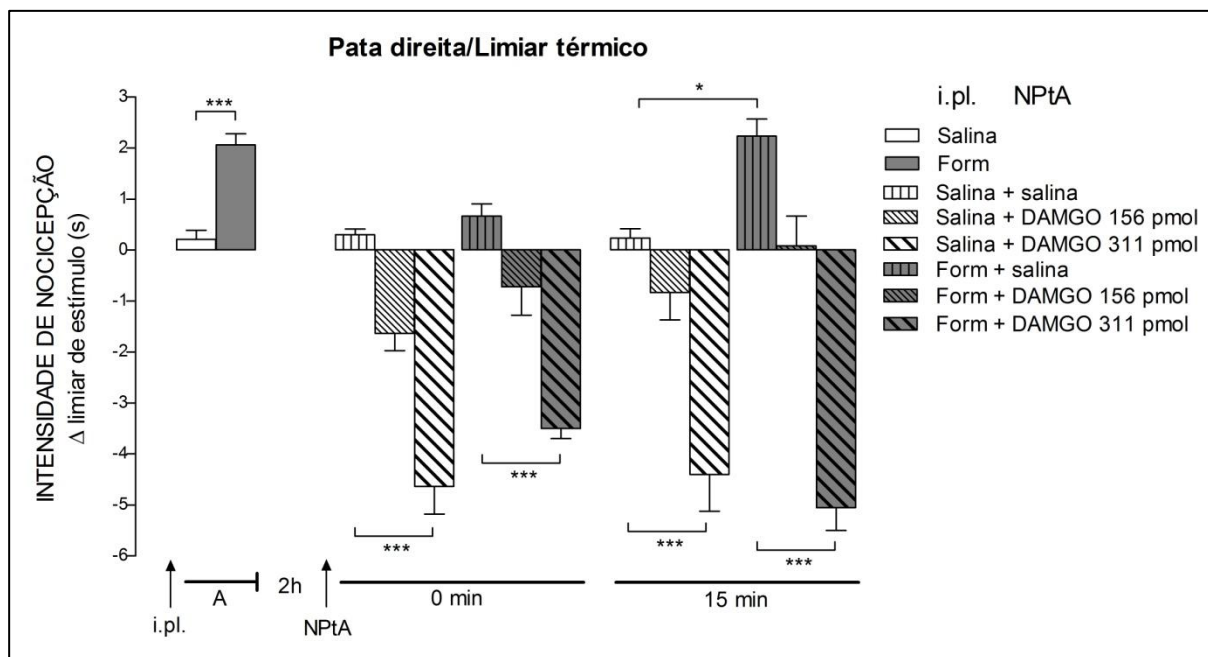


Figura 37. Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica primária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata direita antes da injeção intraplantar (i.pl.). Após a injeção de formalina ou salina (50 μ l) na superfície dorsal da pata direita, foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (**A**). Duas horas após a injeção i.pl., DAMGO ou salina foram microinjetados no NPtA esquerdo e novos limiares foram aferidos nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata direita antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.2.1.2.3 1 dia após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 38**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) causou drástica e imediata diminuição no limiar térmico desta pata comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (50 µl, grupo **salina i.pl.**), que não se prolongou até 1 dia após a injeção i.pl. Um dia após a injeção intraplantar de formalina ou de salina, a microinjeção de 156 pmol ou 311 pmol de DAMGO no NPtA aumentou significativamente o limiar térmico da pata direita (grupos **form i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA**, **form i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA**, **salina i.pl.+ DAMGO 156 pmol NPtA** e **salina i.pl.+ DAMGO 311 pmol NPtA**), quando comparado com os animais que receberam microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA**).

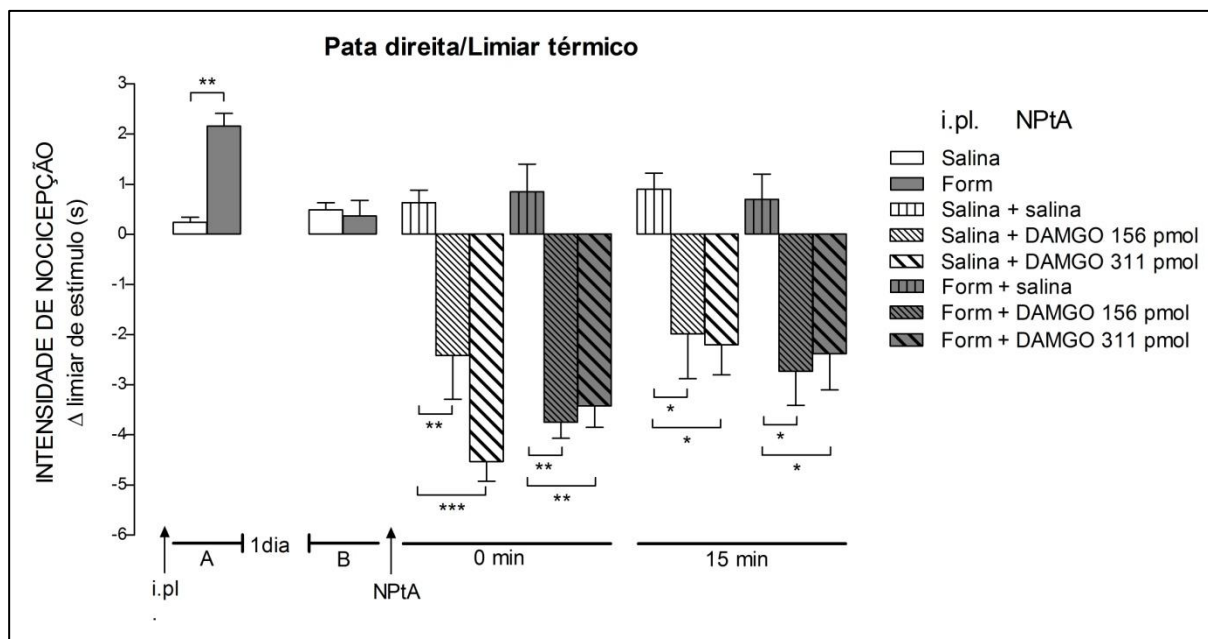


Figura 38. Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica primária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata direita antes da injeção intraplantar (i.pl.). Após a injeção de formalina ou salina (50 μ l) na superfície dorsal da pata direita, foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (**A**). Um dia após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de DAMGO ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na pata direita antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.2.1.2.4 7 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 39**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) causou drástica e imediata diminuição no limiar térmico desta pata comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (50 µl, grupo **salina i.pl.**), que não se prolongou até o 7º dia após a injeção i.pl. Sete dias após a injeção intraplantar de formalina ou de salina, a microinjeção de 156 pmol ou 311 pmol de DAMGO no NPtA aumentou significativamente o limiar térmico da pata direita (grupos **form i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA**, **form i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA**, **salina i.pl.+ DAMGO 156 pmol NPtA** e **salina i.pl.+ DAMGO 311 pmol NPtA**), quando comparado com os animais que receberam microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA**).

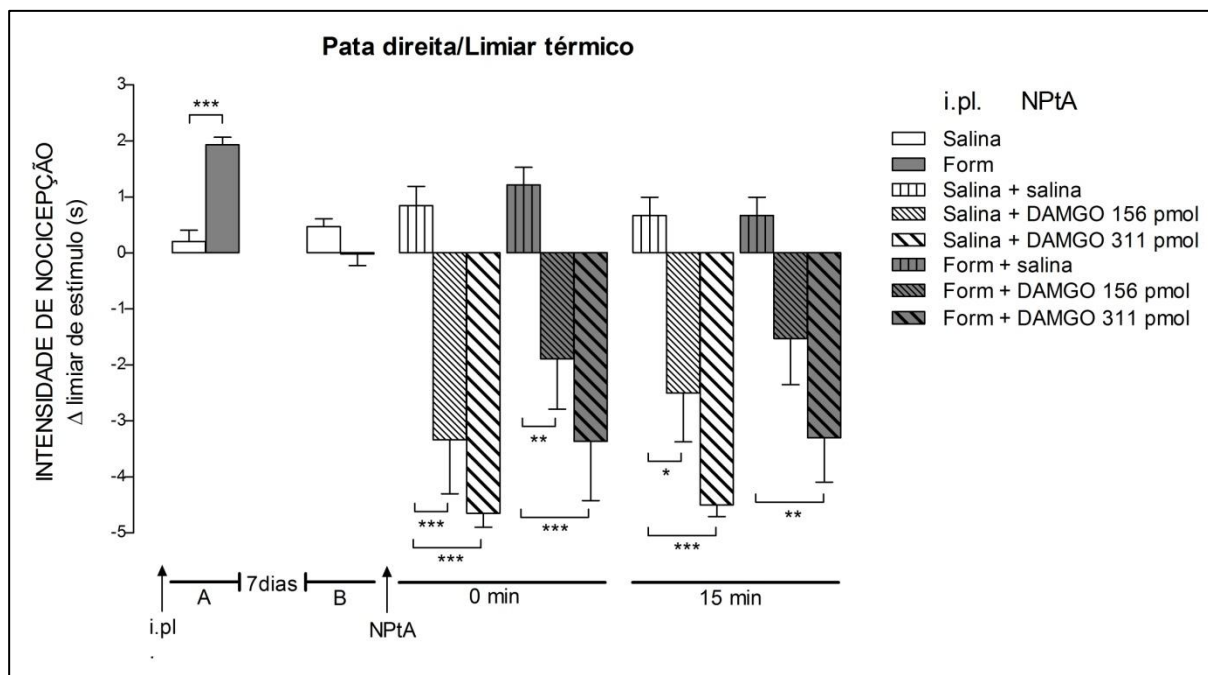


Figura 39. Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica primária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata direita antes da injeção intraplantar (i.pl.). Após a injeção de formalina ou salina (50 μ l) na superfície dorsal da pata direita, foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (A). Sete dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (B) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de DAMGO ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na pata direita antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.2.1.2.5 14 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 40**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) causou drástica e imediata diminuição no limiar térmico desta pata comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (50 µl, grupo **salina i.pl.**), que não se prolongou até o 14º dia após a injeção i.pl. Catorze dias após a injeção intraplantar de salina, a microinjeção de 156 pmol (**salina i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA**) ou 311 pmol de DAMGO no NPtA (**salina i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA**) aumentou significativamente o limiar térmico da pata direita, quando comparado com os animais que receberam microinjeção de salina no NPtA (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). Por outro lado, a microinjeção de 156 pmol ou 311 pmol de DAMGO no NPtA 14 dias após a injeção de formalina na pata direita não alterou significativamente estes limiares (grupos **form i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA** e **form i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA**, respectivamente).

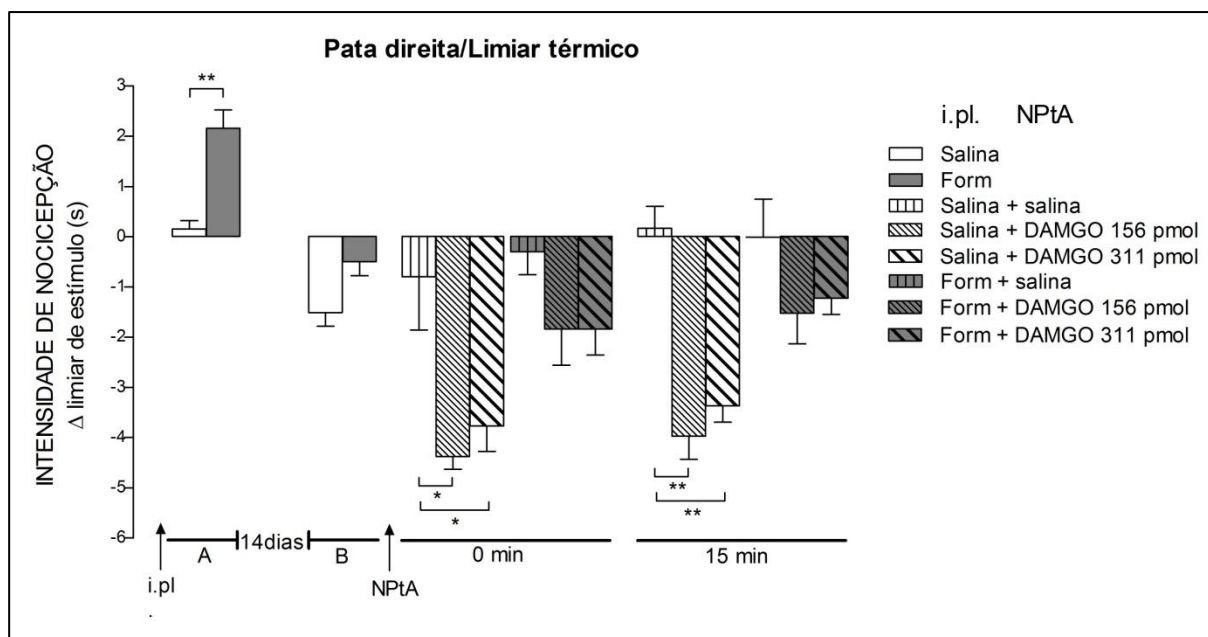


Figura 40. Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica primária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata direita antes da injeção intraplantar (i.pl.). Após a injeção de formalina ou salina (50 μ l) na superfície dorsal da pata direita, foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (A). 14 dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (B) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de DAMGO ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na pata direita antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.2.2 Pata esquerda (hiperalgesia Secundária)

4.2.2.1 Limiar mecânico

4.2.2.1.1 Imediatamente após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 41**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita seguida pela microinjeção de 250 nl de salina no NPtA esquerdo (grupo **formalina i.pl.+salina NPtA**) diminuiu de forma significativa o limiar mecânico da pata esquerda comparado com os animais com injeção de salina na pata e microinjeção de salina no NPtA (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). A microinjeção de DAMGO (156 pmol/250 nl) no NPtA diminuiu de forma não significativa o limiar mecânico da pata esquerda nos animais com injeção i.pl. de salina ou formalina, comparado com os animais que receberam microinjeção de salina no NPtA (grupo **salina i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA x salina i.pl.+salina NPtA e form i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA x form i.pl.+salina NPtA**). Já a dose de 311 pmol de DAMGO aumentou de forma significativa estes limiares tanto nos animais com injeção i.pl. de salina quanto naqueles com formalina, quando comparado com os animais que receberam microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+ DAMGO 311 pmol NPtA x salina i.pl.+salina NPtA e form i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA x formalina i.pl.+salina NPtA**).

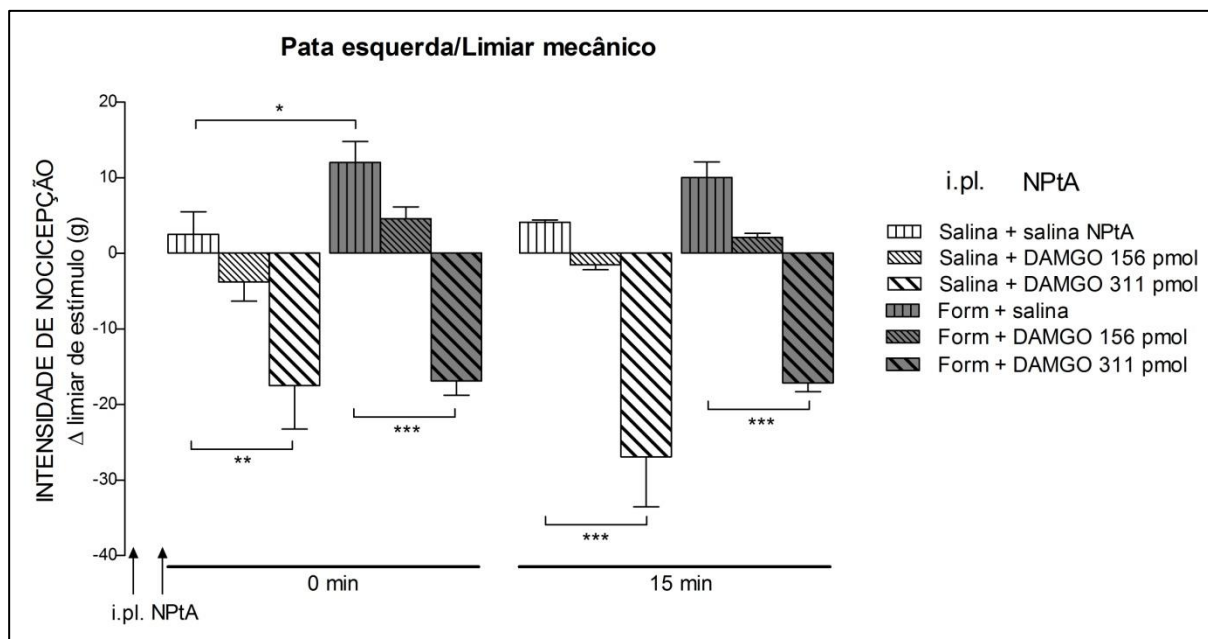


Figura 41. Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata esquerda antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após a injeção i.pl. foi feita microinjeção de DAMGO ou salina no NPtA esquerdo e os limiares da pata esquerda foram aferidos novamente nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata esquerda antes da injeção i.pl. na pata direita e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.2.2.1.2 2 horas após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 42**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) causou imediata diminuição no limiar mecânico da pata esquerda comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (50 µl, grupo **salina i.pl.**), que se prolongou até 2 horas após a injeção i.pl. (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+salina NPtA**). 2 horas após a injeção intraplantar de salina ou de formalina, a microinjeção de DAMGO (156 pmol/250 nl) no NPtA aumentou discretamente o limiar mecânico da pata esquerda comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+ DAMGO 156 pmol NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA**). Já a microinjeção de DAMGO (311 pmol/250 nl) no NPtA aumentou de forma significativa estes limiares, tanto nos animais que haviam recebido injeção de salina quanto formalina na pata direita 2 horas antes (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+ DAMGO 311 pmol NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA**).

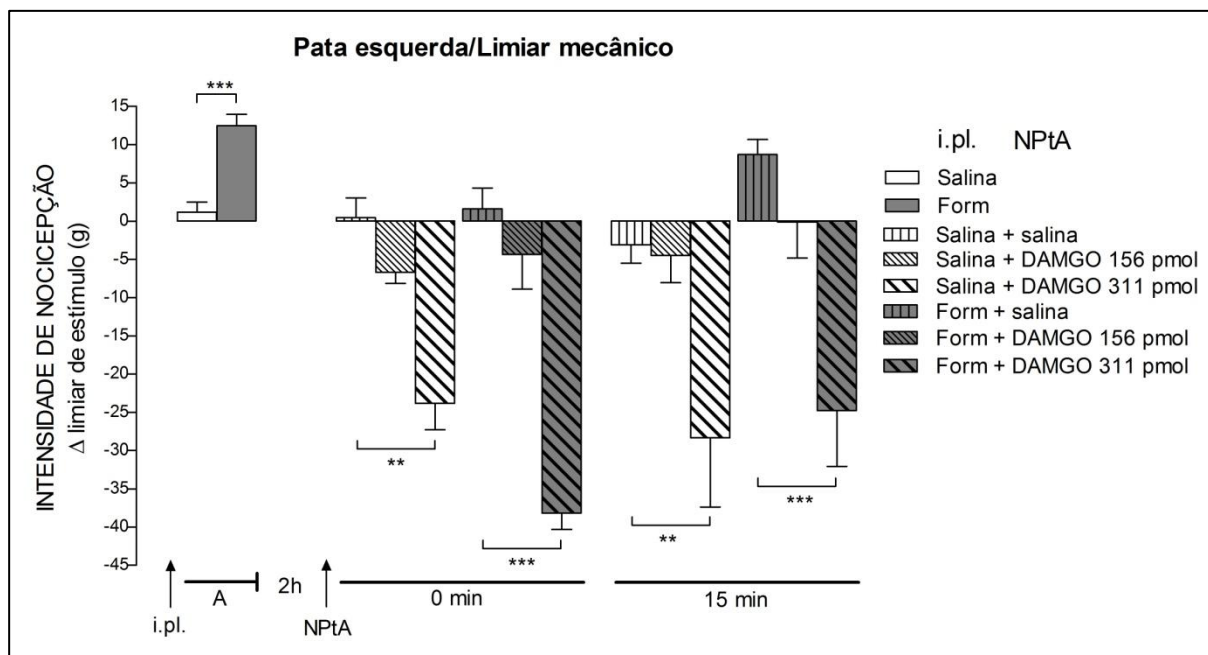


Figura 42. Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata esquerda antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (**A**). 2 horas após a injeção i.pl. foi feita microinjeção de DAMGO ou salina no NPtA esquerdo e os limiares da pata esquerda foram aferidos novamente nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata esquerda antes da injeção i.pl. na pata direita e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.2.2.1.3 1 dia após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 43**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) causou imediata diminuição no limiar mecânico da pata esquerda comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (50 µl, grupo **salina i.pl.**), que se prolongou até 1 dia após a injeção i.pl. (grupo **salina i.pl.+salina NPtA x form i.pl.+salina NPtA**). 1 dia após as injeções intraplantares de salina ou de formalina, a microinjeção de 156 pmol ou 311 pmol de DAMGO no NPtA esquerdo (250 nl, grupos **salina i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA**, **salina i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA**, **form i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA** e **form i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA**) aumentou de forma significativa o limiar mecânico da pata esquerda, comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA**).

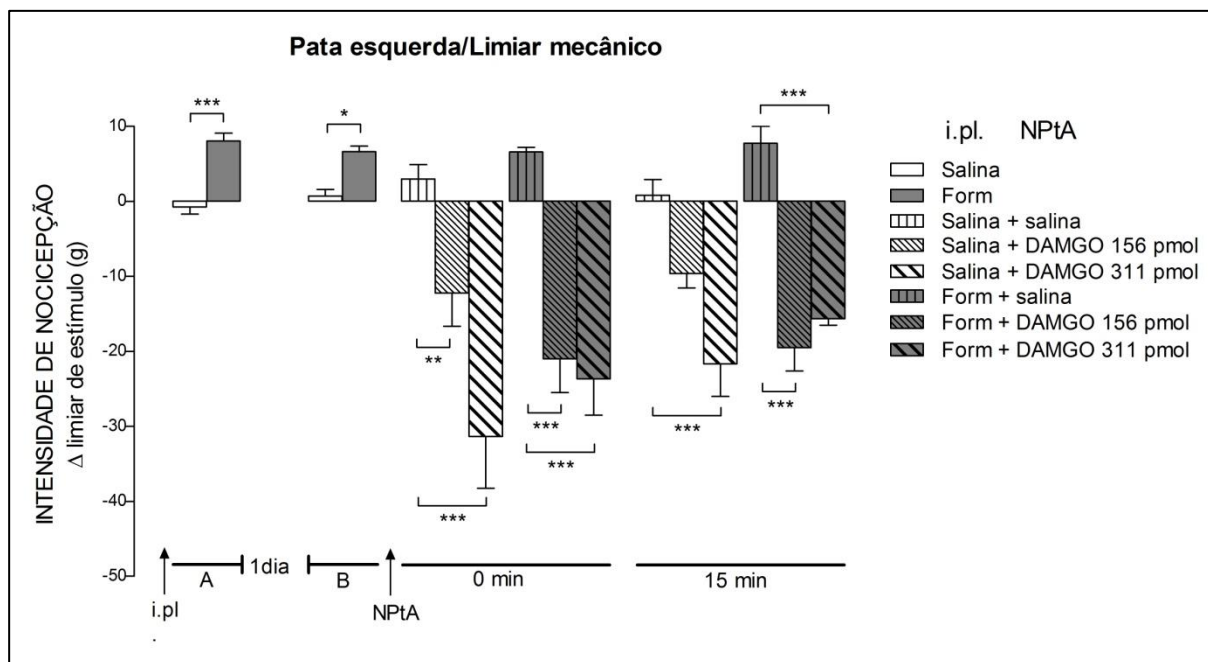


Figura 43. Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata esquerda antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (**A**). Um dia após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de DAMGO ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata esquerda antes da injeção i.pl. na pata direita e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.2.2.1.4 7 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 44**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) causou imediata diminuição no limiar mecânico da pata esquerda comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (50 µl, grupo **salina i.pl.**), que não se prolongou até o 7º dia após a injeção i.p. Sete dias após a injeção de salina na pata direita, a microinjeção de DAMGO (156 pmol/250 nl) não teve efeitos significativos sobre o limiar mecânico da pata esquerda (grupo **salina i.pl.+ DAMGO 156 pmol NPtA**), enquanto que a dose de 311 pmol de DAMGO aumentou estes limiares especialmente no tempo 0 após a microinjeção (grupo **salina i.pl.+ DAMGO 311 pmol NPtA**), comparado com os animais que receberam injeção de salina na pata direita e microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA**). Naqueles animais que receberam injeção i.pl. de formalina 7 dias antes, a microinjeção de 156 pmol e principalmente de DAMGO (311 pmol/250 nl) no NPtA aumentou significativamente o limiar mecânico da pata esquerda (grupos **form i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA** e **form i.pl.+ DAMGO 311 pmol NPtA**), quando comparado com os animais que receberam microinjeção de salina no NPtA (grupo **form i.pl.+salina NPtA**).

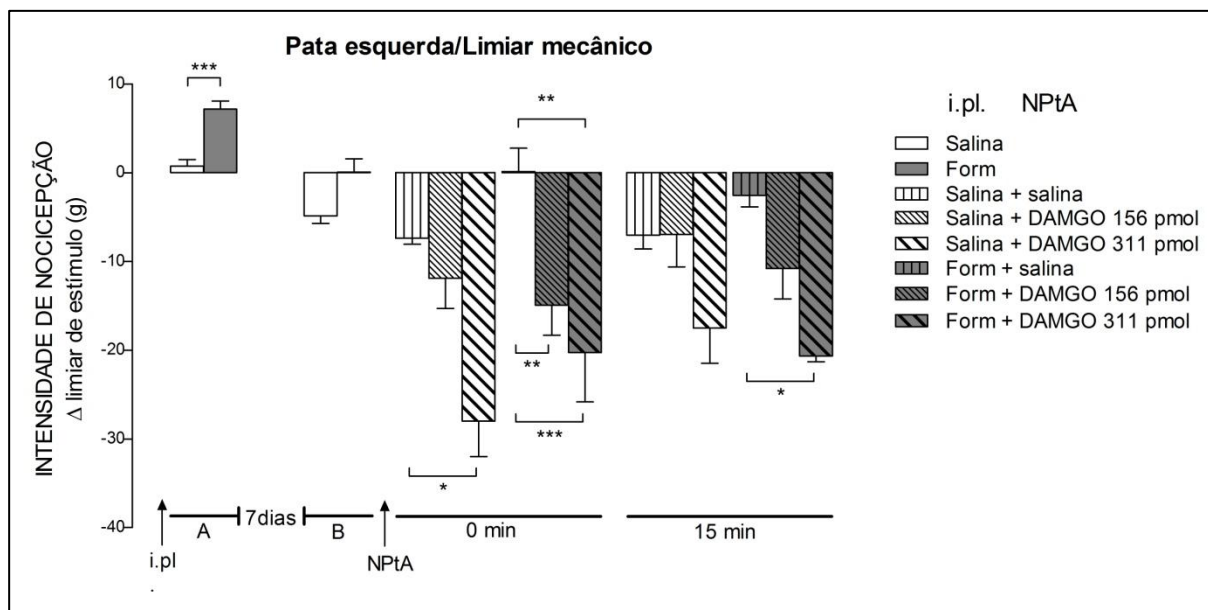


Figura 44. Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata esquerda antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (**A**). Sete dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de DAMGO ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata esquerda antes da injeção i.pl. na pata direita e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.2.2.1.5 14 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 45**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) causou imediata diminuição no limiar mecânico da pata esquerda comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (50 µl, grupo **salina i.pl.**), que não se prolongou até o 14º dia após a injeção i.p. Catorze dias após a injeção de salina na pata direita, a microinjeção de DAMGO (156 pmol/250 nl) aumentou o limiar mecânico da pata esquerda especialmente no tempo 0 após a microinjeção (grupo **salina i.pl.+ DAMGO 156 pmol NPtA**), e quando 311 pmol de DAMGO no NPtA houve aumento não significativo estatisticamente do limiar mecânico da pata esquerda, quando comparado com os animais com injeção de salina na pata e microinjeção de salina no NPtA (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). Naqueles animais que receberam injeção i.pl. de formalina 14 dias antes, somente a microinjeção de DAMGO (311 pmol/250 nl) no NPtA aumentou significativamente o limiar mecânico da pata esquerda (grupo **form i.pl.+ DAMGO 311 pmol NPtA**), quando comparado com os animais que receberam microinjeção de salina no NPtA (grupo **form i.pl.+salina NPtA**).

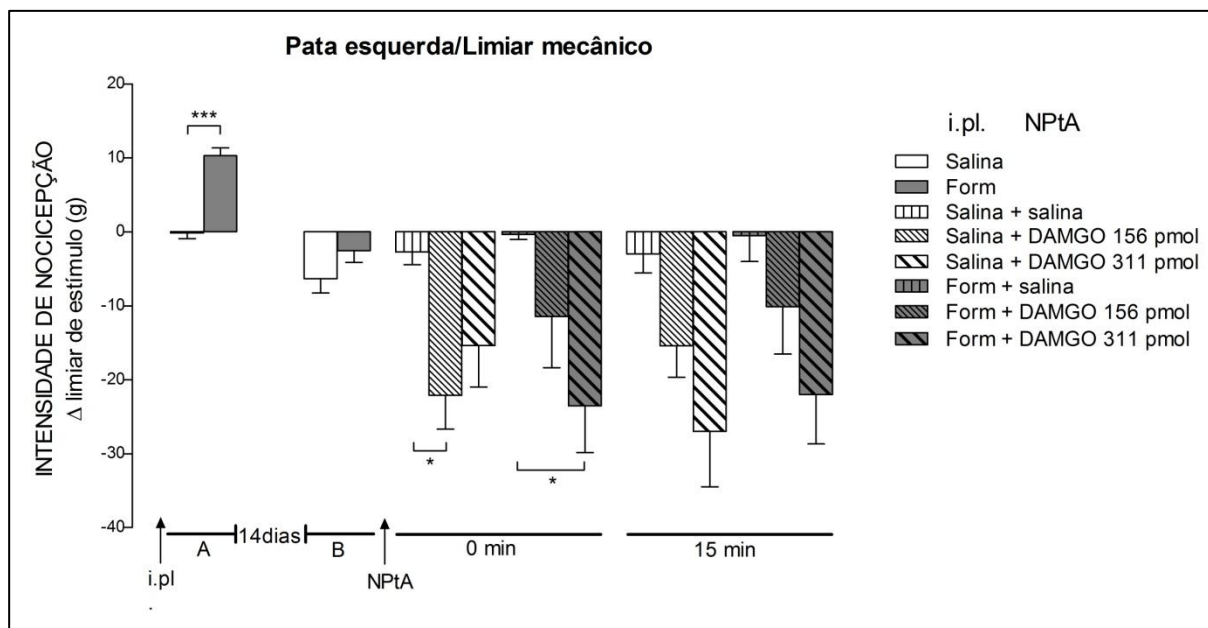


Figura 45. Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata esquerda antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (A). 14 dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (B) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de DAMGO ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata esquerda antes da injeção i.pl. na pata direita e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.2.2 Pata esquerda (hiperalgesia Secundária)

4.2.2.2 Limiar térmico

4.2.2.2.1 Imediatamente após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 46**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita seguida pela microinjeção de 250 nl de salina no NPtA esquerdo (grupo **formalina i.pl.+salina NPtA**) diminuiu de forma significativa o limiar térmico da pata esquerda comparado com os animais com injeção de salina na pata e microinjeção de salina no NPtA (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). A microinjeção de DAMGO (156 pmol/250 nl) no NPtA não teve efeitos significativos nos animais com injeção i.pl. de salina e aumentou discretamente o limiar térmico da pata esquerda naqueles com injeção i.pl. de formalina, comparado com os animais que receberam microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA x salina i.pl.+salina NPtA** e **form i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA x form i.pl.+salina NPtA**, respectivamente). Já a microinjeção de DAMGO (311 pmol/250 nl) no NPtA aumentou de forma significativa estes limiares tanto nos animais com injeção i.pl. de salina quanto naqueles com formalina, quando comparado com os animais que receberam microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+ DAMGO 311 pmol NPtA x salina i.pl.+salina NPtA** e **form i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA x form i.pl.+salina NPtA**).

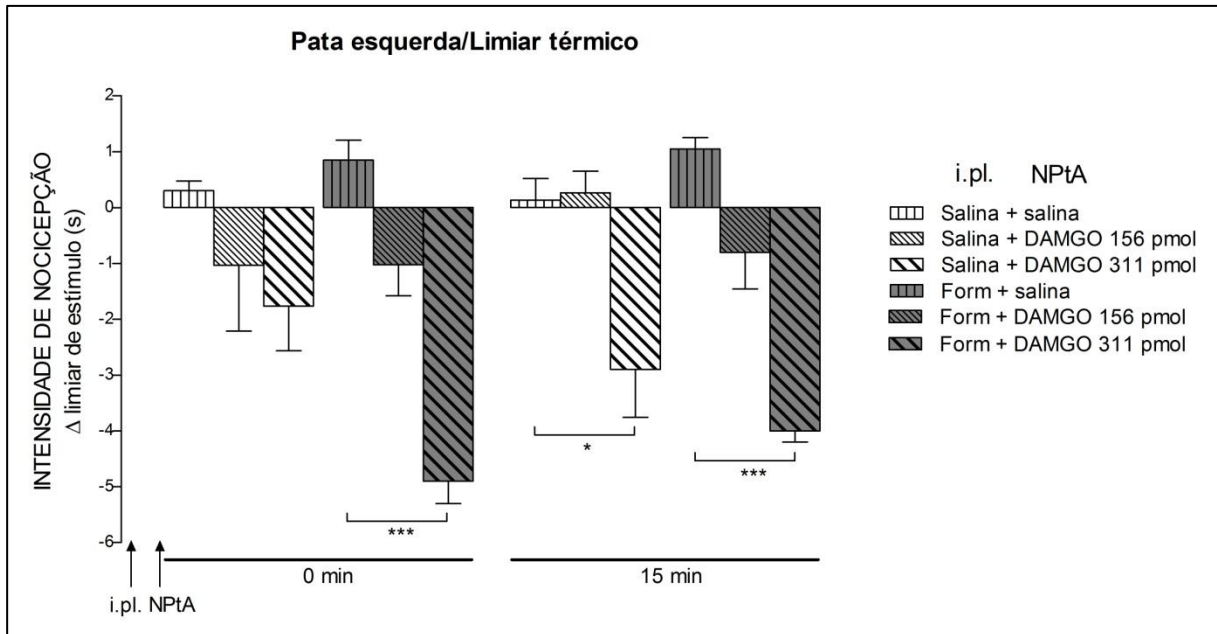


Figura 46. Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata esquerda antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após a injeção i.pl. foi feita microinjeção de DAMGO ou salina no NPtA esquerdo e os limiares da pata esquerda foram aferidos novamente nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na pata esquerda antes da injeção i.pl. na pata direita e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.2.2.2.2 2 horas após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 47**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) não causou mudanças significativas no limiar térmico da pata esquerda comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (50 µl, grupo **salina i.pl.**). 2 horas após a injeção intraplantar de salina ou de formalina, a microinjeção de DAMGO (156 pmol/250 nl) no NPtA não mudou estes limiares comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+ DAMGO 156 pmol NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA**). Já a microinjeção de DAMGO (311 pmol/250 nl) no NPtA aumentou de forma significativa o limiar térmico da pata esquerda, tanto nos animais que haviam recebido injeção de salina quanto formalina na pata direita 2 horas antes (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+ DAMGO 311 pmol NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA**).

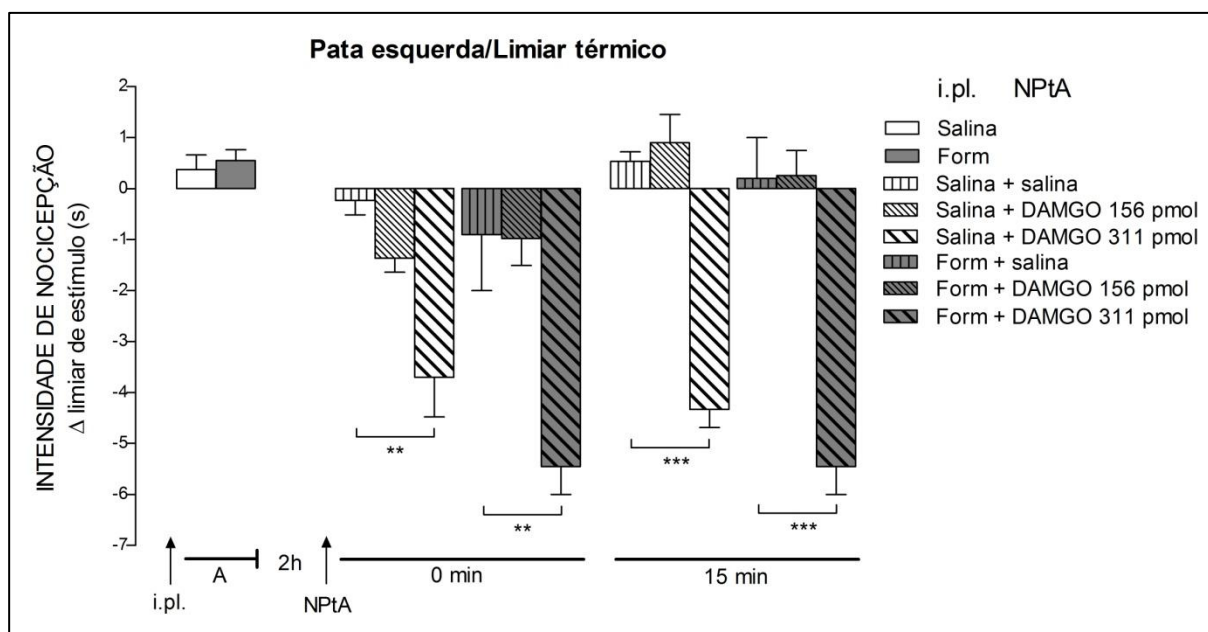


Figura 47. Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata esquerda antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (**A**). 2 horas após a injeção i.pl. foi feita microinjeção de DAMGO ou salina no NPtA esquerdo e os limiares da pata esquerda foram aferidos novamente nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na pata esquerda antes da injeção i.pl. na pata direita e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.2.2.2.3 1 dia após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 48**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) não causou mudanças significativas no limiar térmico da pata esquerda comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (50 µl, grupo **salina i.pl.**). 1 dia após as injeções intraplantares de salina ou de formalina, a microinjeção de 156 pmol ou 311 pmol de DAMGO no NPtA esquerdo (250 nl, grupos **salina i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA**, **salina i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA**, **form i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA** e **form i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA**) aumentou de forma significativa o limiar mecânico da pata esquerda, comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA**).

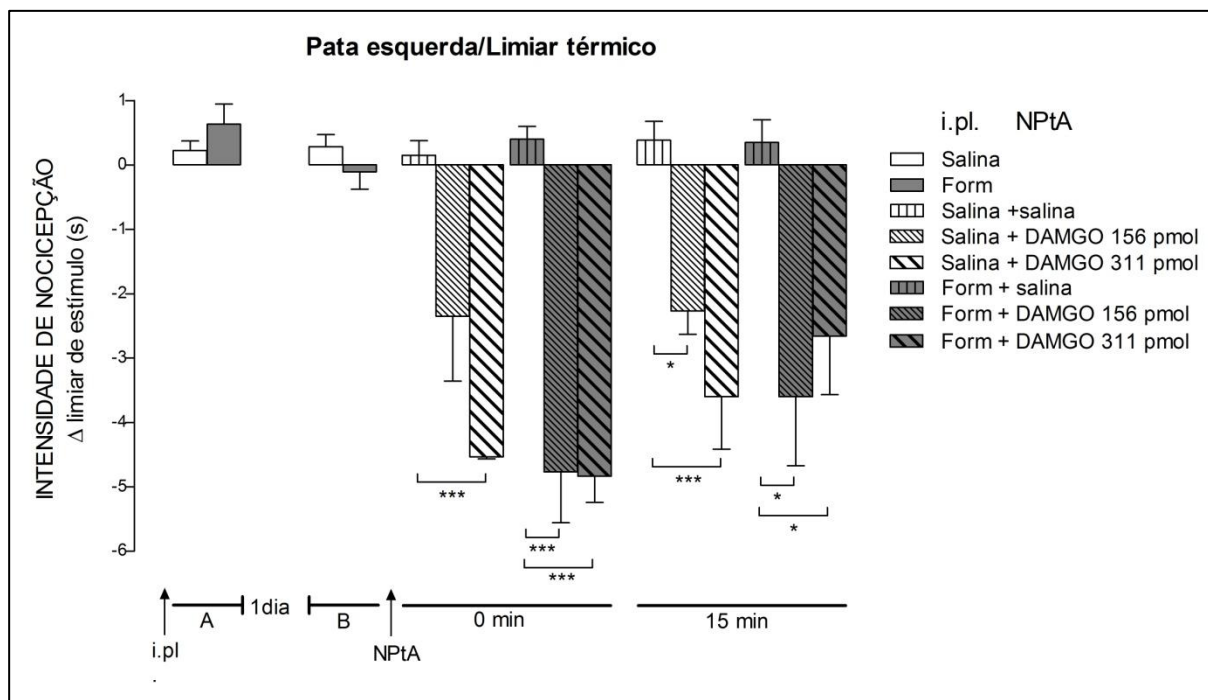


Figura 48. Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata esquerda antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (**A**). Um dia após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de DAMGO ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na pata esquerda antes da injeção i.pl. na pata direita e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.2.2.2.4 7 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 49**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) não causou mudanças significativas no limiar térmico da pata esquerda comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (50 µl, grupo **salina i.pl.**). Sete dias após as injeções intraplantares de salina a microinjeção de 156 pmol (grupo **salina i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA**) e principalmente de DAMGO (311 pmol/250 nl) no NPtA (**salina i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA**) aumentou o limiar térmico da pata esquerda, comparado com os animais com injeção de salina na pata e microinjeção de salina no NPtA (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). A microinjeção de DAMGO (156 pmol/250 nl), no NPtA 7 dias após injeção i.pl. de formalina (grupo **form i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA**) aumentou discretamente o limiar térmico da pata esquerda, e a microinjeção de 311 pmol de DAMGO (grupo **form i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA**) aumentou estes limiares especialmente a 15 minutos da microinjeção, comparado com os animais com injeção i.pl. de formalina e microinjeção de salina no NPtA (**form i.pl.+salina NPtA**).

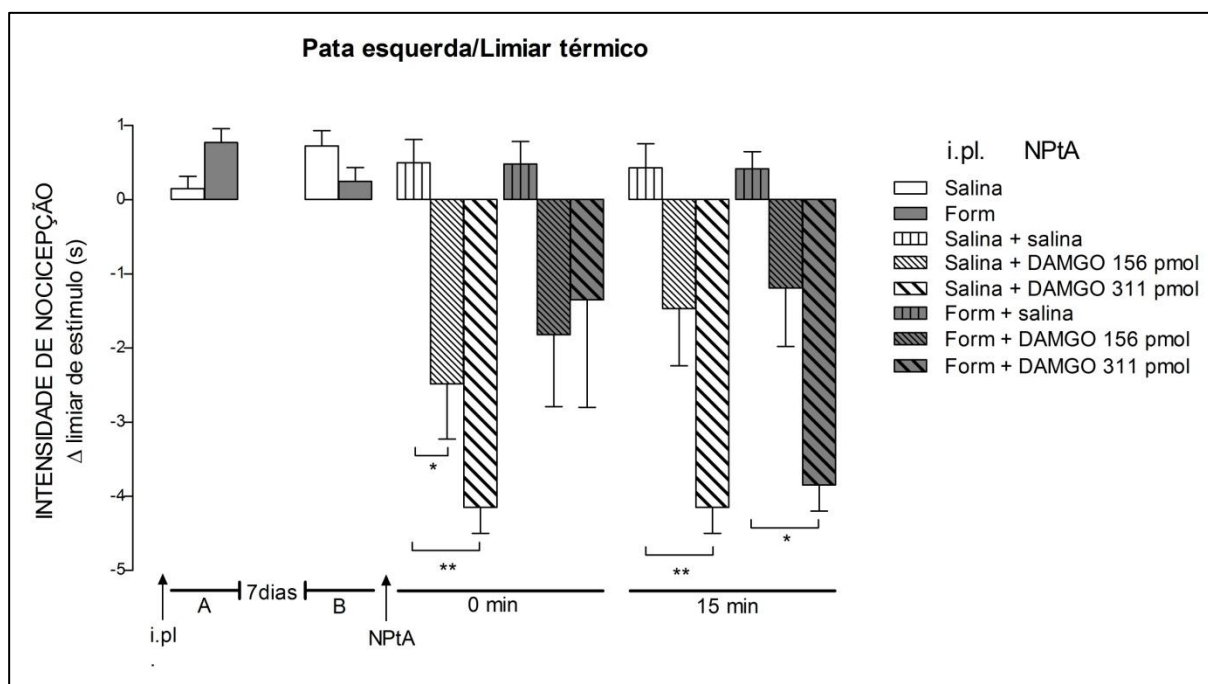


Figura 49. Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata esquerda antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (**A**). Sete dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de DAMGO ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na pata esquerda antes da injeção i.pl. na pata direita e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.2.2.2.5 14 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 50**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) não causou mudanças significativas no limiar térmico da pata esquerda comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (50 µl, grupo **salina i.pl.**). Catorze dias após as injeções intraplantares de salina a microinjeção de 156 pmol (grupo **salina i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA**) ou 311 pmol de DAMGO no NPtA (**salina i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA**) aumentou significativamente o limiar térmico da pata esquerda, comparado com os animais com injeção de salina na pata e microinjeção de salina no NPtA (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). A microinjeção de DAMGO (156 pmol/250 nl), no NPtA 14 dias após injeção i.pl. de formalina (grupo **form i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA**) aumentou discretamente o limiar térmico da pata esquerda, e a microinjeção de 311 pmol de DAMGO (grupo **form i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA**) aumentou significativamente estes limiares no tempo 0 da microinjeção, comparado com os animais com injeção i.pl. de formalina e microinjeção de salina no NPtA (**form i.pl.+salina NPtA**).

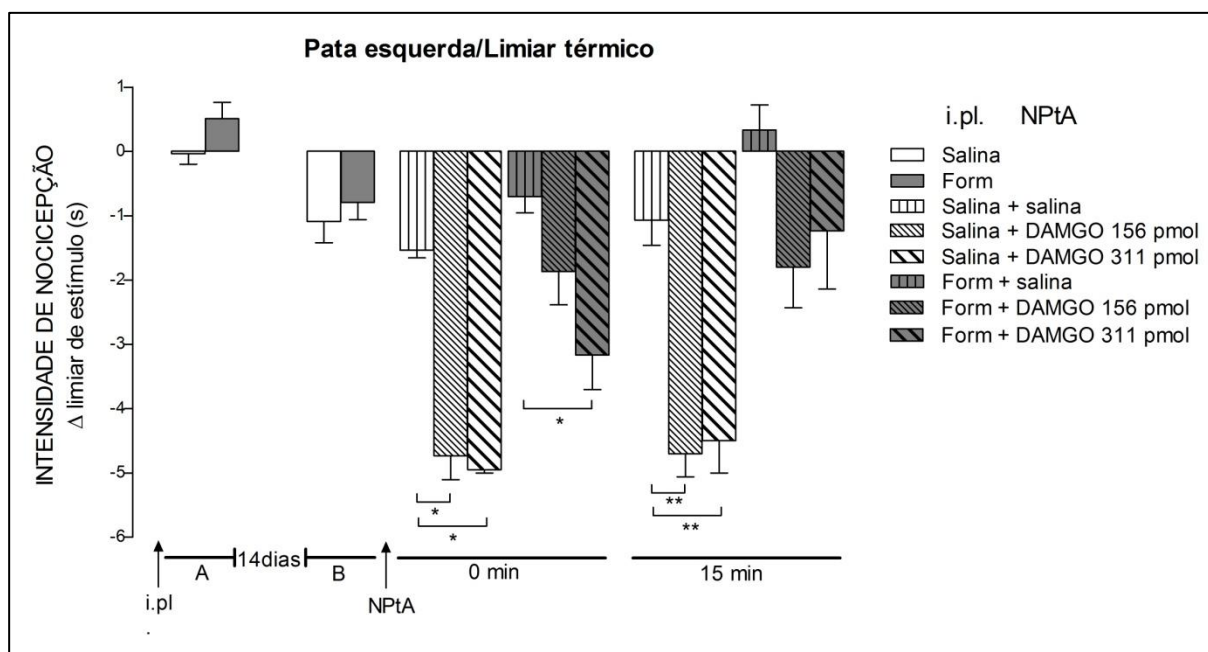


Figura 50. Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata esquerda antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (**A**). Sete dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de DAMGO ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na pata esquerda antes da injeção i.pl. na pata direita e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.2.3 Cauda (hiperalgesia Secundária)

4.2.3.1 Limiar mecânico

4.2.3.1.1 Imediatamente após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 51**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita seguida pela microinjeção de 250 nl de salina no NPtA esquerdo (grupo **formalina i.pl.+salina NPtA**) não causou mudanças significativas no limiar mecânico da cauda comparado com os animais com injeção de salina na pata e microinjeção de salina no NPtA (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). A microinjeção de DAMGO (156 pmol/250 nl) no NPtA não teve efeitos significativos nos animais com injeção i.pl. de salina ou de formalina, comparado com os animais que receberam microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA** x **salina i.pl.+salina NPtA** e **form i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA** x **form i.pl.+salina NPtA**, respectivamente). Já a microinjeção de DAMGO (311 pmol/250 nl) no NPtA aumentou de forma significativa o limiar mecânico da cauda tanto nos animais com injeção i.pl. de salina quanto naqueles com formalina, quando comparado com os animais que receberam microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+ DAMGO 311 pmol NPtA** x **salina i.pl.+salina NPtA** e **form i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA** x **form i.pl.+salina NPtA**).

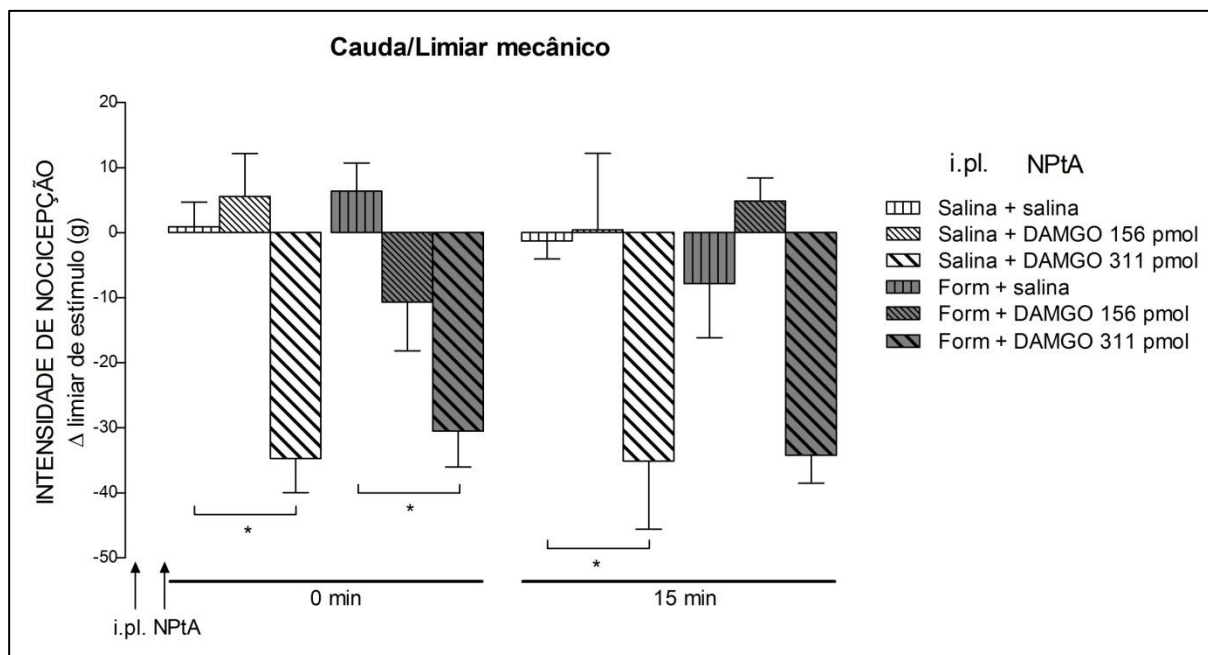


Figura 51. Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície dorsal da cauda, a 5 cm da extremidade, antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após a injeção i.pl. foi feita microinjeção de DAMGO ou salina no NPtA esquerdo e os limiares da cauda foram aferidos novamente nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na cauda antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.2.3.1.2 2 horas após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 52**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) não causou mudanças significativas no limiar mecânico da cauda comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (50 µl, grupo **salina i.pl.**). 2 horas após a injeção intraplantar de salina ou de formalina, a microinjeção de DAMGO (156 pmol/250 nl) no NPtA não mudou estes limiares comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+ DAMGO 156 pmol NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA**). Já a microinjeção de DAMGO (311 pmol/250 nl) no NPtA aumentou o limiar mecânico da cauda nos animais com injeção de salina e principalmente naqueles com formalina na pata direita, comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+ DAMGO 311 pmol NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA**).

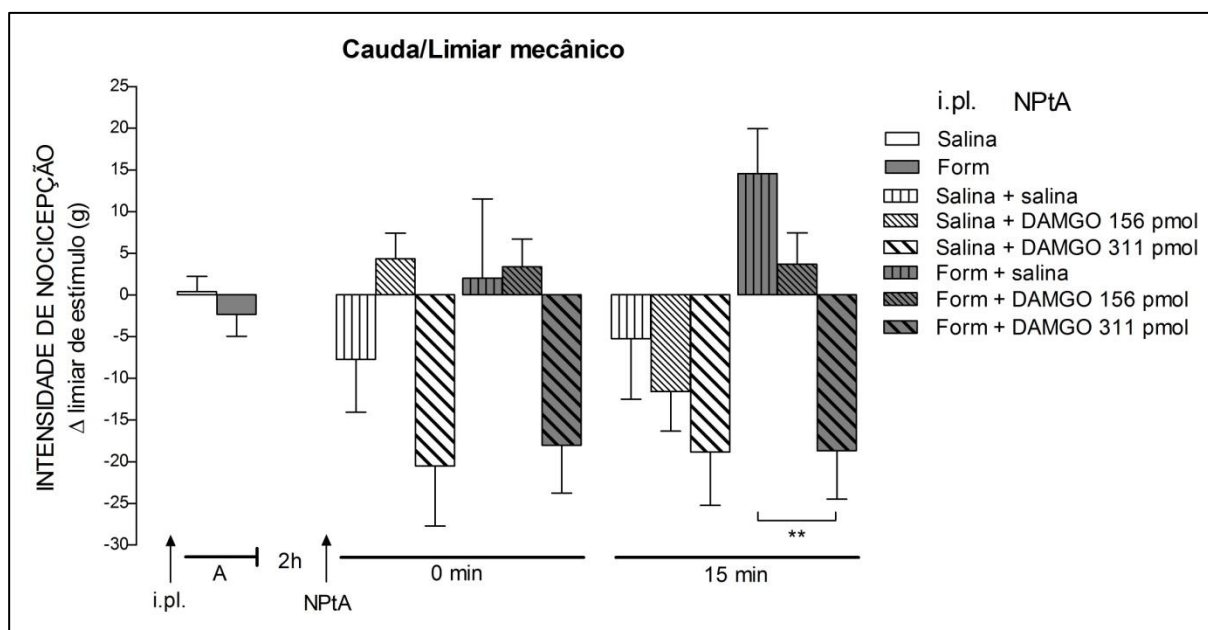


Figura 52. Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície dorsal da cauda, a 5 cm da extremidade, antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (A). 2 horas após a injeção i.pl. foi feita microinjeção de DAMGO ou salina no NPtA esquerdo e os limiares da cauda foram aferidos novamente nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na cauda antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. ** $P < 0,01$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.2.3.1.3 1 dia após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 53**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) não causou mudanças significativas no limiar mecânico da cauda comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (50 µl, grupo **salina i.pl.**). Um dia após a injeção intraplantar de salina ou de formalina, a microinjeção de DAMGO (156 pmol/250 nl) no NPtA não mudou significativamente estes limiares comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA**). Já a microinjeção de DAMGO (311 pmol/250 nl) no NPtA aumentou discretamente o limiar mecânico da cauda nos animais com injeção de salina e de forma mais expressiva naqueles com formalina na pata direita, comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+ DAMGO 311 pmol NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA**).

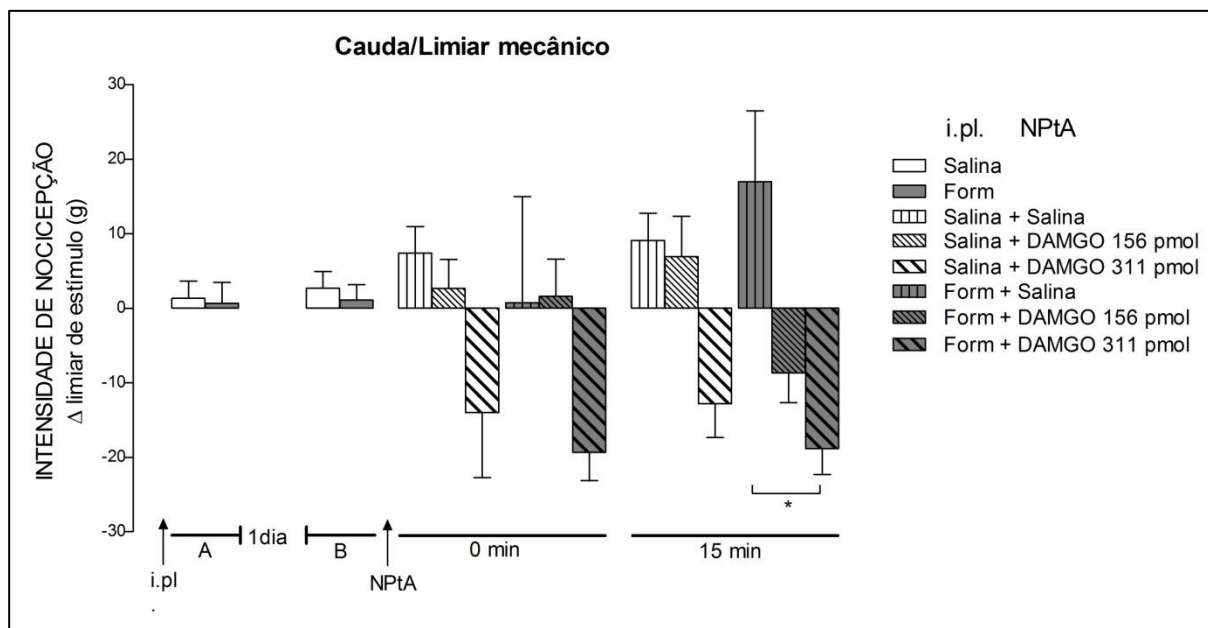


Figura 53. Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície dorsal da cauda, a 5 cm da extremidade, antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (**A**). Um dia após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de DAMGO ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na cauda antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.2.3.1.4 7 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 54**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) não causou mudanças significativas no limiar mecânico da cauda comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (50 µl, grupo **salina i.pl.**). Da mesma forma, 7 dias após a injeção intraplantar de salina ou de formalina, a microinjeção de 156 pmol ou de DAMGO (311 pmol/250 nl) no NPtA não mudou significativamente estes limiares comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+ DAMGO 156 pmol NPtA**, e **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+ DAMGO 311 pmol NPtA**, **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA**).

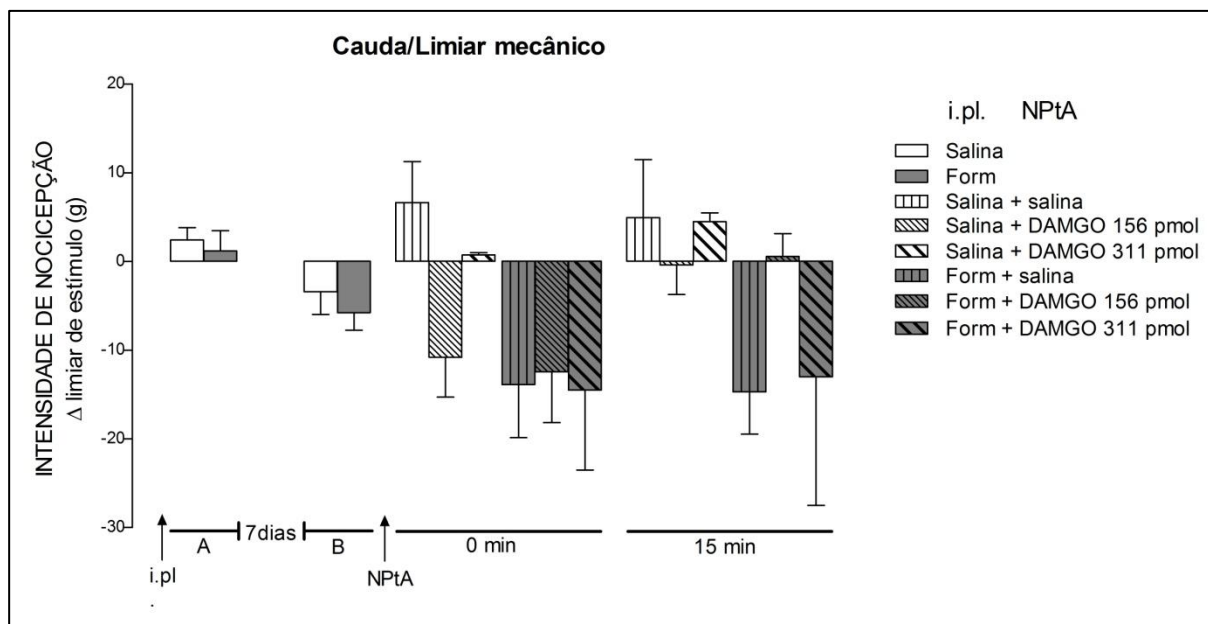


Figura 54. Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície dorsal da cauda, a 5 cm da extremidade, antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (**A**). Sete dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de DAMGO ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na cauda antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo.

4.2.3.1.5 14 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 55**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) não causou mudanças significativas no limiar mecânico da cauda comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (50 µl, grupo **salina i.pl.**). Da mesma forma, 14 dias após a injeção intraplantar de salina ou de formalina, a microinjeção de 156 pmol ou de DAMGO (311 pmol/250 nl) no NPtA não mudou significativamente estes limiares comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA x salina i.pl.+ DAMGO 156 pmol NPtA**, e **salina i.pl.+salina NPtA x salina i.pl.+ DAMGO 311 pmol NPtA**, **form i.pl.+salina NPtA x form i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA x form i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA**).

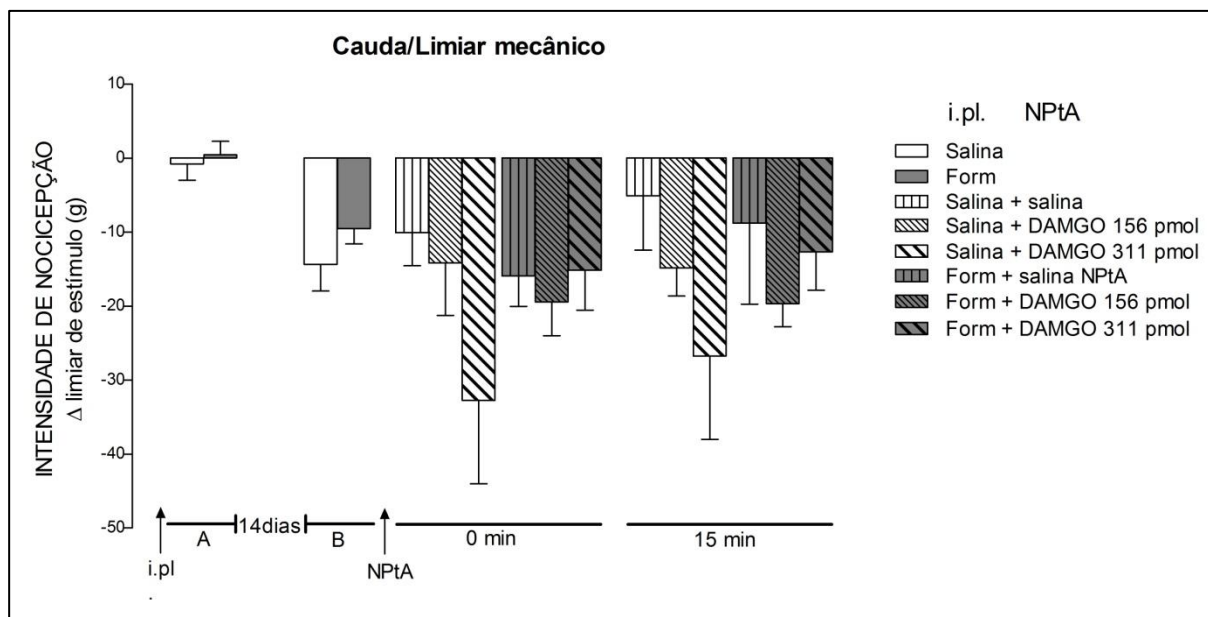


Figura 55. Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície dorsal da cauda, a 5 cm da extremidade, antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (**A**). 14 dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de DAMGO ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na cauda antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo.

4.2.3 Cauda (hiperalgesia Secundária)

4.2.3.2 Limiar térmico

4.2.3.2.1 Imediatamente após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 56**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita seguida pela microinjeção de 250 nl de salina no NPtA esquerdo (grupo **formalina i.pl.+salina NPtA**) não causou mudanças significativas no limiar térmico da cauda comparado com os animais com injeção de salina (50 µl) na pata e microinjeção de salina no NPtA (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). A microinjeção de DAMGO (156 pmol/250 nl) no NPtA não teve efeitos significativos nos animais com injeção i.pl. de salina ou de formalina, comparado com os animais que receberam microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA** x **salina i.pl.+salina NPtA** e **form i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA** x **form i.pl.+salina NPtA**, respectivamente). Já a microinjeção de DAMGO (311 pmol/250 nl) no NPtA aumentou de forma significativa o limiar térmico da cauda tanto nos animais com injeção i.pl. de salina quanto naqueles com formalina, quando comparado com os animais que receberam microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+ DAMGO 311 pmol NPtA** x **salina i.pl.+salina NPtA** e **form i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA** x **form i.pl.+salina NPtA**).

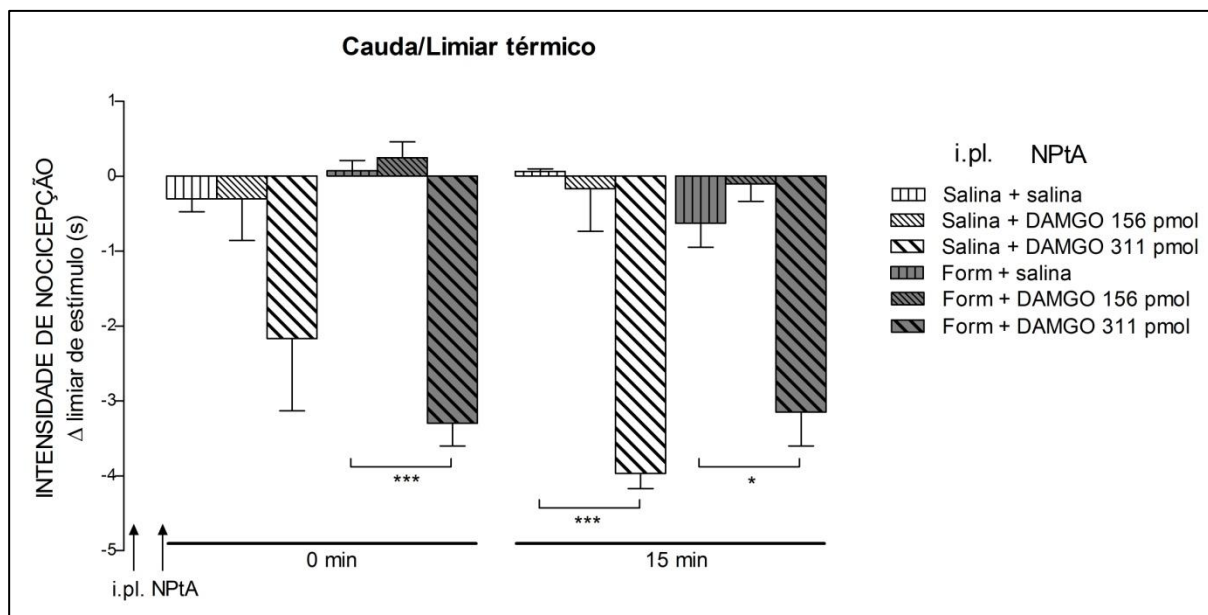


Figura 56. Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície ventral da cauda, entre 2 e 3 cm da extremidade, antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após a injeção i.pl. foi feita microinjeção de DAMGO ou salina no NPtA esquerdo e os limiares da cauda foram aferidos novamente nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na cauda antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.2.3.2.2 2 horas após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 57**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) não causou mudanças significativas no limiar térmico da cauda comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (50 µl, grupo **salina i.pl.**). Duas horas após a injeção i.pl. de salina ou de formalina, a microinjeção de DAMGO (156 pmol/250 nl) no NPtA não teve efeitos significativos nestes limiares, comparado com os animais que receberam microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA** x **salina i.pl.+salina NPtA** e **form i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA** x **form i.pl.+salina NPtA**, respectivamente). Porém, quando 311 pmol de DAMGO foi microinjetado no NPtA houve aumento significativo do limiar térmico da cauda tanto nos animais com injeção i.pl. de salina quanto naqueles com formalina, quando comparado com os animais que receberam microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA** x **salina i.pl.+salina NPtA** e **form i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA** x **form i.pl.+salina NPtA**).

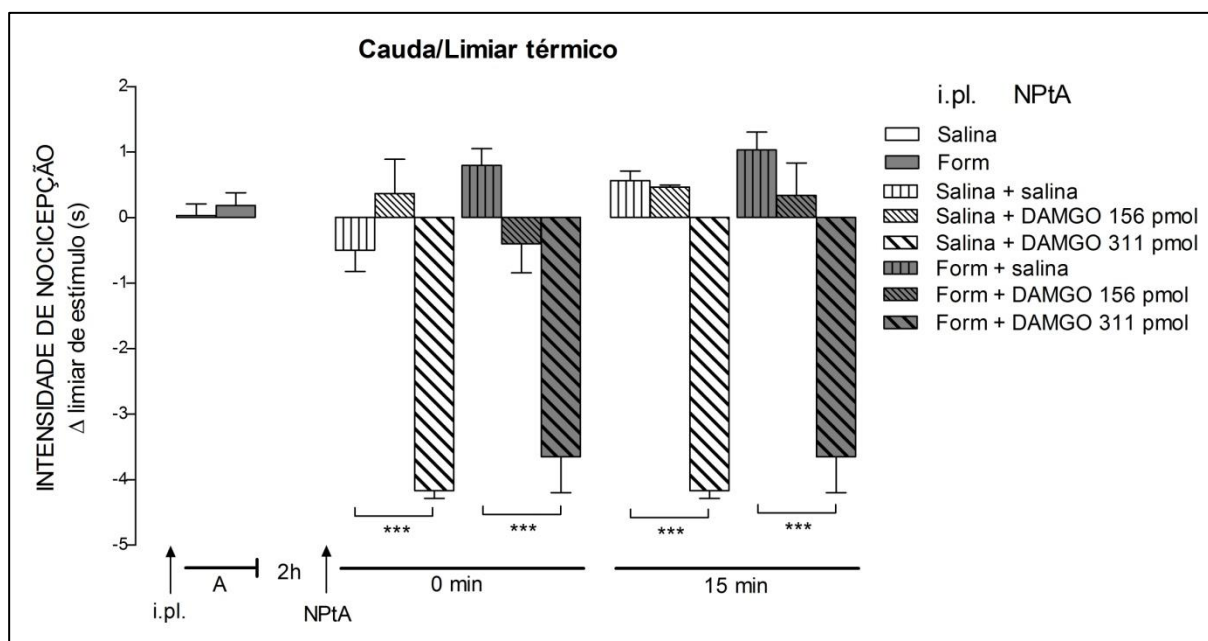


Figura 57. Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície ventral da cauda, entre 2 e 3 cm da extremidade, antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (**A**). 2 horas após a injeção i.pl. foi feita microinjeção de DAMGO ou salina no NPtA esquerdo e os limiares da cauda foram aferidos novamente nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na cauda antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.2.3.2.3 1 dia após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 58**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) não causou mudanças significativas no limiar térmico da cauda comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (50 µl, grupo **salina i.pl.**). Um dia após a injeção i.pl. de salina ou de formalina, a microinjeção de 156 pmol ou 311 pmol de DAMGO no NPtA aumentou o limiar térmico da cauda, comparado com os animais que receberam microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA x salina i.pl.+salina NPtA**, **salina i.pl.+ DAMGO 311 pmol NPtA x salina i.pl.+salina NPtA**, **form i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA x form i.pl.+salina NPtA** e **form i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA x form i.pl.+salina NPtA**).

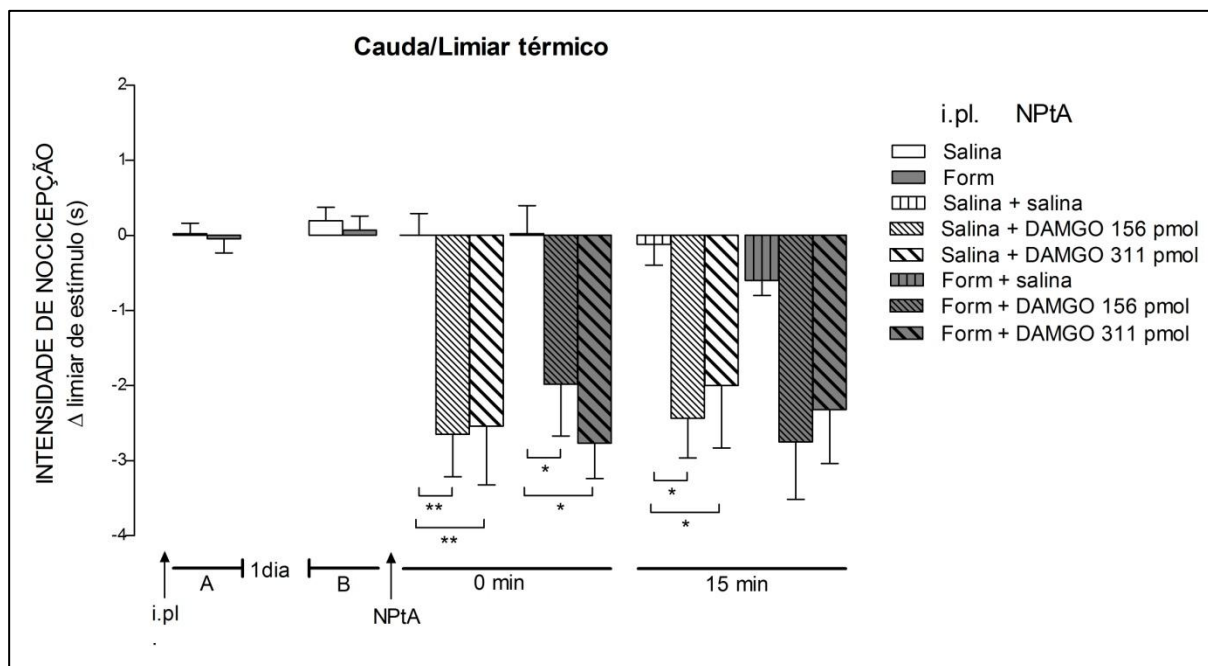


Figura 58. Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície ventral da cauda, entre 2 e 3 cm da extremidade, antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (A). Um dia após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (B) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de DAMGO ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na cauda antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.2.3.2.4 7 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 59**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) não causou mudanças significativas no limiar térmico da cauda comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (50 µl, grupo **salina i.pl.**). Sete dias após a injeção i.pl. de salina ou de formalina, a microinjeção de 156 pmol ou 311 pmol de DAMGO no NPtA aumentou o limiar térmico da cauda especialmente no tempo 0 após a microinjeção, comparado com os animais que receberam microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA x salina i.pl.+salina NPtA**, **salina i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA x salina i.pl.+salina NPtA**, **form i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA x form i.pl.+salina NPtA** e **form i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA x form i.pl.+salina NPtA**).

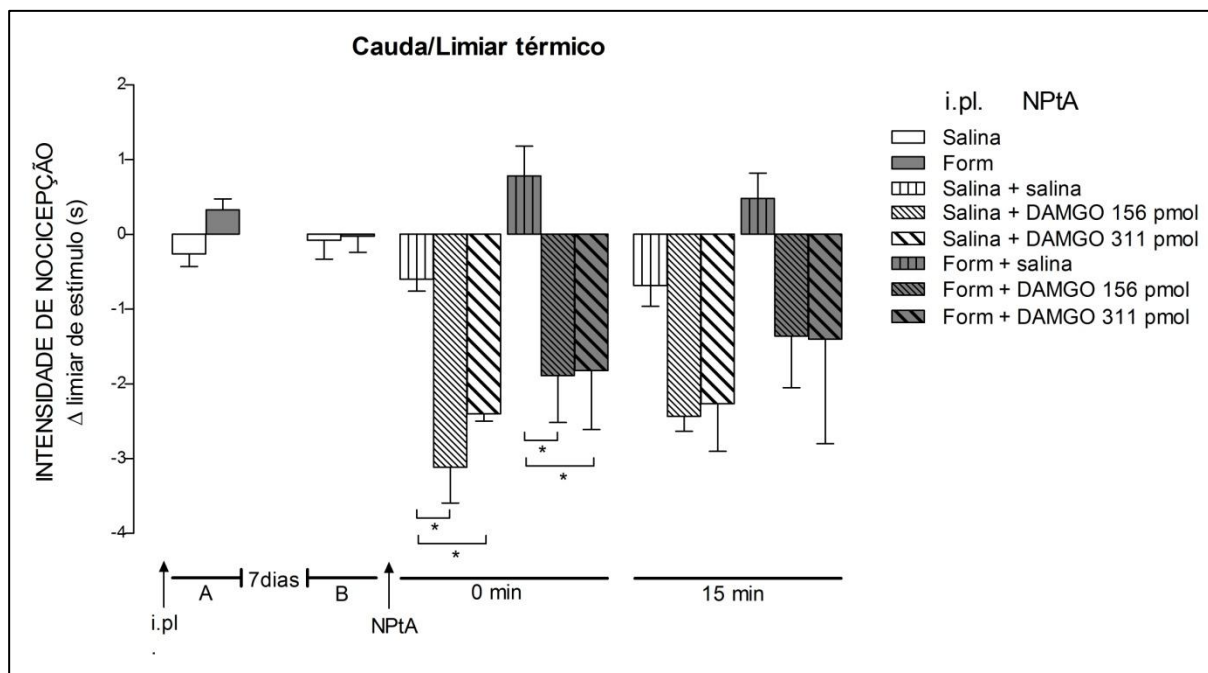


Figura 59. Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície ventral da cauda, entre 2 e 3 cm da extremidade, antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (A). Sete dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (B) e nos tempos 0 min e 15 min após a microinjeção de DAMGO ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na cauda antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.2.3.2.5 14 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 60**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) não causou mudanças significativas no limiar térmico da cauda comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (50 µl, grupo **salina i.pl.**). Catorze dias após a injeção i.pl. de salina ou de formalina, a microinjeção de 156 pmol ou 311 pmol de DAMGO no NPtA aumentou o limiar térmico da cauda especialmente no tempo 0 após a microinjeção, comparado com os animais que receberam microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA x salina i.pl.+salina NPtA**, **salina i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA x salina i.pl.+salina NPtA**, **form i.pl.+DAMGO 156 pmol NPtA x form i.pl.+salina NPtA** e **form i.pl.+DAMGO 311 pmol NPtA x form i.pl.+salina NPtA**).

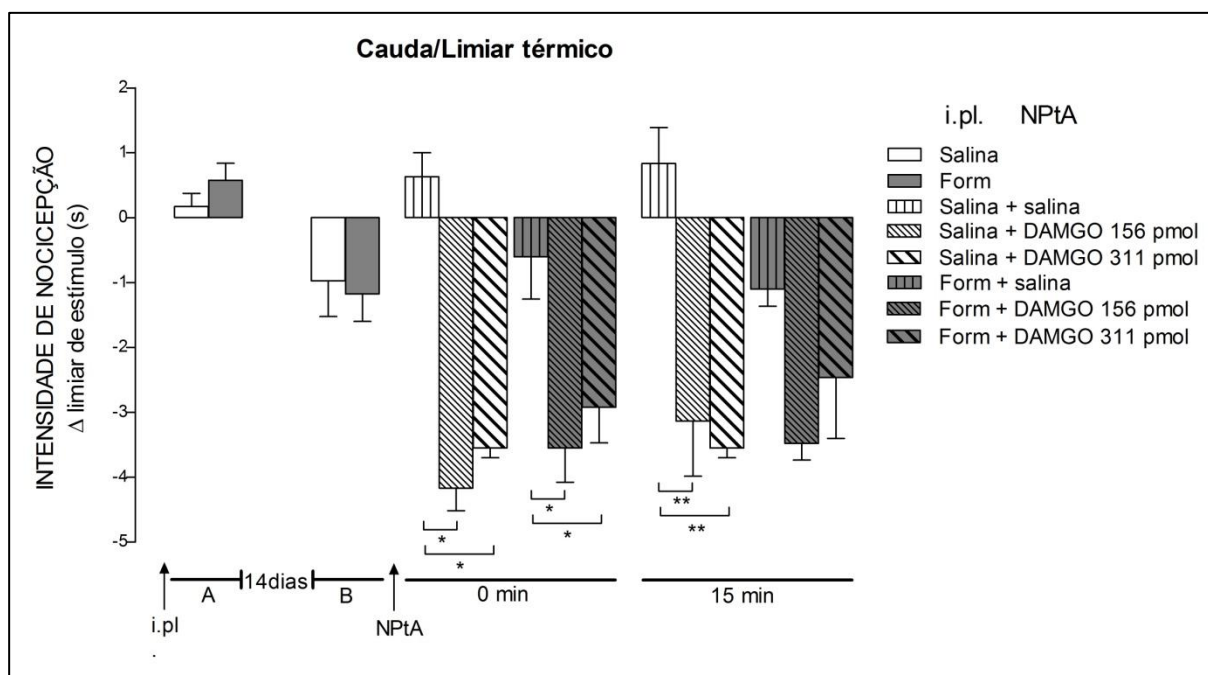


Figura 60. Efeitos da microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol/250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície ventral da cauda, entre 2 e 3 cm da extremidade, antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (A). 14 dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (B) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de DAMGO ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na cauda antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.3 Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou salina (250 nl) no NPtA sobre a hiperalgesia mecânica e térmica, primária e secundária, imediatamente, 2 horas, 1 dia, 7 dias, ou 14 dias após a indução de inflamação pela injeção i.pl. de formalina 5%

4.3.1 Pata direita (hiperalgesia primária)

4.3.1.1 Limiar mecânico

4.3.1.1.1 Imediatamente após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 61**.

A microinjeção de lidocaína 2% (250 nl) após a injeção de salina (50 µl) na pata direita (grupo **salina i.pl.+lidocaína NPtA**) não apresentou mudanças significativas no limiar mecânico desta pata, comparado com os animais com injeção de salina na pata e microinjeção de salina (250 nl) no NPtA (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita seguida pela microinjeção de salina no NPtA (grupo **formalina i.pl.+salina NPtA**) diminuiu de forma significativa estes limiares. A microinjeção de lidocaína 2% no NPtA após a injeção de formalina na pata (grupo **formalina i.pl.+lidocaína NPtA**) não alterou o limiar mecânico da pata direita quando comparado com o grupo **formalina i.pl.+salina NPtA**.

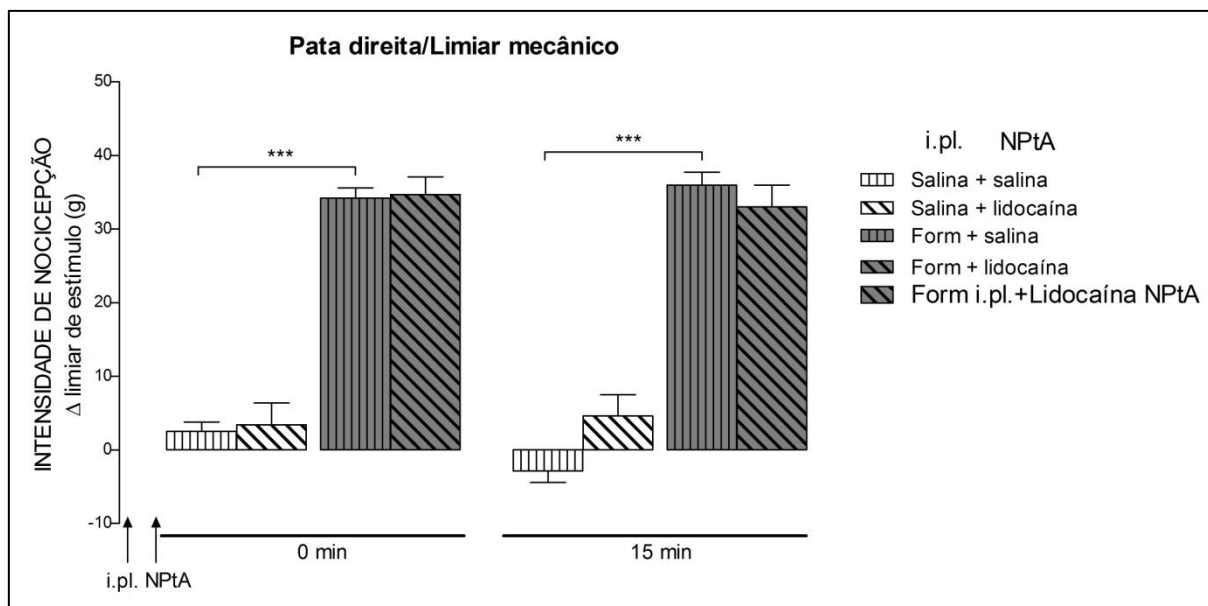


Figura 61. Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica primária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata direita antes da injeção intraplantar (i.pl.). Após a injeção de formalina ou salina (50 μ l) na superfície dorsal da pata direita, foi feita microinjeção de lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo e novas medidas do limiar para estímulos mecânicos foram aferidas nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata direita antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.3.1.1.2 2 horas após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 62**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) causou drástica e imediata diminuição no limiar mecânico desta pata, quando comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.**), que se prolongou até 2 horas após a injeção (grupo **form i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+salina NPtA**). 2 horas após as injeções intraplantares de salina, a microinjeção de lidocaína 2% no NPtA (250 nl, grupo **salina i.pl.+lidocaína NPtA**) não alterou o limiar mecânico quando comparado com os animais com injeção i.pl. de salina e microinjeção de salina no NPtA (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). A microinjeção de lidocaína 2 horas após a injeção de formalina na pata (grupo **form i.pl.+lidocaína NPtA**) diminuiu o limiar mecânico, quando comparado com os animais com salina no NPtA (grupo **form i.pl.+salina NPtA**)

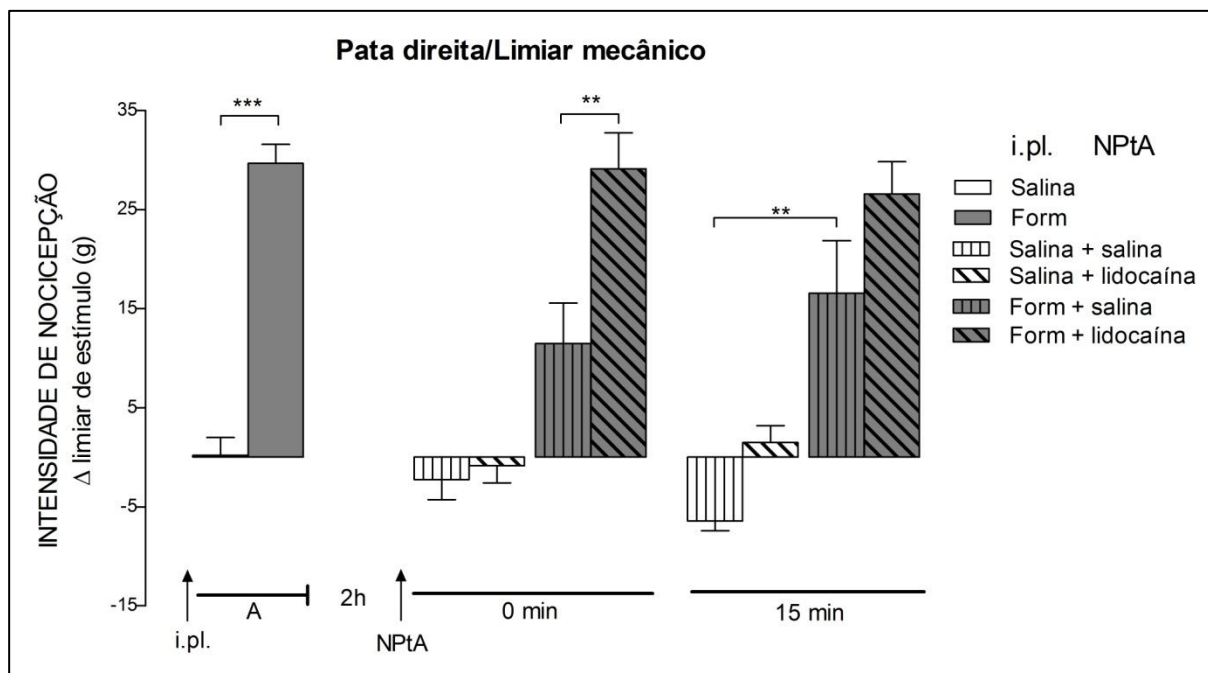


Figura 62. Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica primária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata direita antes da injeção intraplantar (i.pl.). Após a injeção de formalina ou salina (50 μ l) na superfície dorsal da pata direita, foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (**A**). Duas horas após a injeção i.pl., lidocaína 2% ou salina foram microinjetados no NPtA esquerdo e novos limiares foram aferidos nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata direita antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.3.1.1.3 1 dia após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 63**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) causou drástica diminuição do limiar mecânico desta pata quando comparado com os animais com salina i.pl. (grupo **salina i.pl.**), que foi observada até 1 dia após a injeção. Um dia após a injeção intraplantar de salina ou de formalina, a microinjeção de lidocaína 2% (250 nl) no NPtA não alterou significativamente o limiar para estímulos mecânicos, quando comparado com os animais microinjetados com salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+lidocaína NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+lidocaína NPtA**).

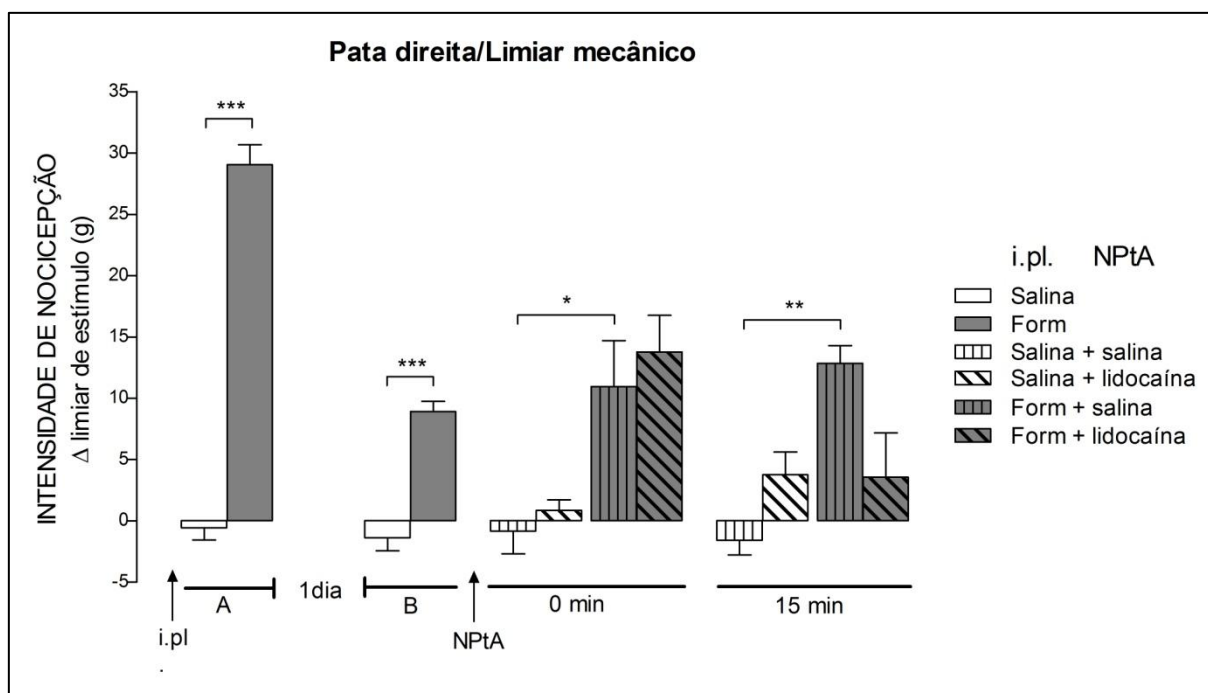


Figura 63. Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperálgia mecânica primária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata direita antes da injeção intraplantar (i.pl.). Após a injeção de formalina ou salina (50 μ l) na superfície dorsal da pata direita, foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (A). Um dia após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (B) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata direita antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.3.1.1.4 7 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 64**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) causou drástica diminuição do limiar mecânico desta pata quando comparado com os animais com salina i.pl. (grupo **salina i.pl.**), que foi observada até 7 dias após a injeção i.pl. Sete dias após a injeção intraplantar de salina ou de formalina, a microinjeção de lidocaína 2% (250 nl) no NPtA não alterou o limiar mecânico quando comparado com os animais com microinjeção de 250 nl de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+lidocaína NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+lidocaína NPtA**).

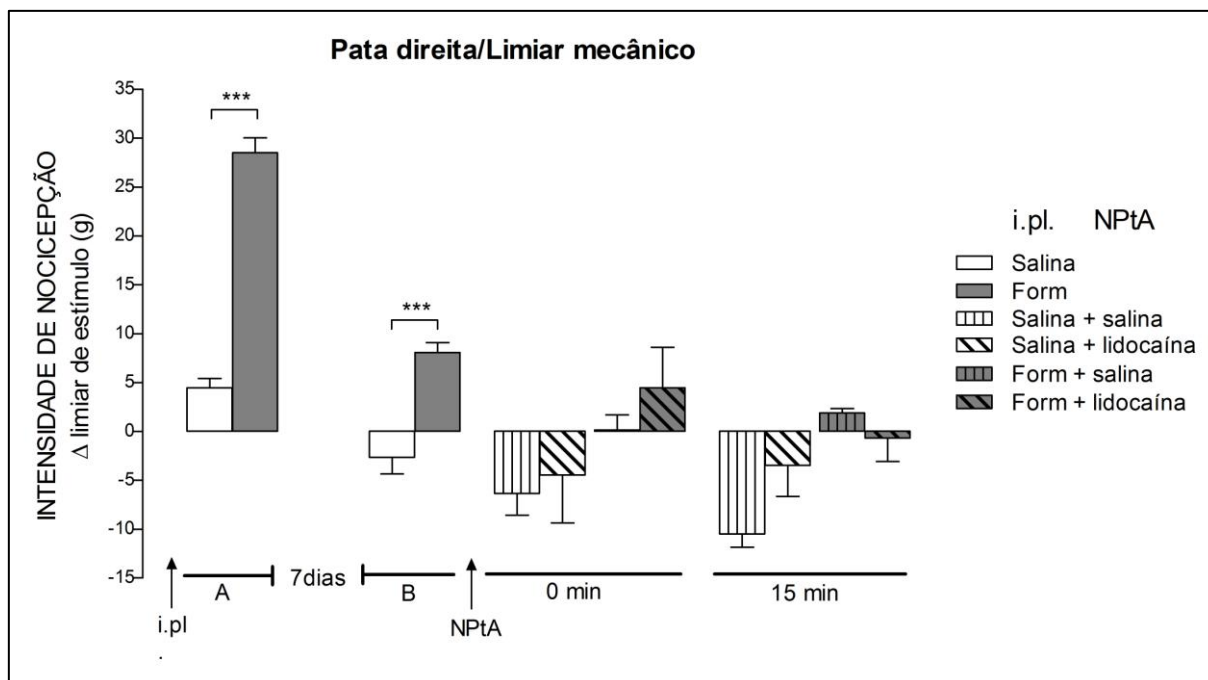


Figura 64. Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica primária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata direita antes da injeção intraplantar (i.pl.). Após a injeção de formalina ou salina (50 μ l) na superfície dorsal da pata direita, foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (**A**). Sete dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata direita antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.3.1.1.5 14 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 65**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) causou drástica diminuição do limiar mecânico desta pata quando comparado com os animais com salina i.pl. (grupo **salina i.pl.**), que não foi observada no 14º dia após a injeção. Catorze dias após a injeção intraplantar de salina, a microinjeção de lidocaína 2% (250 nl) no NPtA (grupo **salina i.pl.+lidocaína NPtA**) aumentou o limiar para estímulos mecânicos quando comparado com os animais com salina i.pl. e microinjeção de 250 nl de salina no NPtA (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). Por outro lado, a microinjeção de lidocaína 14 dias após a injeção i.pl. de formalina (grupo **form i.pl.+lidocaína NPtA**) não alterou o limiar mecânico quando comparado com os animais com injeção i.pl. de formalina e microinjeção de salina no NPtA (grupo **form i.pl.+salina NPtA**).

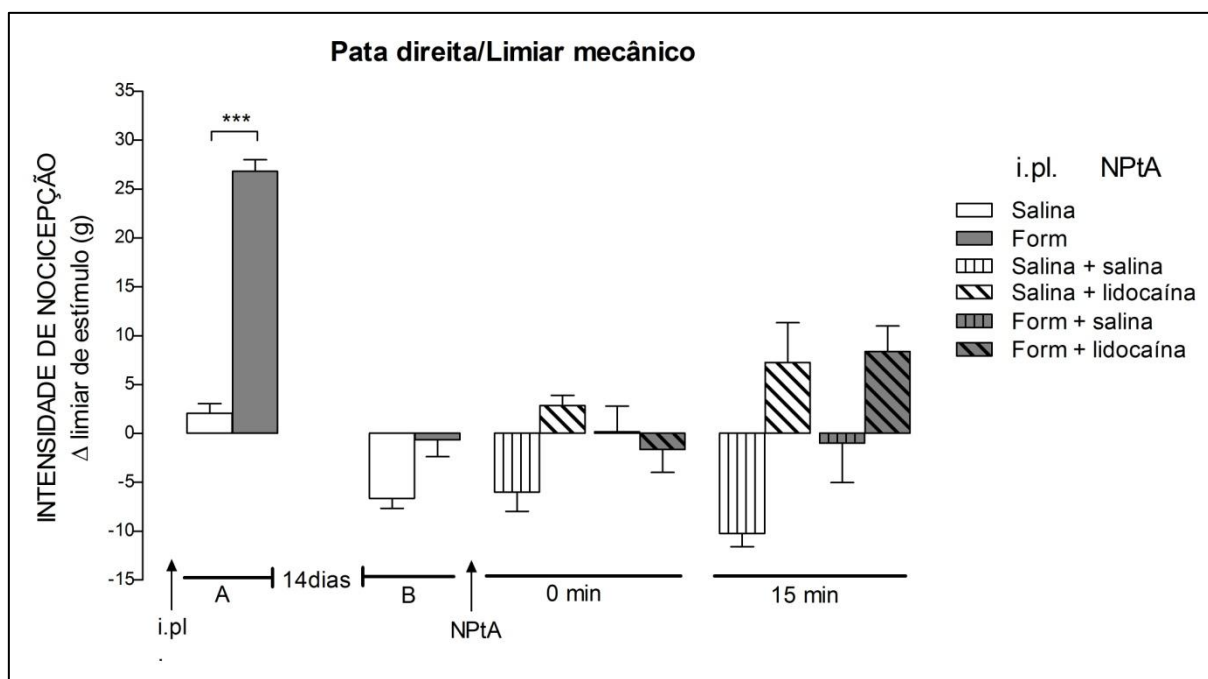


Figura 65. Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica primária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata direita antes da injeção intraplantar (i.pl.). Após a injeção de formalina ou salina (50 μ l) na superfície dorsal da pata direita, foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (**A**). 14 dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata direita antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.3.1.2 Limiar térmico

4.3.1.2.1 Imediatamente após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 66**.

A microinjeção de lidocaína 2% (250 nl) após a injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.+lidocaína NPtA**) não apresentou mudanças significativas no limiar térmico da pata direita quando comparado com os animais com injeção i.pl. de salina e microinjeção de 250 nl de salina no NPtA (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita seguida pela microinjeção de salina no NPtA (grupo **formalina i.pl.+salina NPtA**) diminuiu de forma significativa o limiar térmico, comparado com os animais com salina i.pl. e microinjeção de salina no NPtA (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). A microinjeção de lidocaína 2% no NPtA após a injeção de formalina na pata (grupo **formalina i.pl.+lidocaína NPtA**), não alterou o limiar térmico quando comparado com os animais com formalina i.pl. e microinjeção de salina no NPtA (**formalina i.pl.+salina NPtA**).

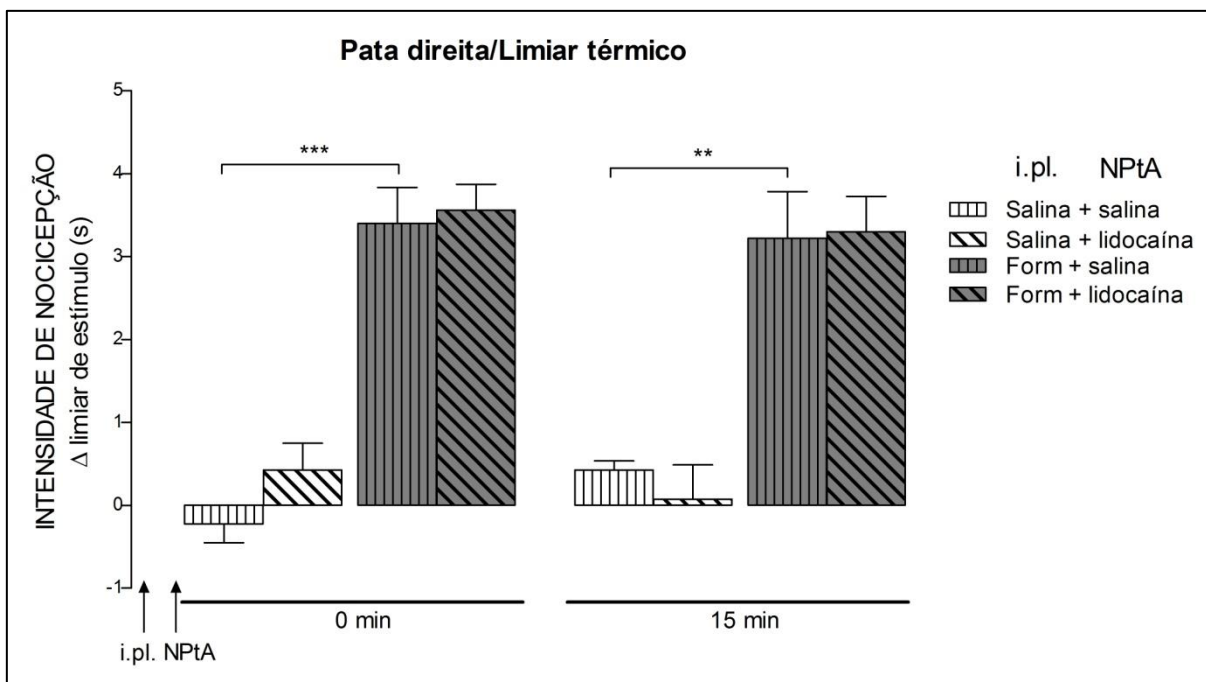


Figura 66. Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica primária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata direita antes da injeção intraplantar (i.pl.). Após a injeção de formalina ou salina (50 μ l) na superfície dorsal da pata direita, foi feita microinjeção de lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo e novas medidas do limiar para estímulos mecânicos foram aferidas nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata direita antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.3.1.2.2 2 horas após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 67**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) causou drástica e imediata diminuição no limiar térmico desta pata, comparado com os animais com salina i.pl. (grupo **salina i.pl.**), que se prolongou até 2 horas após a injeção (grupo **form i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+salina NPtA**). 2 horas após as injeções intraplantares de salina ou de formalina, a microinjeção de lidocaína 2% (250 nl) no NPtA não alterou o limiar térmico, comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+lidocaína NPtA** x **salina i.pl.+salina NPtA** e **form i.pl.+lidocaína NPtA** x **form i.pl.+salina NPtA**).

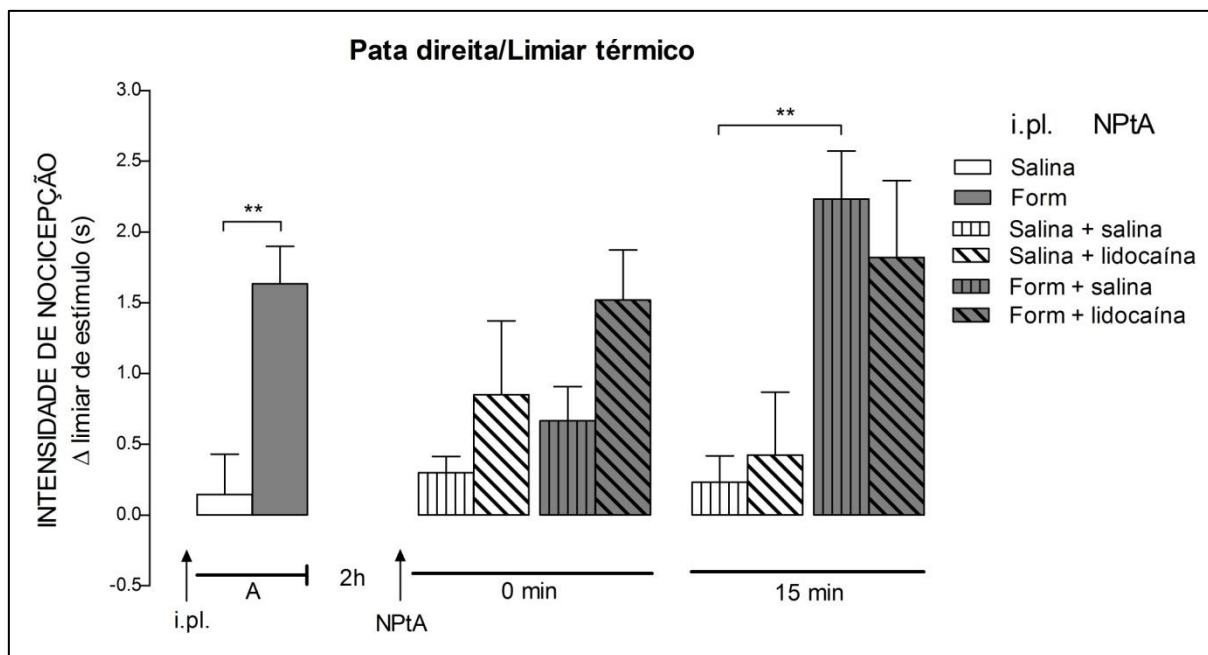


Figura 67. Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica primária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata direita antes da injeção intraplantar (i.pl.). Após a injeção de formalina ou salina (50 μ l) na superfície dorsal da pata direita, foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (**A**). Duas horas após a injeção i.pl., lidocaína 2% ou salina foram microinjetados no NPtA esquerdo e novos limiares foram aferidos nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata direita antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. ** $P < 0,01$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.3.1.2.3 1 dia após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 68**.

A injeção de formalina 5% na pata direita (50 µl, grupo **form i.pl.**) causou drástica diminuição do limiar térmico desta pata, comparado com os animais com salina i.pl. (grupo **salina i.pl.**), que não foi observada 1 dia após a injeção. Um dia após a injeção i.pl. de salina ou de formalina, a microinjeção de lidocaína 2% (250 nl) no NPtA não alterou significativamente o limiar para estímulos térmicos, quando comparado com os animais microinjetados com salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+lidocaína NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+lidocaína NPtA**).

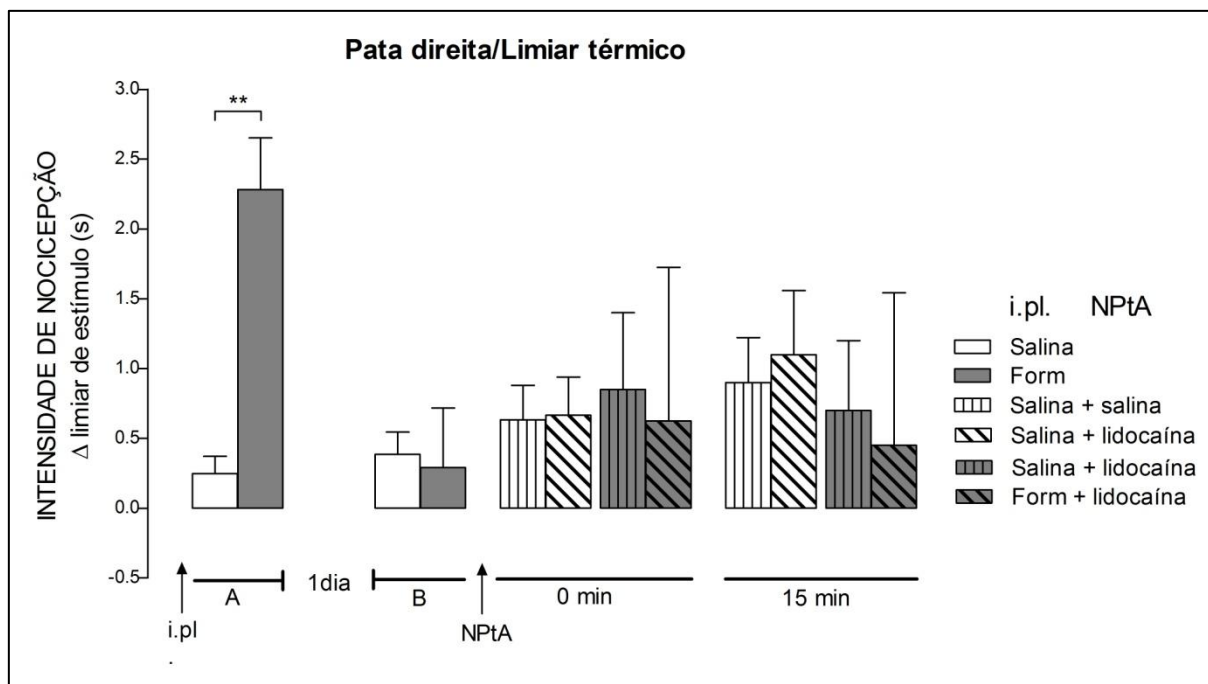


Figura 68. Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica primária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata direita antes da injeção intraplantar (i.pl.). Após a injeção de formalina ou salina (50 μ l) na superfície dorsal da pata direita, foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (**A**). Um dia após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na pata direita antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. ****** $P < 0,01$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.3.1.2.4 7 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 69**.

A injeção de formalina 5% na pata direita pata (50 µl, grupo **form i.pl.**) causou drástica diminuição do limiar térmico desta pata, comparado com os animais com salina i.pl. (grupo **salina i.pl.**), que não foi observada 7 dias após a injeção i.pl. Sete dias após a injeção i.pl. de salina ou de formalina, a microinjeção de lidocaína 2% (250 nl) no NPtA não alterou significativamente o limiar para estímulos térmicos, quando comparado com os animais com microinjeção com salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+lidocaína NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+lidocaína NPtA**).

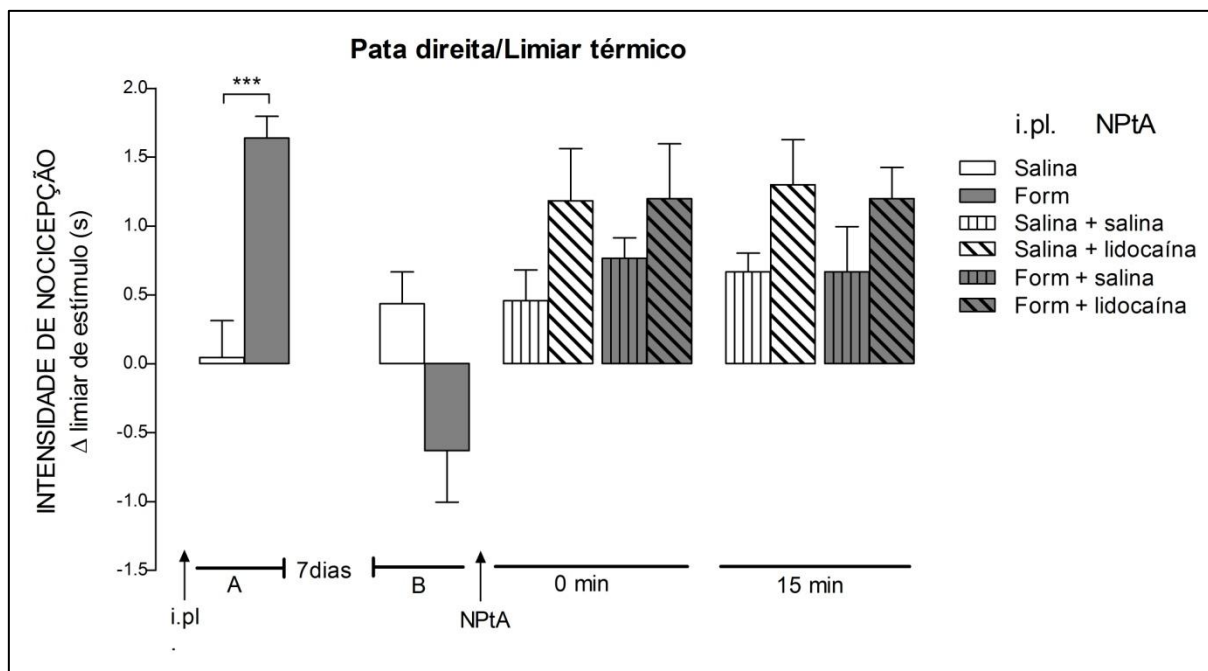


Figura 69. Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica primária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata direita antes da injeção intraplantar (i.pl.). Após a injeção de formalina ou salina (50 μ l) na superfície dorsal da pata direita, foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (**A**). Sete dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na pata direita antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.3.1.2.5 14 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 70**.

A injeção de formalina 5% na pata direita (50 µl, grupo **form i.pl.**) causou drástica diminuição do limiar para estímulos térmicos nesta pata, comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.**), que não foi observada 14 dias após a injeção. Catorze dias após a injeção i.pl. de salina ou de formalina, a microinjeção de lidocaína 2% (250nl) no NPtA não alterou significativamente o limiar para estímulos térmicos, quando comparado com os animais com microinjeção com salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+lidocaína NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+lidocaína NPtA**).

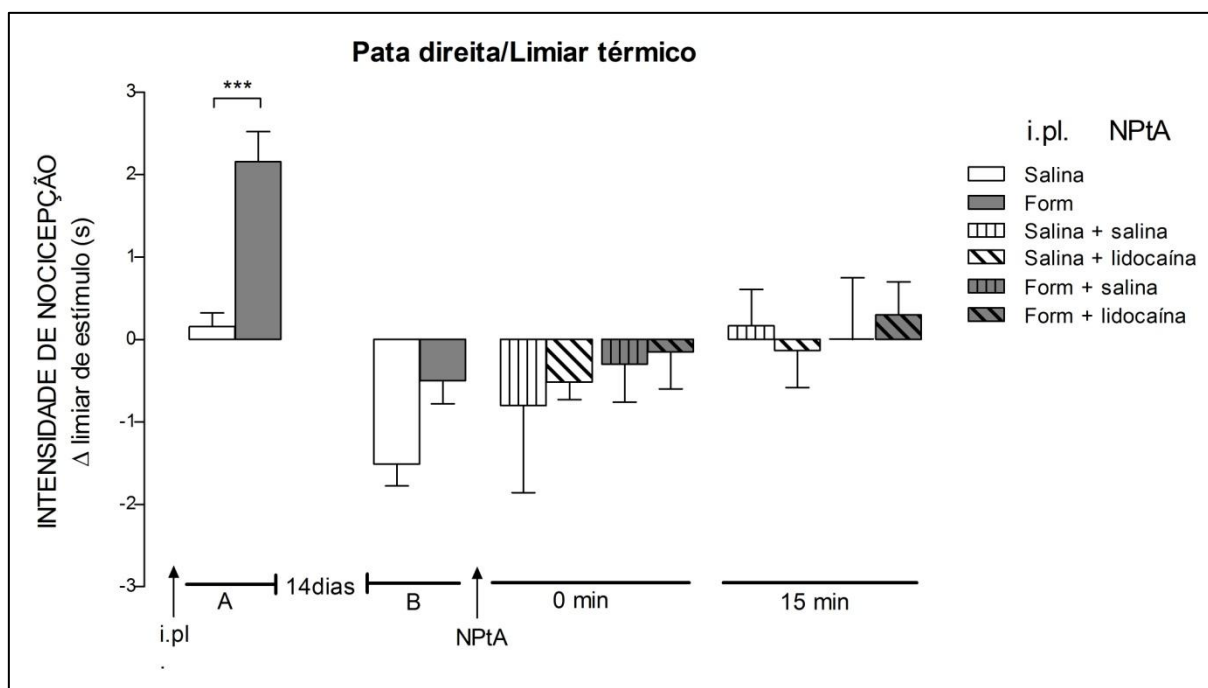


Figura 70. Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica primária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata direita antes da injeção intraplantar (i.pl.). Após a injeção de formalina ou salina (50 μ l) na superfície dorsal da pata direita, foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (**A**). 14 dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na pata direita antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.3.2 Pata esquerda (hiperalgesia secundária)

4.3.2.1 Limiar mecânico

4.3.2.1.1 Imediatamente após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 71**.

A microinjeção de lidocaína 2% (250 nl) no NPtA após a injeção de salina (50 µl) na pata direita (grupo **salina i.pl.+lidocaína NPtA**) não apresentou mudanças significativas no limiar mecânico da pata esquerda quando comparado com animais controle (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita seguida pela microinjeção de salina no NPtA (grupo **formalina i.pl.+salina NPtA**) diminuiu de forma significativa o limiar mecânico da pata esquerda, comparado com animais controle (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). A microinjeção de lidocaína 2% no NPtA após a injeção de formalina na pata direita (grupo **formalina i.pl.+lidocaína NPtA**), não alterou de forma significativa o limiar mecânico da pata esquerda quando comparado com os animais com formalina i.pl. e microinjeção de salina no NPtA (**formalina i.pl.+salina NPtA**).

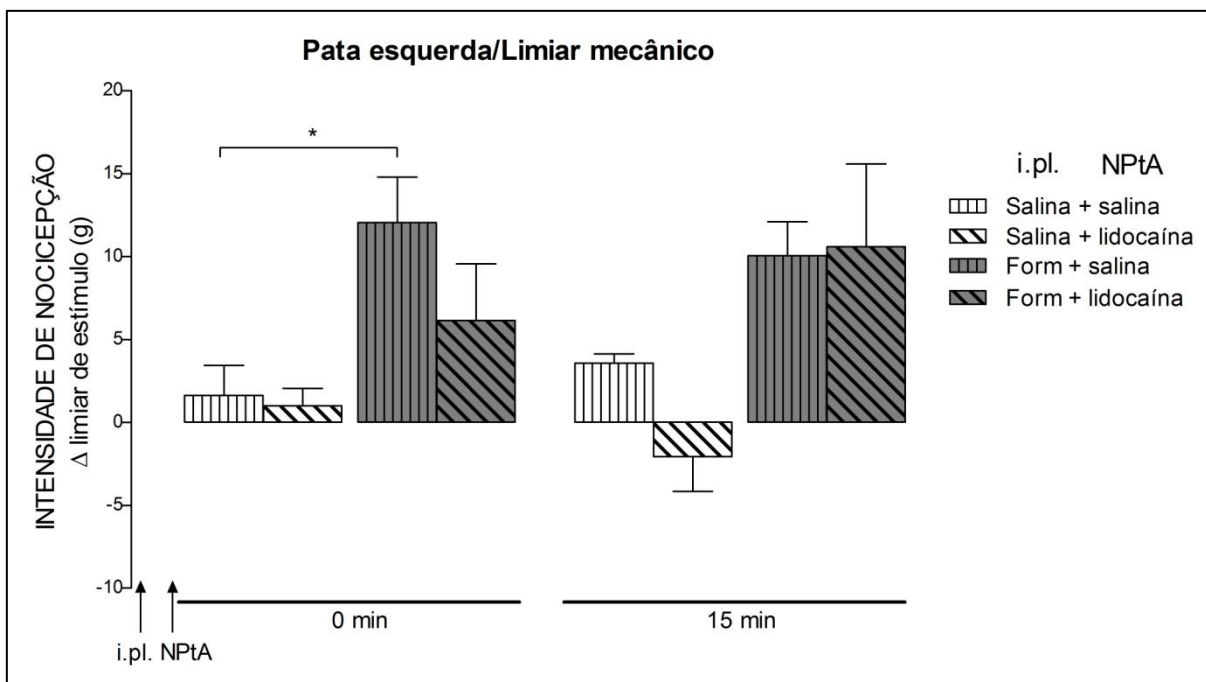


Figura 71. Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata esquerda antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após a injeção i.pl. foi feita microinjeção de lidocaína 2% ou salina no NPtA esquerdo e os limiares da pata esquerda foram aferidos novamente nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata esquerda antes da injeção i.pl. na pata direita e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.3.2.1.2 2 horas após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 72**.

A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita (grupo **form i.pl.**) causou drástica e imediata diminuição no limiar mecânico da pata esquerda, comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.**), que se prolongou até 2 horas após a injeção i.pl. (grupo **form i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+salina NPtA**). 2 horas após as injeções de salina ou de formalina na pata direita, a microinjeção de lidocaína 2% (250 nl) no NPtA não alterou o limiar mecânico da pata esquerda, comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+lidocaína NPtA** x **salina i.pl.+salina NPtA** e **form i.pl.+lidocaína NPtA** x **form i.pl.+salina NPtA**).

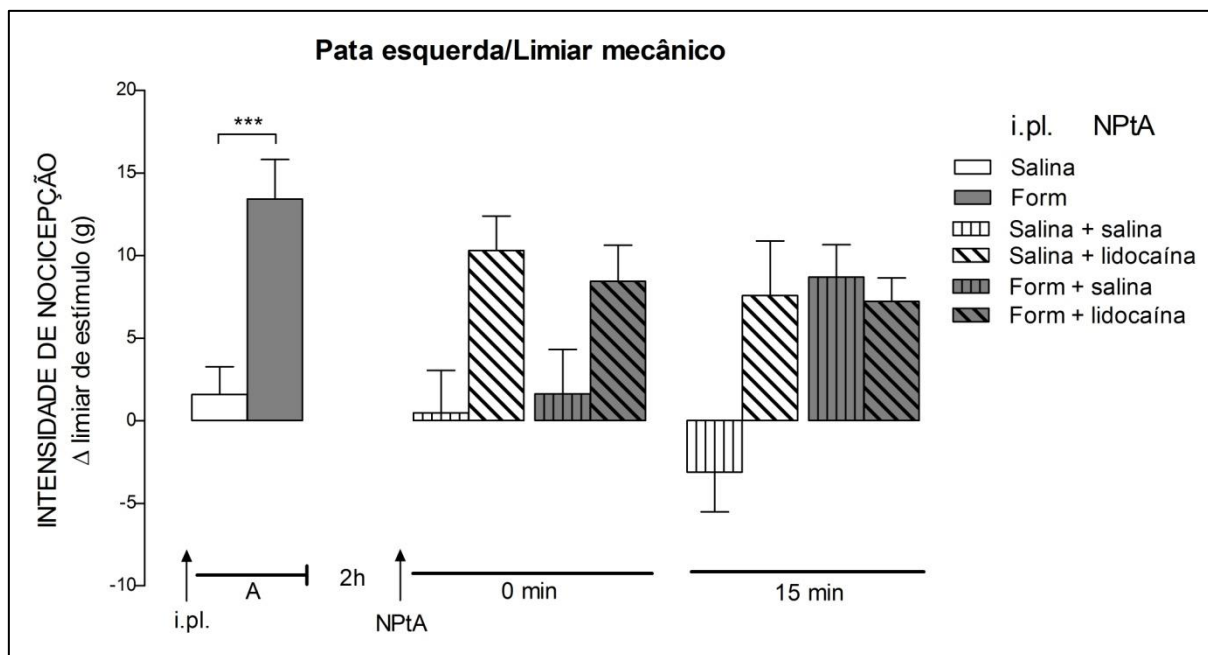


Figura 72. Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata esquerda antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (**A**). 2 horas após a injeção i.pl. foi feita microinjeção de lidocaína 2% ou salina no NPtA esquerdo e os limiares da pata esquerda foram aferidos novamente nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata esquerda antes da injeção i.pl. na pata direita e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.3.2.1.3 1 dia após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 73**.

A injeção de formalina 5% na pata direita (50 µl, grupo **form i.pl.**) causou drástica diminuição do limiar mecânico da pata esquerda, comparado com os animais com salina i.pl. (grupo **salina i.pl.**), que se prolongou até 1 dia após a injeção i.pl. Um dia após a injeção de salina ou de formalina na pata direita, a microinjeção de lidocaína 2% (250 nl) no NPtA não alterou significativamente o limiar para estímulos mecânicos da pata esquerda, quando comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+lidocaína NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+lidocaína NPtA**).

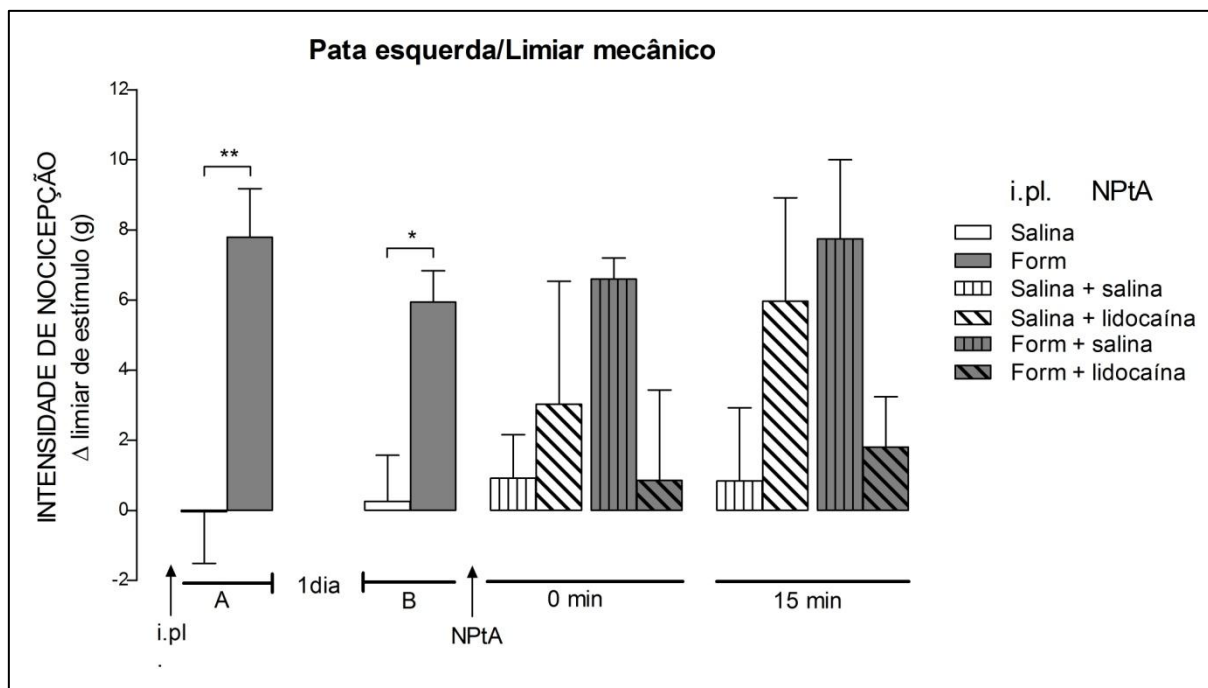


Figura 73. Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata esquerda antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (**A**). Um dia após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata esquerda antes da injeção i.pl. na pata direita e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.3.2.1.4 7 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 74**.

A injeção de formalina 5% na pata direita (50 µl, grupo **form i.pl.**) causou drástica diminuição do limiar mecânico da pata esquerda, comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.**), que não se prolongou até o 7º dia após a injeção. Sete dias após a injeção de salina ou de formalina na pata direita, a microinjeção de lidocaína 2% (250 nl) no NPtA não alterou significativamente o limiar para estímulos mecânicos da pata esquerda, quando comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+lidocaína NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+lidocaína NPtA**).

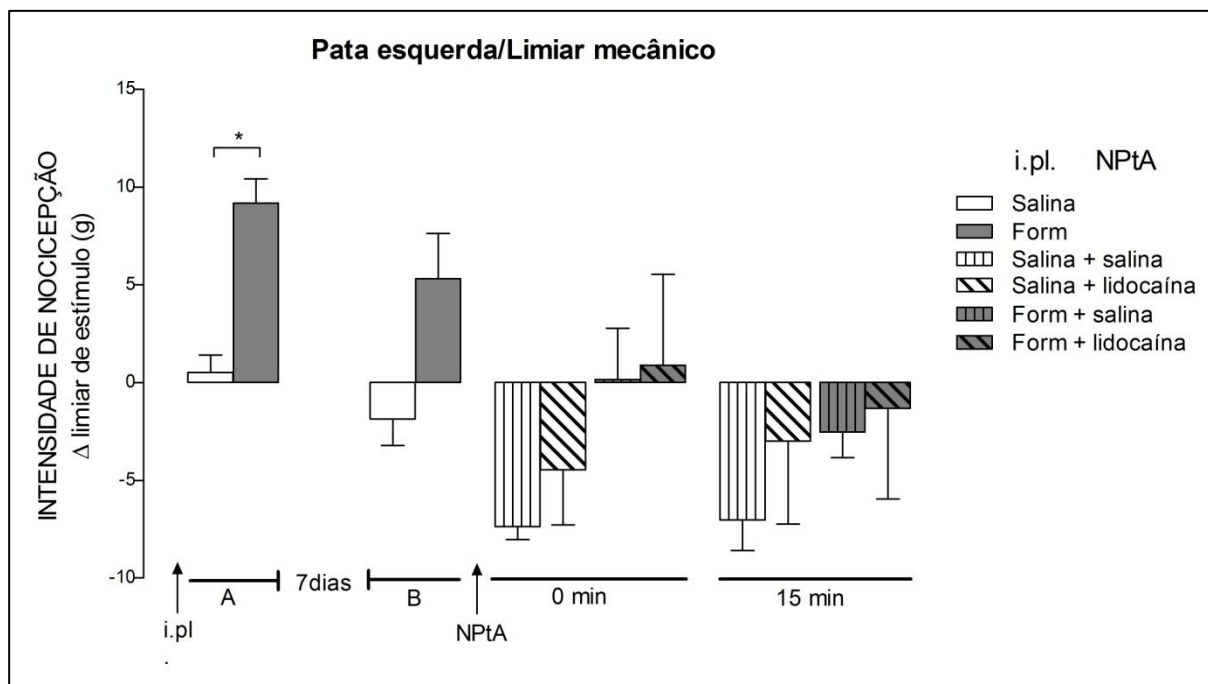


Figura 74. Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata esquerda antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (A). Sete dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (B) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata esquerda antes da injeção i.pl. na pata direita e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.3.2.1.5 14 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 75**.

A injeção de formalina 5% na pata direita (50 µl, grupo **form i.pl.**) causou drástica diminuição do limiar mecânico da pata esquerda, comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.**), que não se prolongou até o 14º dia após a injeção. Catorze dias após a injeção de salina ou de formalina na pata direita, a microinjeção de lidocaína 2% (250 nl) no NPtA não alterou significativamente o limiar para estímulos mecânicos da pata esquerda, quando comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+lidocaína NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+lidocaína NPtA**).

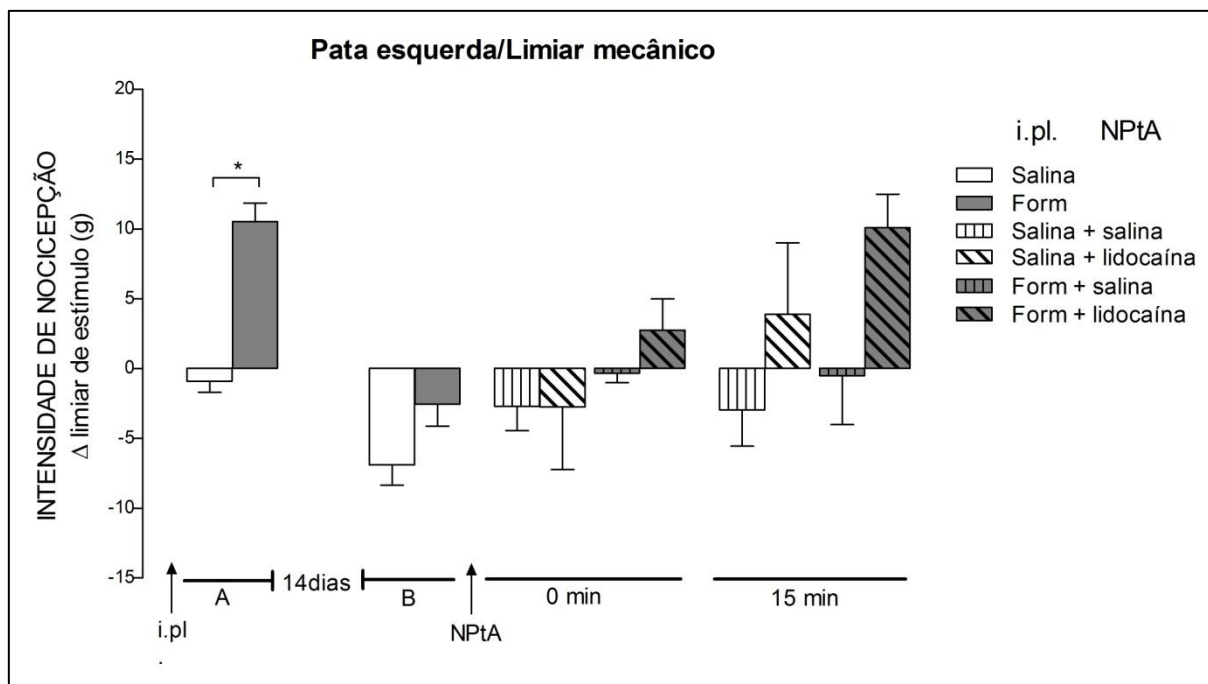


Figura 75. Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata esquerda antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (**A**). 14 dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na pata esquerda antes da injeção i.pl. na pata direita e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.3.2 Pata esquerda (hiperalgesia secundária)

4.3.2.2 Limiar térmico

4.3.2.2.1 Imediatamente após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 76**.

A injeção de 50 µl de formalina 5% na pata direita seguida pela microinjeção de 250 nl de salina no NPtA (grupo **formalina i.pl.+salina NPtA**) não alterou de forma significativa o limiar térmico da pata esquerda, comparado com animais controle (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). Da mesma forma, a microinjeção de lidocaína 2% (250 nl) no NPtA após a injeção de salina ou de formalina na pata direita (grupo **salina i.pl.+lidocaína NPtA**) não apresentou mudanças significativas no limiar térmico da pata esquerda quando comparado com os animais com injeção i.pl. de salina e microinjeção de salina no NPtA (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**).

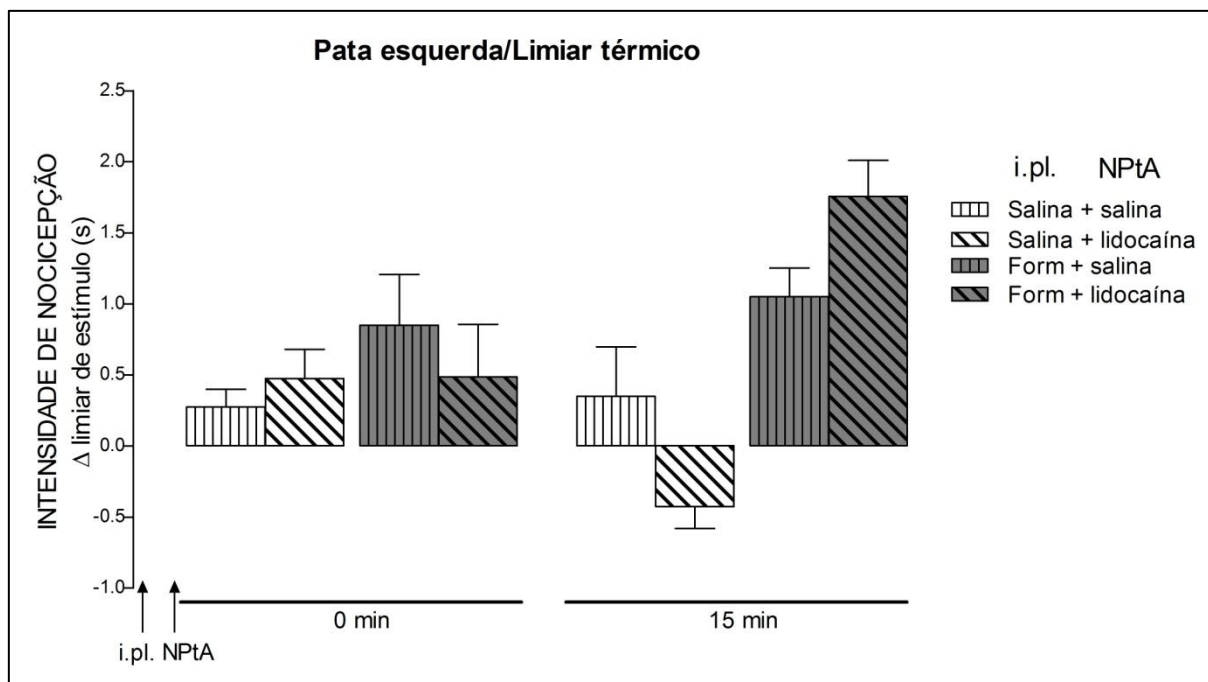


Figura 76. Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata esquerda antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após a injeção i.pl. foi feita microinjeção de lidocaína 2% ou salina no NPtA esquerdo e os limiares da pata esquerda foram aferidos novamente nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na pata esquerda antes da injeção i.pl. na pata direita e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo.

4.3.2.2.2. 2 horas após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 77**.

A injeção de formalina 5% na pata direita (50 µl, grupo **form i.pl.**) não mudou o limiar térmico da pata esquerda, comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.**). Da mesma forma, 2 horas após a injeção de salina ou de formalina na pata direita, a microinjeção de lidocaína 2% (250 nl) no NPtA não alterou significativamente o limiar para estímulos térmicos da pata esquerda, quando comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+lidocaína NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+lidocaína NPtA**).

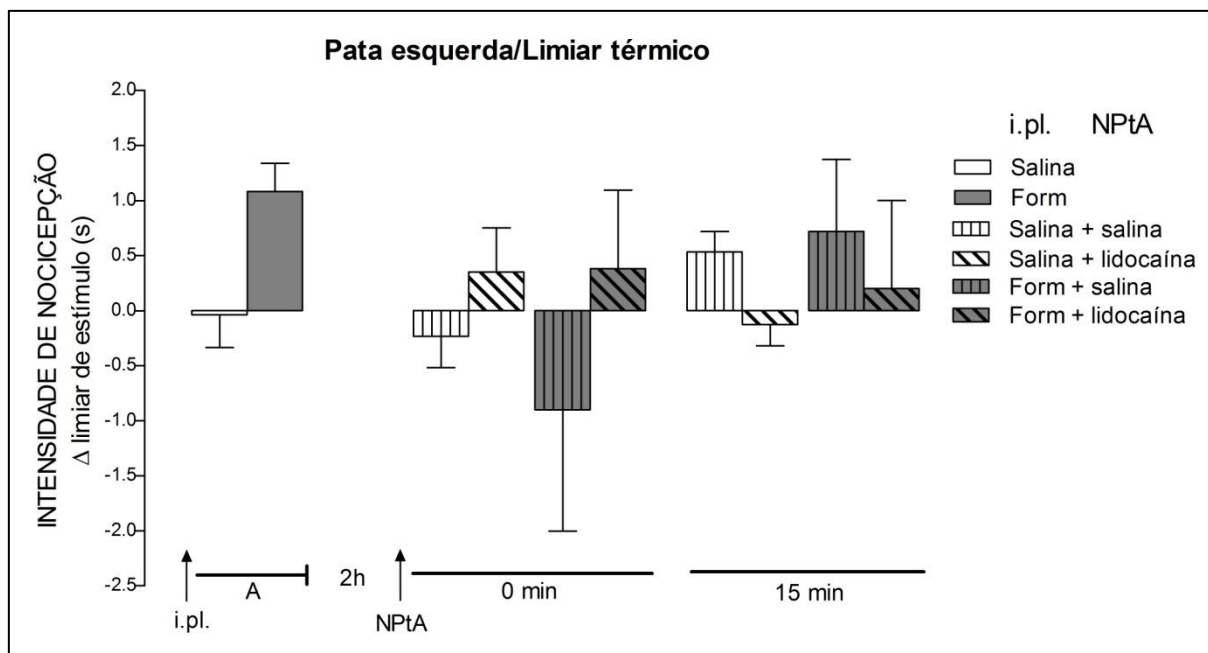


Figura 77. Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata esquerda antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (**A**). 2 horas após a injeção i.pl. foi feita microinjeção de lidocaína 2% ou salina no NPtA esquerdo e os limiares da pata esquerda foram aferidos novamente nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na pata esquerda antes da injeção i.pl. na pata direita e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo.

4.3.2.2.3 1 dia após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 78**.

A injeção de formalina 5% na pata direita (50 µl, grupo **form i.pl.**) não mudou o limiar térmico da pata esquerda, comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.**). Da mesma forma, 1 dia após a injeção de salina ou de formalina na pata direita, a microinjeção de lidocaína 2% (250 nl) no NPtA não alterou significativamente o limiar para estímulos térmicos da pata esquerda, quando comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+lidocaína NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+lidocaína NPtA**).

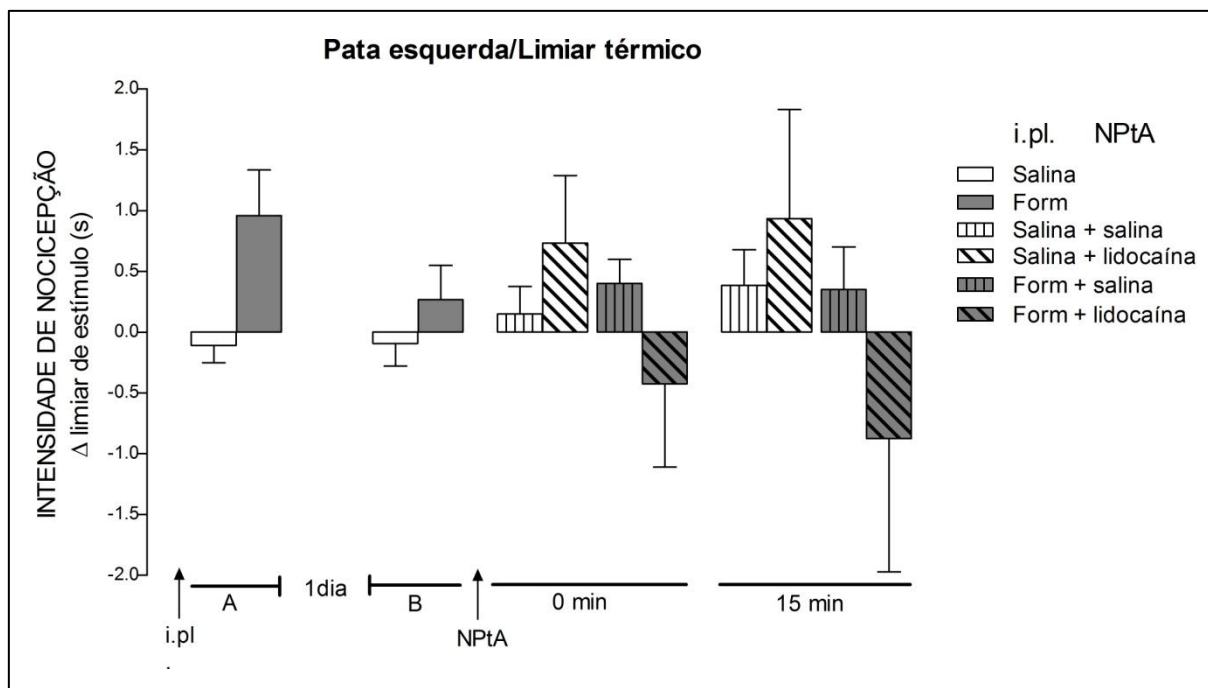


Figura 78. Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata esquerda antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (**A**). Um dia após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na pata esquerda antes da injeção i.pl. na pata direita e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo.

4.3.2.2.4 7 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 79**.

A injeção de formalina 5% na pata direita (50 µl, grupo **form i.pl.**) não mudou o limiar térmico da pata esquerda, comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.**). Da mesma forma, 7 dias após a injeção de salina ou de formalina na pata direita, a microinjeção de lidocaína 2% (250 nl) no NPtA não alterou significativamente o limiar para estímulos térmicos da pata esquerda, quando comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+lidocaína NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+lidocaína NPtA**).

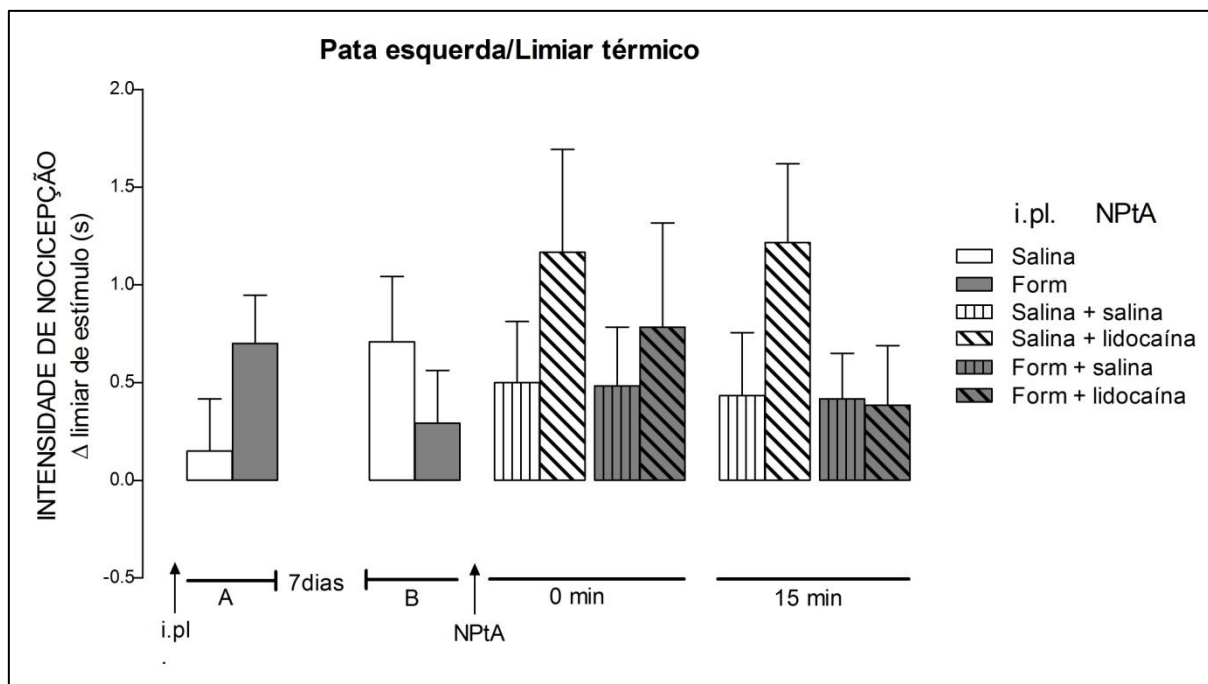


Figura 79. Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata esquerda antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (**A**). Sete dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na pata esquerda antes da injeção i.pl. na pata direita e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo.

4.3.2.2.5 14 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 80**.

A injeção de formalina 5% na pata direita (50 µl, grupo **form i.pl.**) não mudou o limiar térmico da pata esquerda, comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.**). Da mesma forma, 14 dias após a injeção de salina ou de formalina na pata direita, a microinjeção de lidocaína 2% (250 nl) no NPtA não alterou significativamente o limiar para estímulos térmicos da pata esquerda, quando comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+lidocaína NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+lidocaína NPtA**).

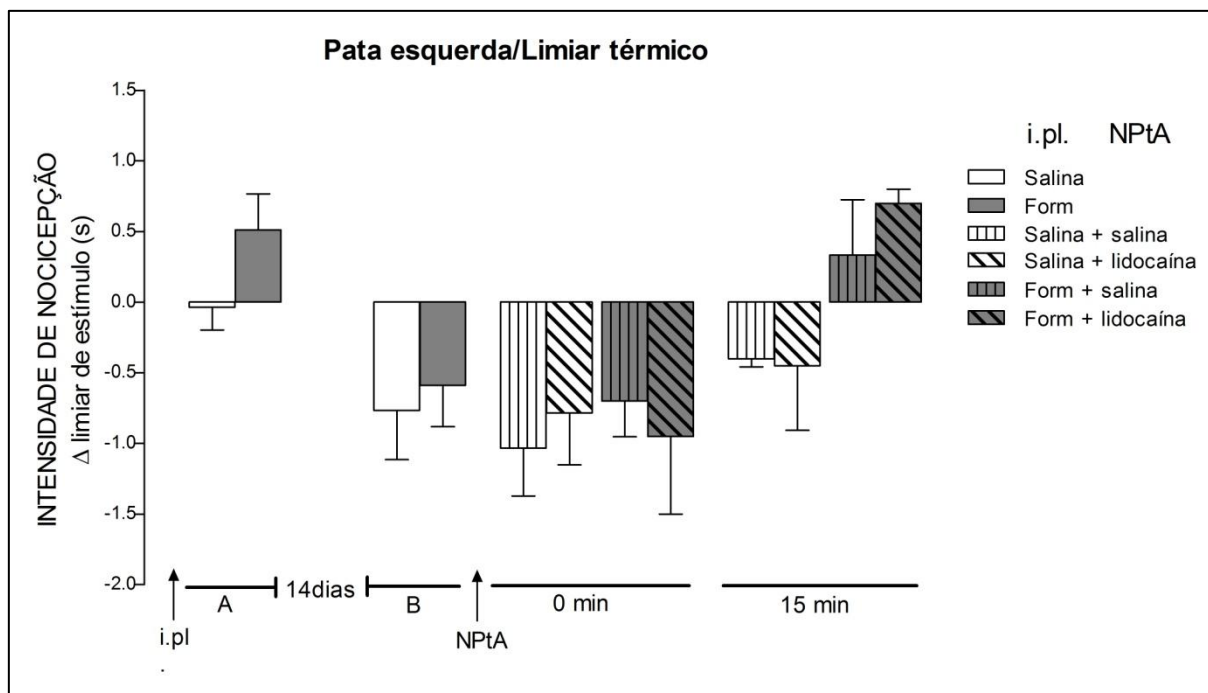


Figura 80. Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície plantar da pata esquerda antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (**A**). Catorze dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na pata esquerda antes da injeção i.pl. na pata direita e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo.

4.3.3 Cauda (hiperalgesia secundária)

4.3.3.2. Limiar mecânico

4.3.3.2.1. Imediatamente após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 81**.

A injeção de 50 µl de formalina 5% na pata direita seguida pela microinjeção de 250 nl de salina no NPtA (grupo **formalina i.pl.+salina NPtA**) não alterou de forma significativa o limiar mecânico da cauda, comparado com animais controle (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). Da mesma forma, a microinjeção de lidocaína 2% (250 nl) no NPtA após a injeção de salina ou de formalina na pata direita (grupo **salina i.pl.+lidocaína NPtA**) não apresentou mudanças significativas no limiar mecânico da cauda quando comparado com os animais com injeção i.pl. de salina e microinjeção de salina no NPtA (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**).

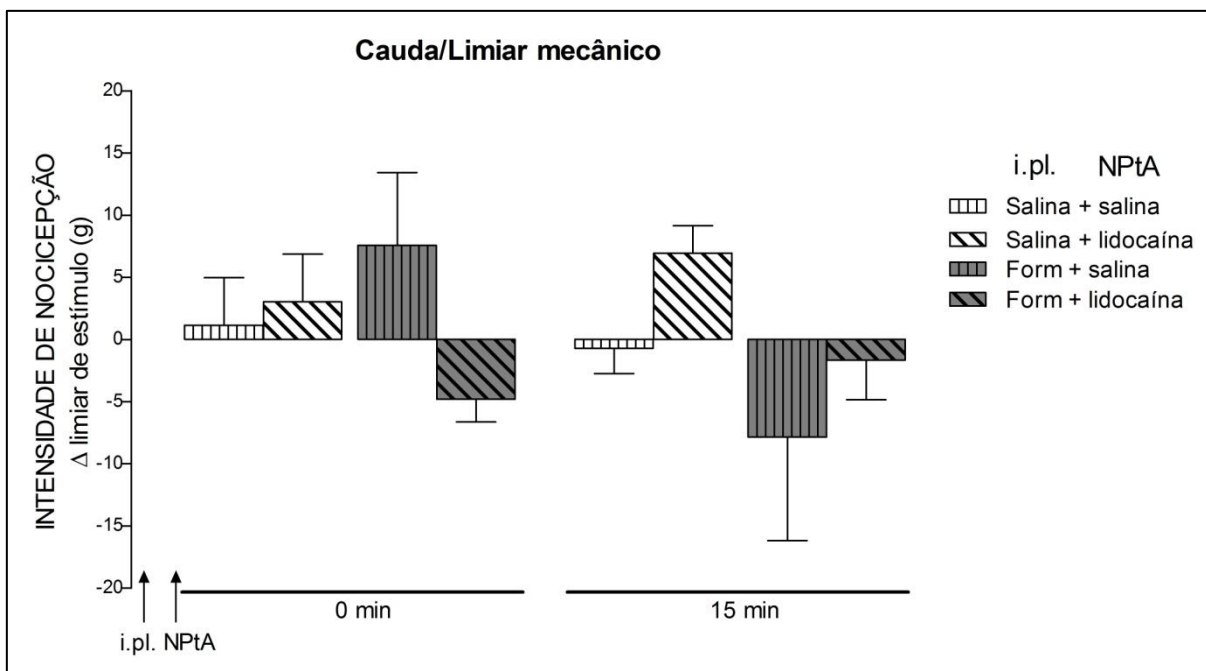


Figura 81. Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície dorsal da cauda, a 5 cm da extremidade, antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após a injeção i.pl. foi feita microinjeção de lidocaína 2% ou salina no NPtA esquerdo e os limiares da cauda foram aferidos novamente nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na cauda antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo.

4.3.3.2.2 2 horas após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 82**.

A injeção de formalina 5% na pata direita (50 µl, grupo **form i.pl.**) não mudou o limiar mecânico da cauda, comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.**). Da mesma forma, 2 horas após a injeção de salina ou de formalina na pata direita, a microinjeção de lidocaína 2% (250 nl) no NPtA não alterou significativamente o limiar para estímulos mecânicos da cauda, quando comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+lidocaína NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+lidocaína NPtA**).

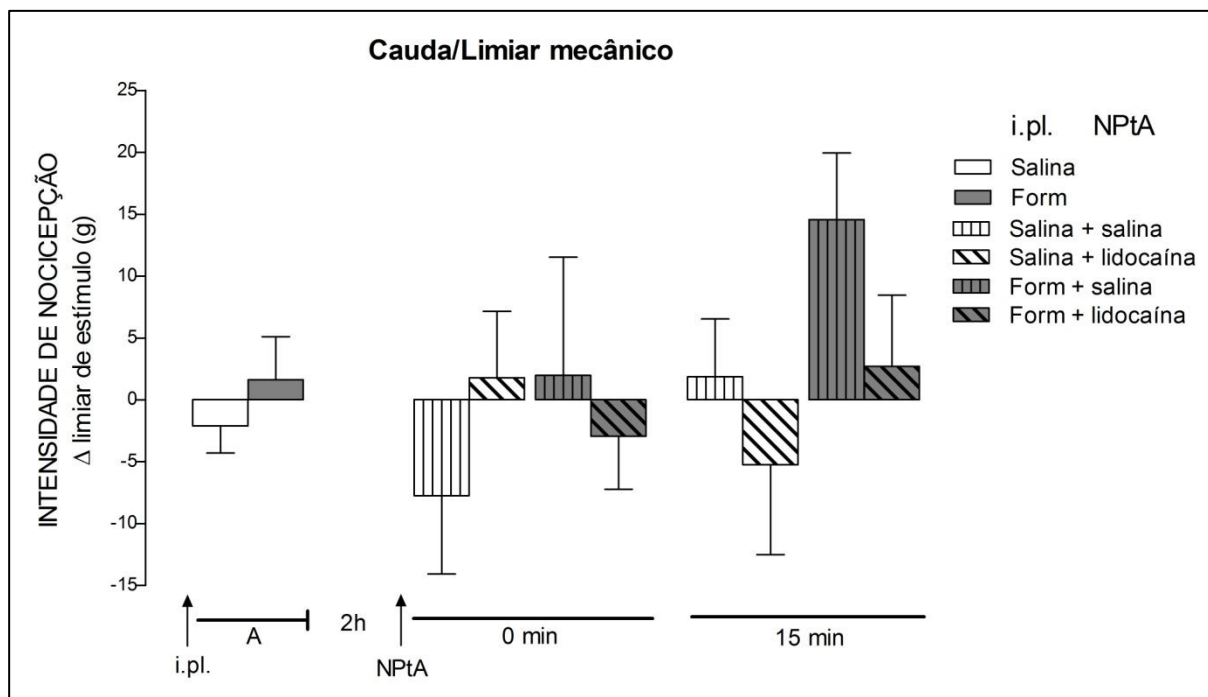


Figura 82. Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície dorsal da cauda, a 5 cm da extremidade, antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (**A**). 2 horas após a injeção i.pl. foi feita microinjeção de lidocaína 2% ou salina no NPtA esquerdo e os limiares da cauda foram aferidos novamente nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na cauda antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo.

4.3.3.2.3 1 dia após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 83**.

A injeção de formalina 5% na pata direita (50 µl, grupo **form i.pl.**) não mudou o limiar mecânico da cauda, comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.**). Da mesma forma, 1 dia após a injeção de salina ou de formalina na pata direita, a microinjeção de lidocaína 2% (250 nl) no NPtA não alterou significativamente o limiar para estímulos mecânicos da cauda, quando comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+lidocaína NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+lidocaína NPtA**).

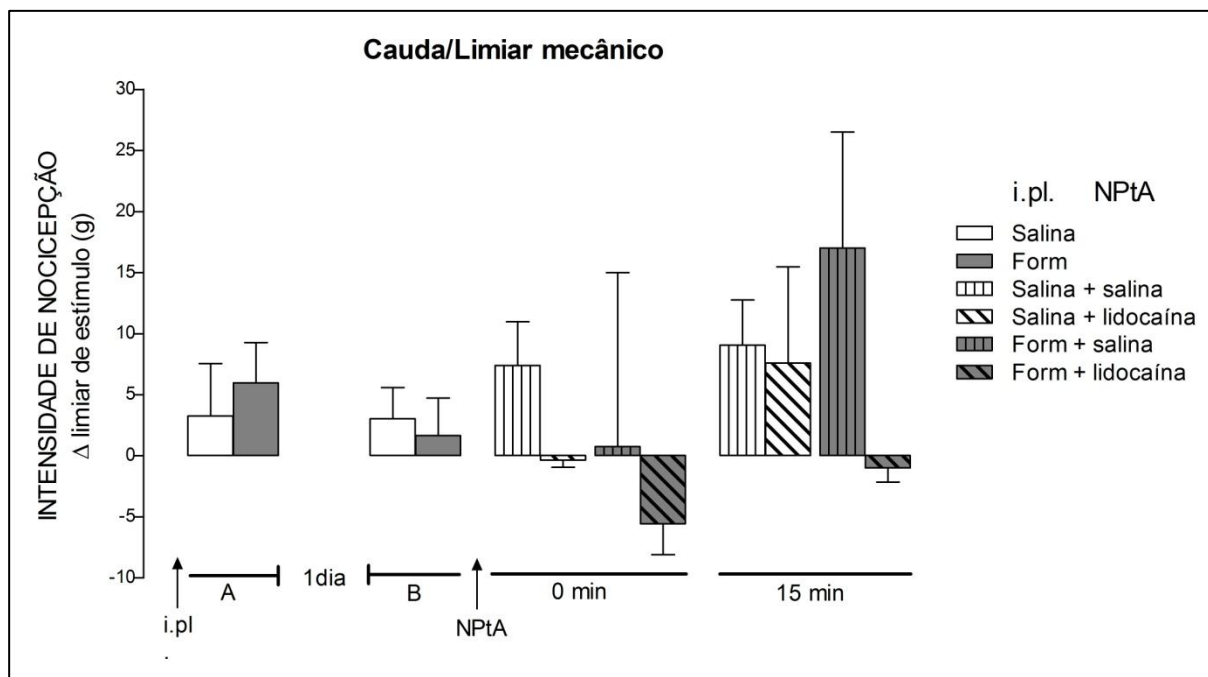


Figura 83. Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície dorsal da cauda, a 5 cm da extremidade, antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (**A**). Um dia após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na cauda antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo.

4.3.3.2.4 7 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 84**.

A injeção de formalina 5% na pata direita (50 µl, grupo **form i.pl.**) não mudou o limiar mecânico da cauda, comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.**). Da mesma forma, 7 dias após a injeção de salina ou de formalina na pata direita, a microinjeção de lidocaína 2% (250 nl) no NPtA não alterou significativamente o limiar para estímulos mecânicos da cauda, quando comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+lidocaína NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+lidocaína NPtA**).

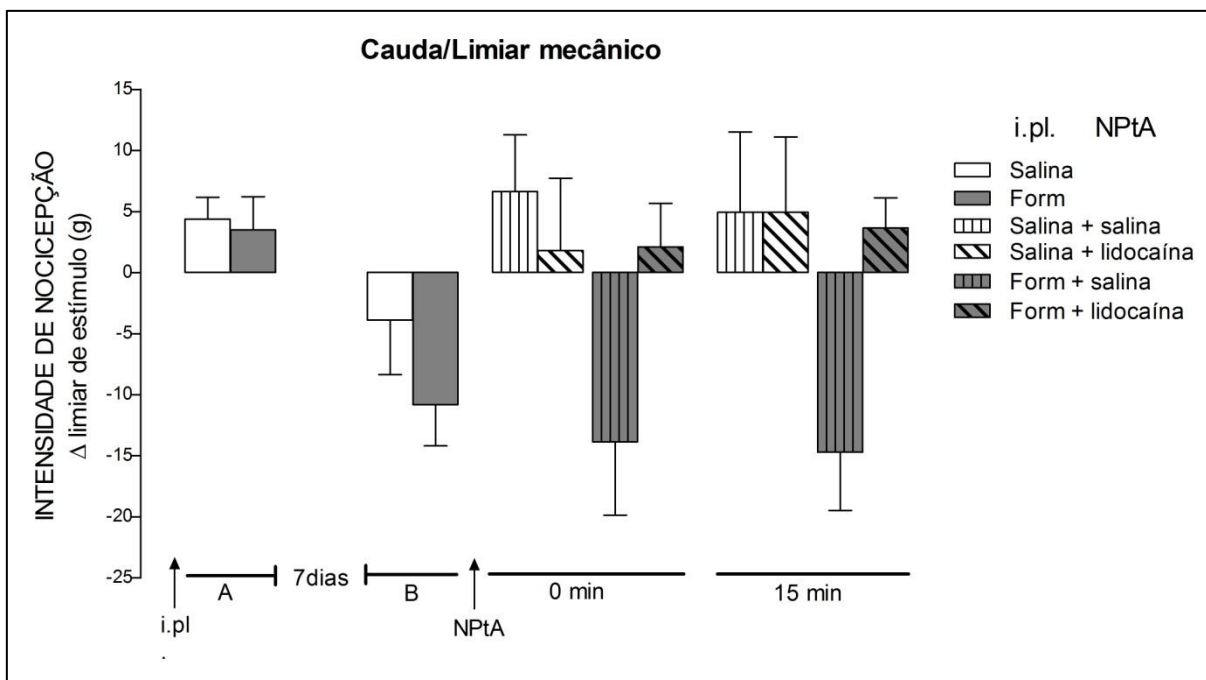


Figura 84. Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície dorsal da cauda, a 5 cm da extremidade, antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (**A**). Sete dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na cauda antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo.

4.3.3.2.5 14 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 85**.

A injeção de formalina 5% na pata direita (50 µl, grupo **form i.pl.**) não mudou o limiar mecânico da cauda, comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.**). Da mesma forma, 14 dias após a injeção de salina ou de formalina na pata direita, a microinjeção de lidocaína 2% (250 nl) no NPtA não alterou significativamente o limiar para estímulos mecânicos da cauda, quando comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+lidocaína NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+lidocaína NPtA**).

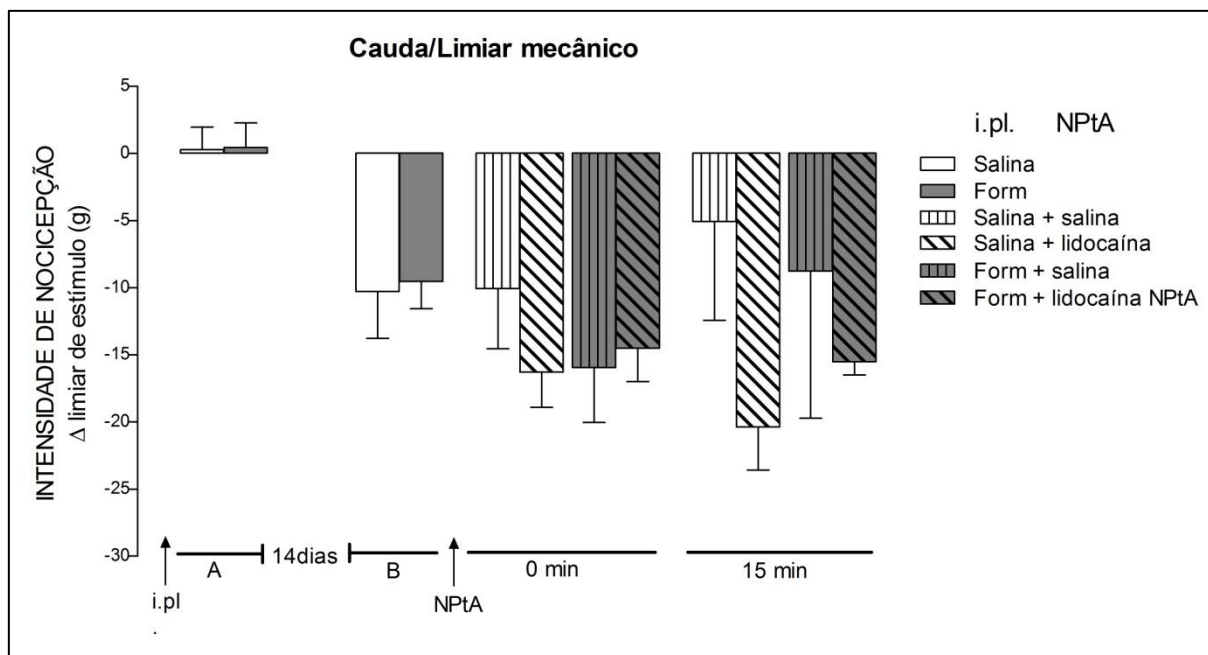


Figura 85. Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia mecânica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície dorsal da cauda, a 5 cm da extremidade, antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos mecânicos (**A**). 14 dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na cauda antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo.

4.3.3 Cauda (hiperalgesia secundária)

4.3.3.3 Limiar térmico

4.3.3.3.1 Imediatamente após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 86**.

A microinjeção de lidocaína 2% (250 nl) após a injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.+lidocaína NPtA**) diminuiu discretamente o limiar térmico da cauda comparado com os animais com injeção i.pl. de salina e microinjeção de 250 nl de salina no NPtA (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). A injeção de formalina 5% (50 µl) na pata direita seguida pela microinjeção de salina no NPtA (grupo **formalina i.pl.+salina NPtA**) não mudou esses limiares, comparado com os animais com salina i.pl. e microinjeção de salina no NPtA (grupo **salina i.pl.+salina NPtA**). A microinjeção de lidocaína 2% no NPtA após a injeção de formalina na pata (grupo **formalina i.pl.+lidocaína NPtA**), diminuiu de forma significativa o limiar térmico da cauda quando comparado com os animais com formalina i.pl. e microinjeção de salina no NPtA (**formalina i.pl.+salina NPtA**).

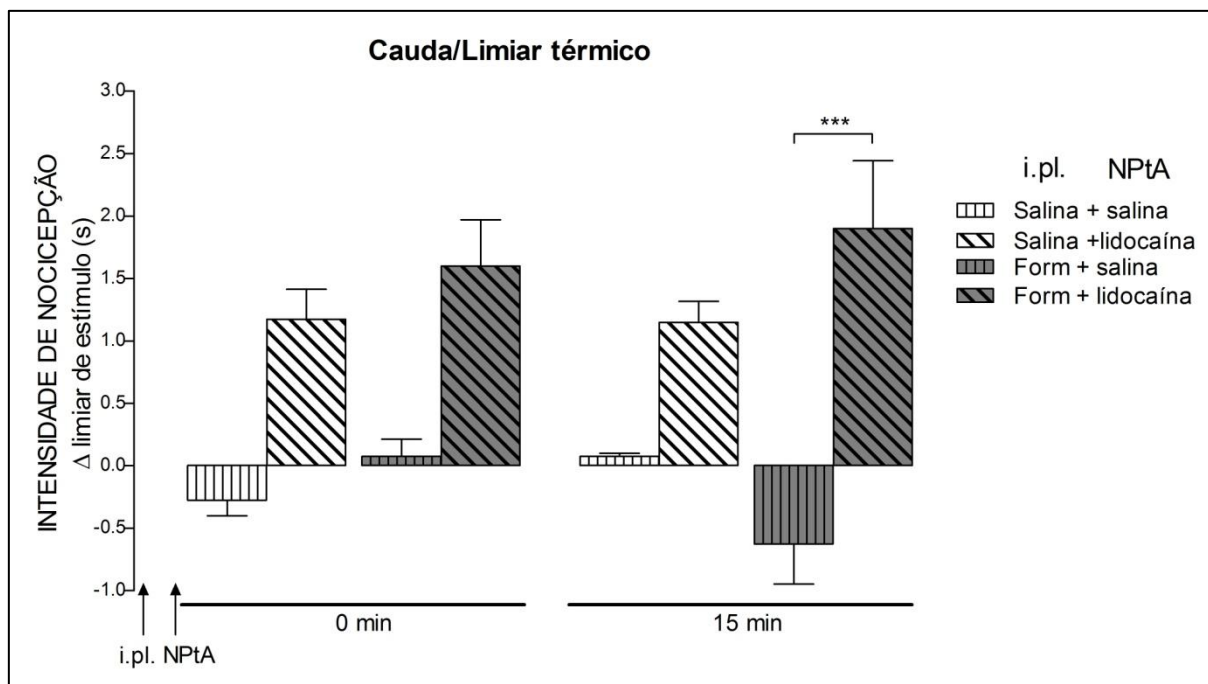


Figura 86. Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície ventral da cauda, entre 2 e 3 cm da extremidade, antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após a injeção i.pl. foi feita microinjeção de lidocaína 2% ou salina no NPtA esquerdo e os limiares da cauda foram aferidos novamente nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na cauda antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.3.3.3.2 2 horas após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 87**.

A injeção de formalina 5% na pata direita (50 µl, grupo **form i.pl.**) não mudou o limiar térmico da cauda, comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.**). Da mesma forma, 2 horas após a injeção de salina ou de formalina na pata direita, a microinjeção de lidocaína 2% (250 nl) no NPtA não alterou significativamente o limiar para estímulos térmicos da cauda, quando comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+lidocaína NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+lidocaína NPtA**).

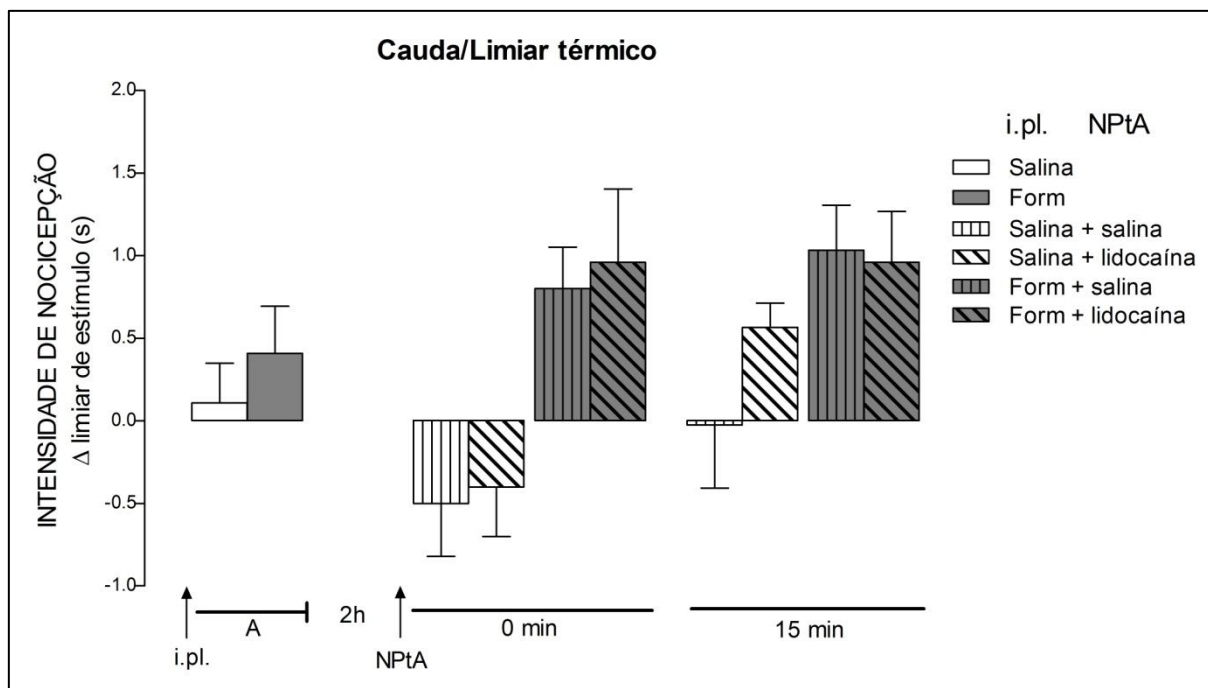


Figura 87. Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície ventral da cauda, entre 2 e 3 cm da extremidade, antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (**A**). 2 horas após a injeção i.pl. foi feita microinjeção de lidocaína 2% ou salina no NPtA esquerdo e os limiares da cauda foram aferidos novamente nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos mecânicos aferido na cauda antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo.

4.3.3.3.3 1 dia após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 88**.

A injeção de formalina 5% na pata direita (50 µl, grupo **form i.pl.**) não mudou o limiar térmico da cauda, comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.**). Da mesma forma, 1 dia após a injeção de salina ou de formalina na pata direita, a microinjeção de lidocaína 2% (250 nl) no NPtA não alterou significativamente o limiar para estímulos térmicos da cauda, quando comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+lidocaína NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+lidocaína NPtA**).

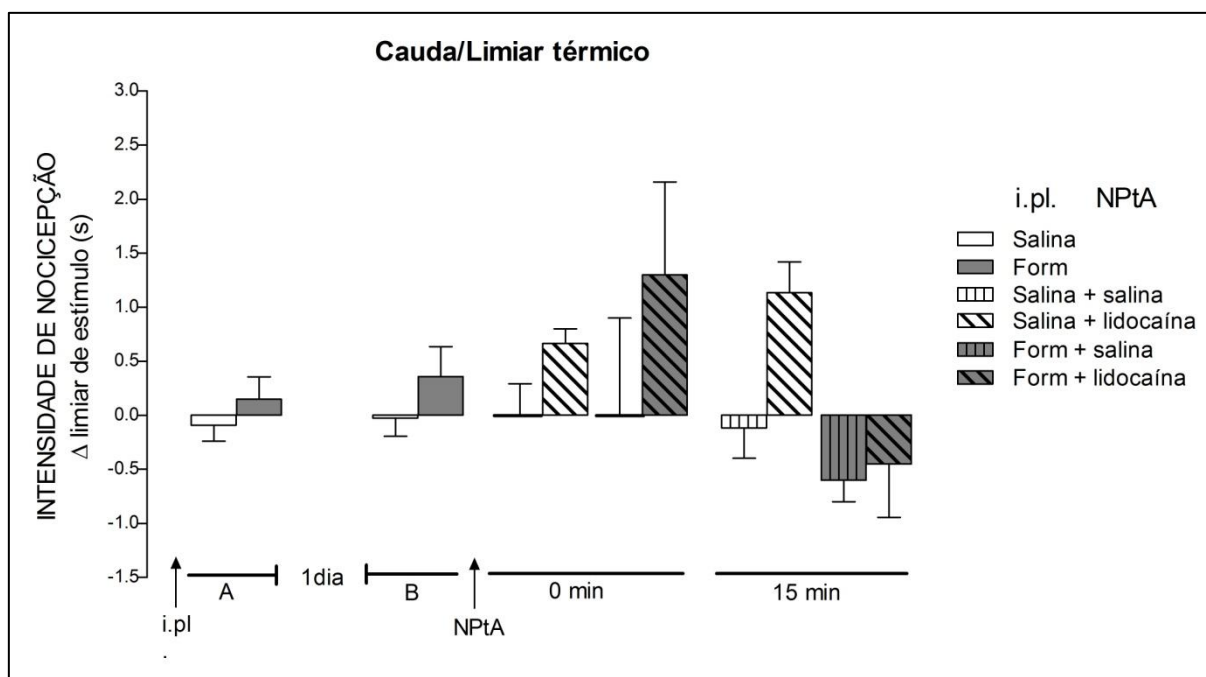


Figura 88. Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície ventral da cauda, entre 2 e 3 cm da extremidade, antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (**A**). Um dia após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na cauda antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo.

4.3.3.3.4 7 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 89**.

A injeção de formalina 5% na pata direita (50 µl, grupo **form i.pl.**) não mudou o limiar térmico da cauda, comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.**). Da mesma forma, 7 dias após a injeção de salina ou de formalina na pata direita, a microinjeção de lidocaína 2% (250 nl) no NPtA não alterou significativamente o limiar para estímulos térmicos da cauda, quando comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+lidocaína NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+lidocaína NPtA**).

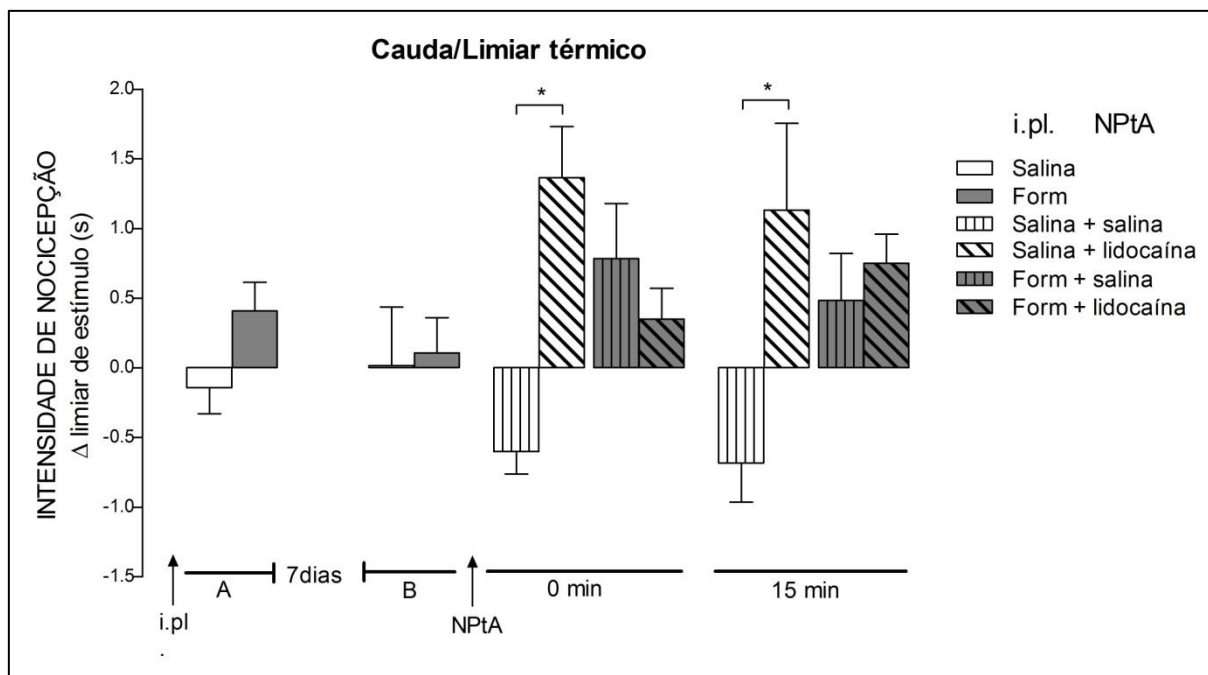


Figura 89. Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície ventral da cauda, entre 2 e 3 cm da extremidade, antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (**A**). Sete dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na cauda antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo. * $P < 0,05$ (One-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey).

4.3.3.3.5 14 dias após a injeção i.pl. de formalina

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 90**.

A injeção de formalina 5% na pata direita (50 µl, grupo **form i.pl.**) não mudou o limiar térmico da cauda, comparado com os animais com injeção i.pl. de salina (grupo **salina i.pl.**). Da mesma forma, 14 dias após a injeção de salina ou de formalina na pata direita, a microinjeção de lidocaína 2% (250 nl) no NPtA não alterou significativamente o limiar para estímulos térmicos da cauda, quando comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA (grupos **salina i.pl.+salina NPtA** x **salina i.pl.+lidocaína NPtA** e **form i.pl.+salina NPtA** x **form i.pl.+lidocaína NPtA**).

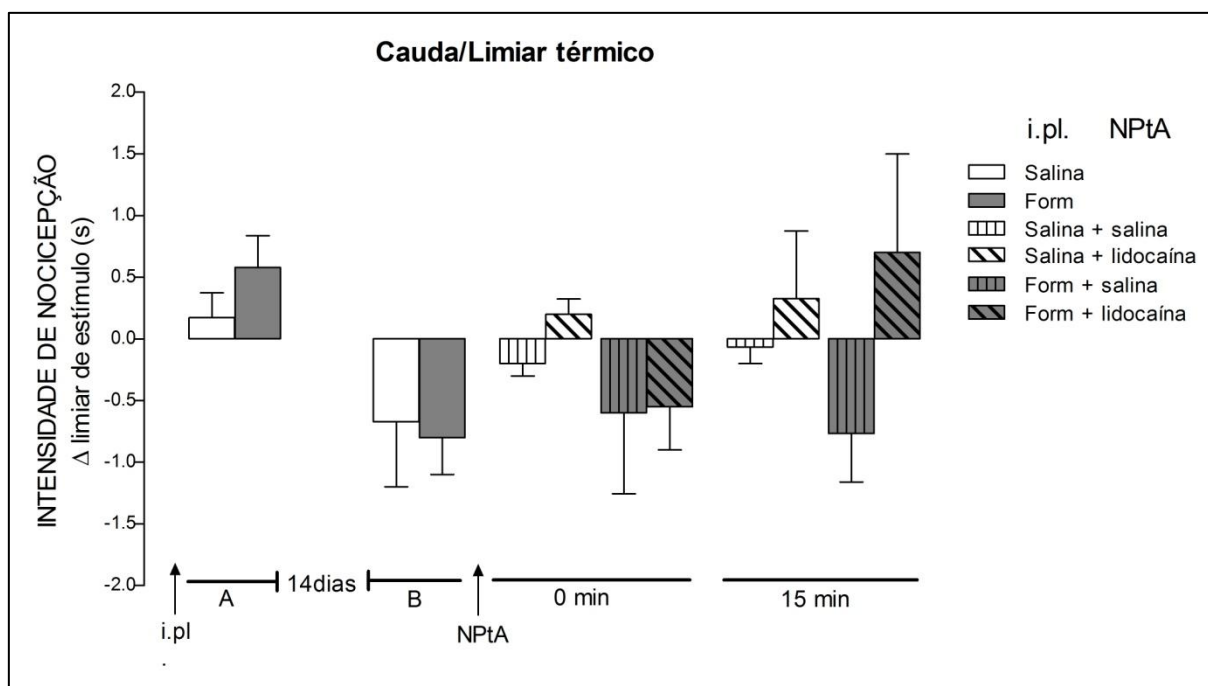


Figura 90. Efeitos da microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) ou de salina (250 nl) no NPtA esquerdo sobre a hiperalgesia térmica secundária, causada pela injeção de formalina 5% (50 μ l) na pata direita de ratos. Os limiares basais, dos quais todas as outras medidas foram subtraídas para obtenção do Δ , foram aferidos na superfície ventral da cauda, entre 2 e 3 cm da extremidade, antes da injeção intraplantar (i.pl.) de salina ou formalina na superfície dorsal da pata direita. Após injeção i.pl. foi feita nova medida do limiar para estímulos térmicos (**A**). 14 dias após a injeção i.pl. os limiares foram aferidos antes (**B**) e nos tempos **0 min** e **15 min** após a microinjeção de lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo.

Barras indicam média \pm EPM da diferença entre o limiar para estímulos térmicos aferido na cauda antes da injeção i.pl. e aqueles aferidos nos diversos momentos do experimento de 5-7 animais por grupo.

4.4 Imunorreatividade a c-Fos na lâminas I/II e V do corno dorsal da medula espinal decorrentes de estimulação mecânica ou térmica periférica, e microinjeção de lidocaína (2%, 250 nl) glutamato (5 ou 50 nmol/250 nl), DAMGO (311 pmol/250 nl) ou salina no NPtA esquerdo imediatamente após a injeção intraplantar de formalina 5%

4.4.1 Estímulo mecânico

4.4.1.1 Lâminas I/II ipsilateral

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 91**.

A injeção de formalina (50 µl) na pata direita seguida pela microinjeção de salina (250 nl) no NPtA esquerdo e estimulação mecânica nas patas posteriores e na cauda provocou aumento não significativo do número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² nas lâminas I/II do corno dorsal da medula espinal no lado direito, quando comparado com os animais que, ao invés de formalina, receberam injeção i.pl. de salina (50 µl). Nas mesmas condições, a microinjeção de DAMGO (311 pmol/250 nl) no NPtA, de animais tratados com formalina i.pl., diminuiu de forma significativa o número de células c-Fos imunorreativas quando comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA e injeção i.pl. de formalina. Por outro lado, a microinjeção de glutamato (50 nmol/250nl) ou lidocaína 2% (250 nl) no NPtA de animais tratados com formalina i.pl. não alterou de forma significativa a imunorreatividade a c-Fos nestas lâminas. Da mesma forma, a microinjeção de glutamato (5 nmol/250 nl) no NPtA após a injeção de salina i.pl. não alterou a imunorreatividade a c-Fos quando comparada aos animais com microinjeção de salina no NPtA e salina na pata.

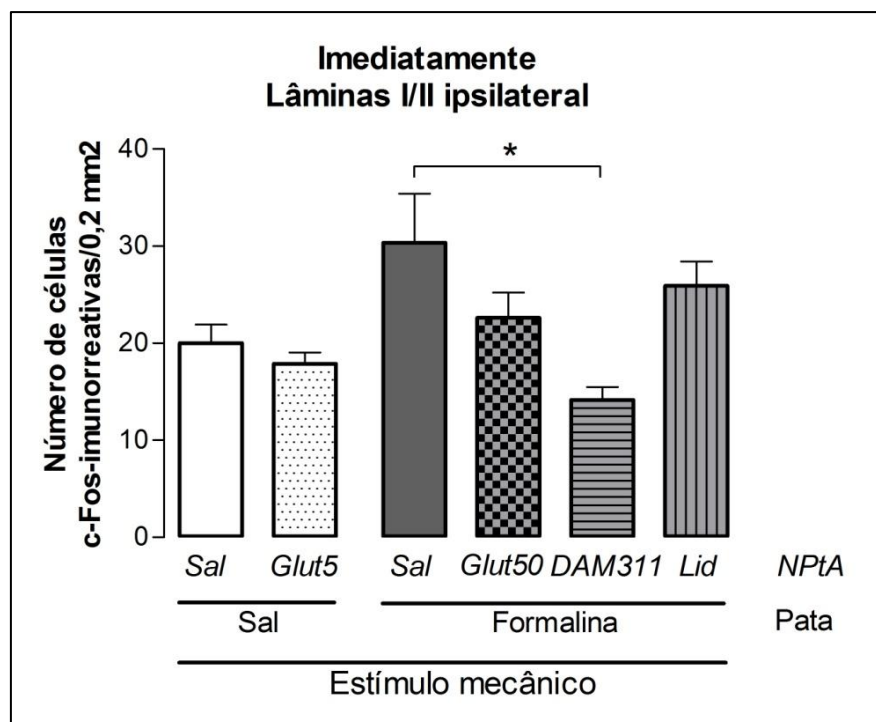


Figura 91. Número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² nas lâminas I/II do corno dorsal da medula espinal no lado direito. Após injeção de 50 µl de formalina 5% ou de salina na pata direita os animais receberam microinjeção de 250 nl de glutamato (5 ou 50 nmol), DAMGO (311 pmol), lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo e estimulação mecânica das patas posteriores e da cauda. Barras indicam média ± EPM de 4-5 animais por grupo. *P<0,05 (One-way ANOVA seguida pelo teste de Newman-Keuls).

4.4.1.2 Lâminas I/II contralateral

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 92**.

A injeção de formalina (50 µl) na pata direita seguida pela microinjeção de salina (250 nl) no NPtA esquerdo e estimulação mecânica nas patas posteriores e cauda não provocou mudanças significativas do número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² nas lâminas I/II do corno dorsal da medula espinal no lado esquerdo, quando comparado com os animais que receberam injeção i.pl. de salina. Nas mesmas condições, quando DAMGO (311 pmol/250 nl) foi microinjetado no NPtA, após injeção i.pl. de formalina, houve significativo aumento do número de células c-Fos imunorreativas, quando comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA e injeção de formalina ou salina na pata. Por outro lado, a microinjeção de glutamato (50 nmol/250nl) ou lidocaína 2% (250 nl) no NPtA de animais tratados com formalina i.pl. não alterou de forma significativa a imunoreatividade a c-Fos. A microinjeção de glutamato (5 nmol/250 nl) no NPtA após a injeção i.pl. de salina aumentou de forma não significativa o número de células c-Fos imunorreativas quando comparado aos animais com microinjeção de salina no NPtA e injeção de salina na pata.

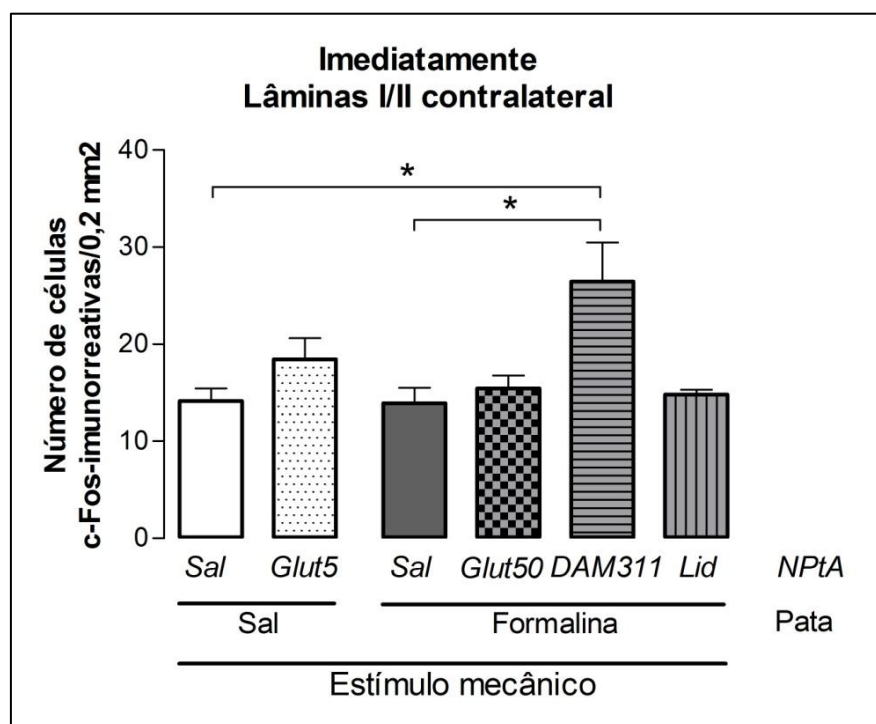


Figura 92. Número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² nas lâminas I/II do corno dorsal da medula espinal no **lado esquerdo**. Após injeção de 50 µl de formalina 5% ou de salina na pata direita os animais receberam microinjeção de 250 nl de glutamato (5 ou 50 nmol), DAMGO (311 pmol), lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo e **estimulação mecânica** das patas posteriores e da cauda. Barras indicam média ± EPM de 4-5 animais por grupo. *P<0,05 (One-way ANOVA seguida pelo teste de Newman-Keuls).

4.4.1.3 Lâmina V ipsilateral

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 93**.

A injeção de formalina (50 µl) na pata direita seguida pela microinjeção de salina (250 nl) no NPtA esquerdo e estimulação mecânica nas patas posteriores e cauda aumentou de forma significativa o número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² na lâmina V do corno dorsal da medula espinal no lado direito, quando comparada com os animais que receberam injeção i.pl. de salina. Nas mesmas condições, a microinjeção de lidocaína 2% (250 nl) nos animais com formalina na pata aumentou significativamente este número de células c-Fos imunorreativas comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA. Já quando DAMGO (311 pmol) ou glutamato (50 nmol/250nl) foi microinjetado no NPtA, após injeção i.pl. de formalina, não houve mudanças significativas do número de células c-Fos imunorreativas quando comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA. Da mesma forma a microinjeção de glutamato (5 nmol/250 nl) no NPtA após a injeção i.pl. de salina não alterou a imunorreatividade a c-Fos quando comparada aos animais com microinjeção de salina no NPtA e injeção de salina na pata.

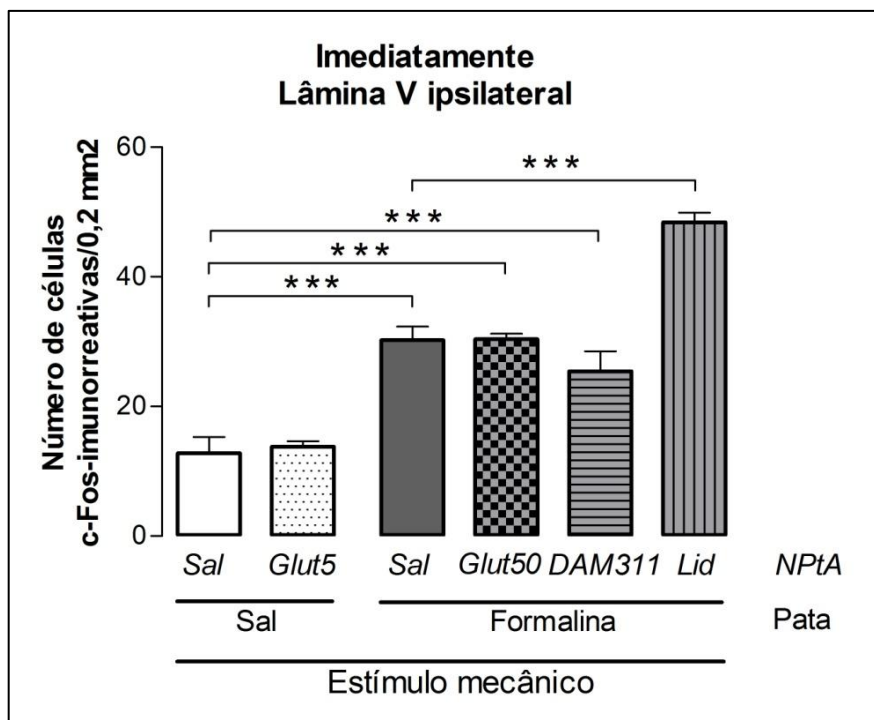


Figura 93. Número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² na **lâmina V** do corno dorsal da medula espinal no **lado direito**. Após injeção de 50 µl de formalina 5% ou de salina na pata direita os animais receberam microinjeção de 250 nl de glutamato (5 ou 50 nmol), DAMGO (311 pmol), lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo e **estimulação mecânica** das patas posteriores e da cauda. Barras indicam média ± EPM de 4-5 animais por grupo. ***P<0,001 (One-way ANOVA seguida pelo teste de Newman-Keuls).

4.4.1.3 Lâmina V contralateral

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 94**.

A injeção de salina (50 µl) na pata direita seguida pela microinjeção de 250 nl de glutamato (5 nmol) no NPtA esquerdo e estimulação mecânica nas patas posteriores e cauda aumentou de forma significativa o número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² na lâmina V do corno dorsal da medula espinal no lado esquerdo, quando comparado com os animais que receberam microinjeção de salina (250 nl) no NPtA. Nas mesmas condições, a injeção de formalina (50 µl) na pata direita seguida pela microinjeção de salina, glutamato (50 nmol/250nl), DAMGO (311 pmol/250 nl) ou lidocaína 2% (250 nl) não alterou de forma significativa o número de células c-Fos imunorreativas quando comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA e injeção de salina na pata.

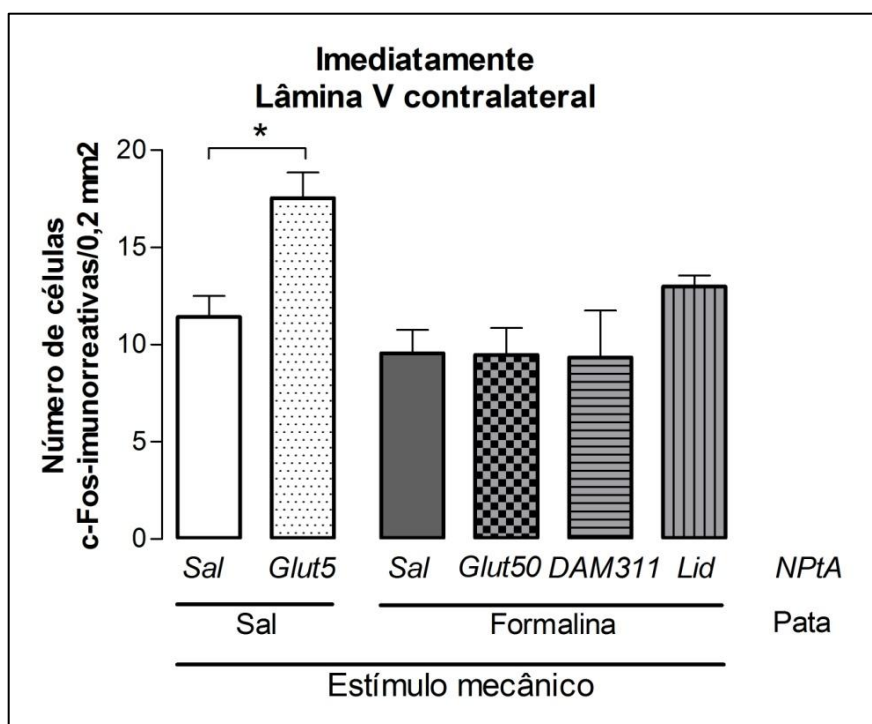


Figura 94. Número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² na **lâmina V** do corno dorsal da medula espinal no **lado esquerdo**. Após injeção de 50 µl de formalina 5% ou de salina na pata direita os animais receberam microinjeção de 250 nl de glutamato (5 ou 50 nmol), DAMGO (311 pmol), lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo e **estimulação mecânica** das patas posteriores e da cauda. Barras indicam média ± EPM de 4-5 animais por grupo. *P<0,05 (One-way ANOVA seguida pelo teste de Newman-Keuls).

4.4.1 Estímulo térmico

4.4.1.1 Lâminas I/II ipsilateral

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 95**.

A injeção de formalina (50 μ l) na pata direita seguida pela microinjeção de salina (250 nl) no NPtA esquerdo e estimulação térmica nas patas posteriores e cauda aumentou de forma significativa o número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² nas lâminas I/II do corno dorsal da medula espinal no lado direito, quando comparada com os animais que receberam injeção i.pl. de salina. Nas mesmas condições, a microinjeção de lidocaína 2% (250 nl) no NPtA nos animais com injeção i.pl. de formalina impediu este aumento na imunorreatividade a c-Fos. Resultado semelhante, porém de forma menos expressiva, foi observado quando glutamato (50 nmol/250nl) foi microinjetado no NPtA. Já quando DAMGO (311 pmol) foi microinjetado no NPtA, após injeção i.pl. de formalina, não houve mudança significativa do número de células c-Fos imunorreativas quando comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA.

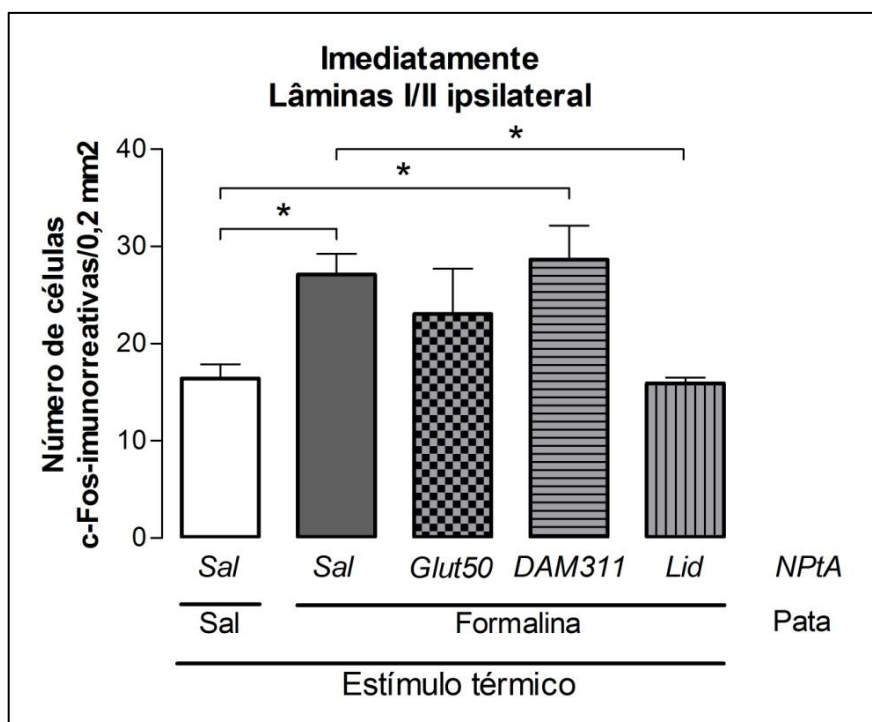


Figura 95. Número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² nas **lâminas I/II** do corno dorsal da medula espinal no **lado direito**. Após injeção de 50 µl de formalina 5% ou de salina na pata direita os animais receberam microinjeção de 250 nl de glutamato (5 ou 50 nmol), DAMGO (311 pmol), lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo e **estimulação térmica** das patas posteriores e da cauda. Barras indicam média ± EPM de 4-5 animais por grupo. *P<0,05 (One-way ANOVA seguida pelo teste de Newman-Keuls).

4.4.1.1 Lâminas I/II contralateral

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 96**.

A injeção de formalina (50 µl) na pata direita seguida pela microinjeção de salina (250 nl) no NPtA esquerdo e estimulação térmica nas patas posteriores e cauda não provocou mudanças significativas do número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² nas lâminas I/II do corno dorsal da medula espinal no lado esquerdo, quando comparada com os animais que receberam injeção i.pl. de salina. Nas mesmas condições, a microinjeção de DAMGO (311 pmol) no NPtA, após injeção i.pl. de formalina, aumentou de forma significativa o número de células c-Fos imunorreativas nestas lâminas quando comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA e injeção de formalina ou salina na pata. Por outro lado, a microinjeção de glutamato (50 nmol/250nl) ou lidocaína 2% (250 nl) nos animais com injeção i.pl. de formalina não alterou de forma significativa imunoreatividade a c-Fos.

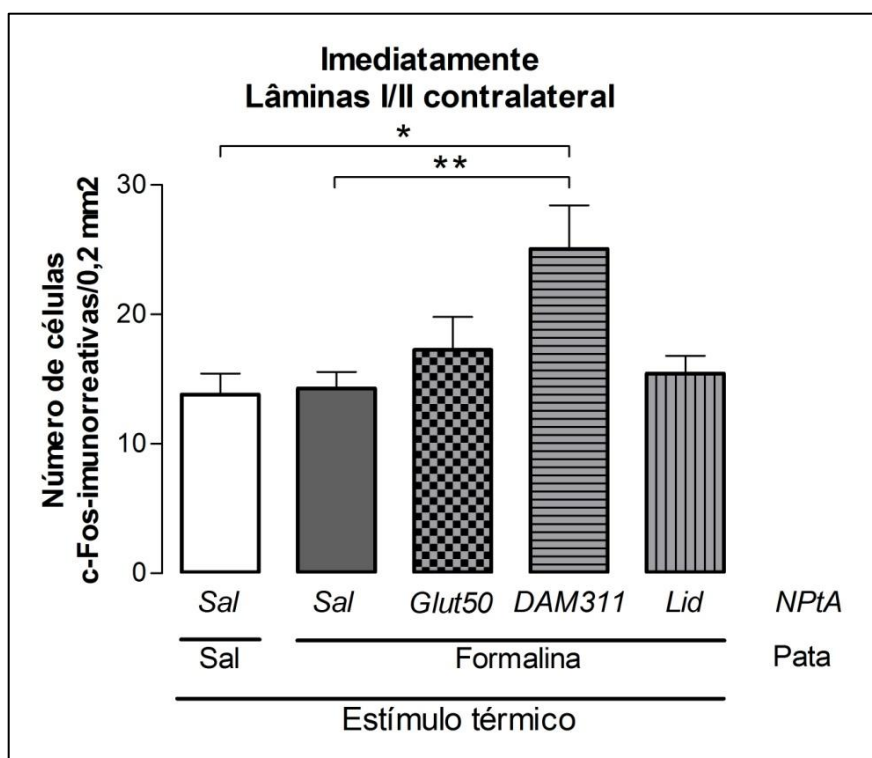


Figura 96. Número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² nas lâminas I/II do corno dorsal da medula espinal no **lado esquerdo**. Após injeção de 50 µl de formalina 5% ou de salina na pata direita os animais receberam microinjeção de 250 nl de glutamato (5 ou 50 nmol), DAMGO (311 pmol), lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo e **estimulação térmica** das patas posteriores e da cauda. Barras indicam média ± EPM de 4-5 animais por grupo. *P<0,05, **P<0,01 (One-way ANOVA seguida pelo teste de Newman-Keuls).

4.4.1.1 Lâmina V ipsilateral

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 97**.

A injeção de formalina (50 µl) na pata direita seguida pela microinjeção de salina (250 nl), glutamato (50 nmol/250nl) ou de lidocaína 2% (250 nl) no NPtA esquerdo e estimulação térmica nas patas posteriores e na cauda aumentou de forma significativa o número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² na lâmina V do corno dorsal da medula espinal no lado direito, quando comparado com os animais que receberam injeção i.pl. de salina e microinjeção de salina no NPtA. Nas mesmas condições, a microinjeção de DAMGO (311 pmol) no NPtA, após injeção i.pl. de formalina, aumentou de forma menos expressiva o número de células c-Fos imunorreativas quando comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA e injeção de salina na pata.

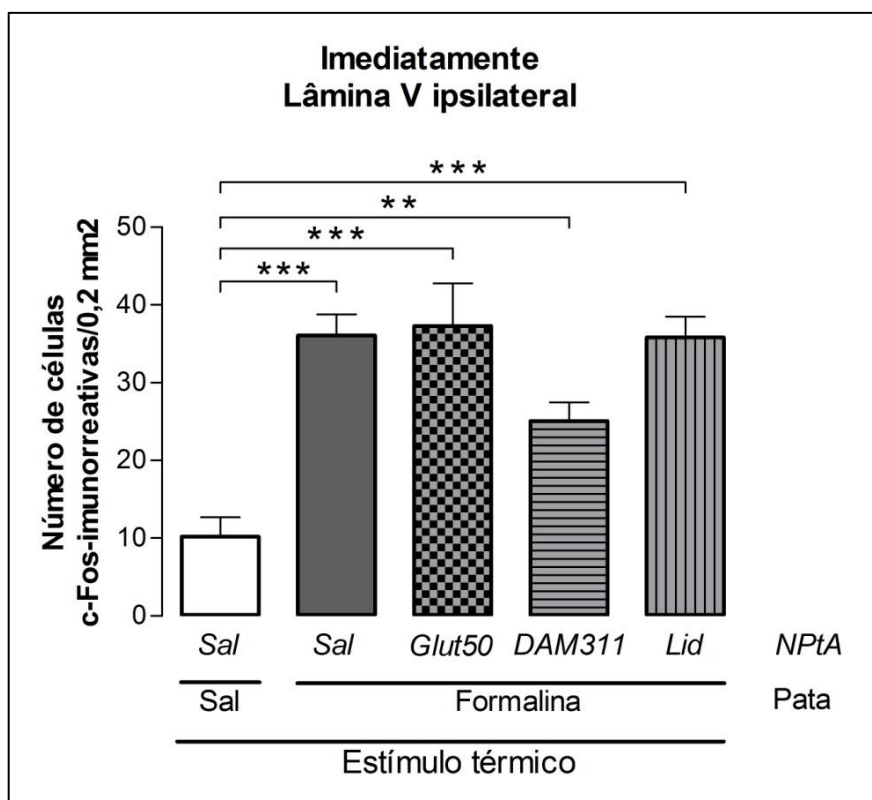


Figura 97. Número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² na **lâmina V** do corno dorsal da medula espinal no **lado direito**. Após injeção de 50 µl de formalina 5% ou de salina na pata direita os animais receberam microinjeção de 250 nl de glutamato (5 ou 50 nmol), DAMGO (311 pmol), lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo e **estimulação térmica** das patas posteriores e da cauda. Barras indicam média ± EPM de 4-5 animais por grupo. **P<0,01, ***P<0,001 (One-way ANOVA seguida pelo teste de Newman-Keuls).

4.4.1.1 Lâmina V contralateral

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 98**.

A injeção de formalina (50 µl) na pata direita seguida pela microinjeção de 250 nl de salina, DAMGO (311 pmol) ou lidocaína 2% no NPtA esquerdo e estimulação térmica nas patas posteriores e cauda não provocou mudanças significativas do número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² na lâmina V do corno dorsal da medula espinal no lado esquerdo, quando comparada com os animais com microinjeção de salina no NPtA e injeção de salina (50 µl) na pata. Nas mesmas condições, a microinjeção de glutamato (50 nmol/250nl) no NPtA, após injeção i.pl. de formalina, aumentou de forma significativa o número de células c-Fos imunorreativas quando comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA e injeção de salina na pata.

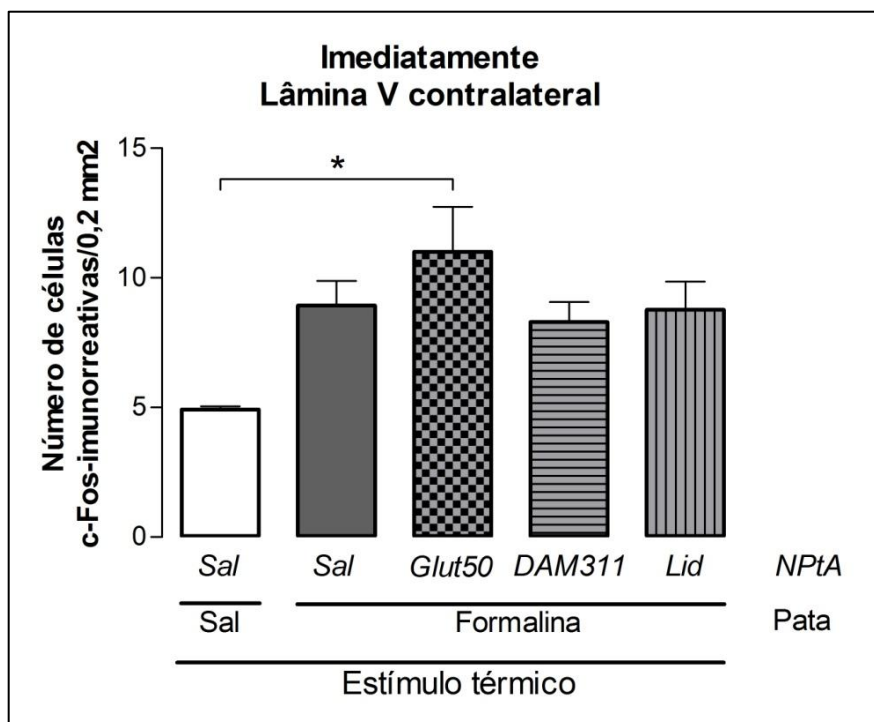


Figura 98. Número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² na **lâmina V** do corno dorsal da medula espinal no **lado esquerdo**. Após injeção de 50 µl de formalina 5% ou de salina na pata direita os animais receberam microinjeção de 250 nl de glutamato (5 ou 50 nmol), DAMGO (311 pmol), lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo e **estimulação térmica** das patas posteriores e da cauda. Barras indicam média ± EPM de 4-5 animais por grupo. *P<0,05 (One-way ANOVA seguida pelo teste de Newman-Keuls).

4.5 Expressão de c-Fos na lâminas I/II e V do corno dorsal da medula espinal decorrentes de estimulação mecânica ou térmica periférica, e microinjeção de lidocaína 2%, glutamato (5 ou 50 nmol), 311 pmol de DAMGO ou salina no NPtA 7 dias após a injeção intraplantar de formalina 5%

4.5.1 Estímulo mecânico

4.5.1.1 Lâminas I/II ipsilateral

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 99**.

A microinjeção de 250 nl de salina, de glutamato (50 nmol) ou de lidocaína 2% no NPtA esquerdo e estimulação mecânica nas patas posteriores e cauda, sete dias após injeção de formalina (50 µl) na pata direita, não provocou mudanças significativas do número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² nas lâminas I/II do corno dorsal da medula espinal no lado direito, quando comparado com os animais que receberam injeção i.pl. de salina e microinjeção de salina no NPtA. Nas mesmas condições, a microinjeção de DAMGO (311 pmol), sete dias após injeção i.pl. de formalina, aumentou de forma significativa o número de células c-Fos imunorreativas quando comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA e injeção de formalina na pata.

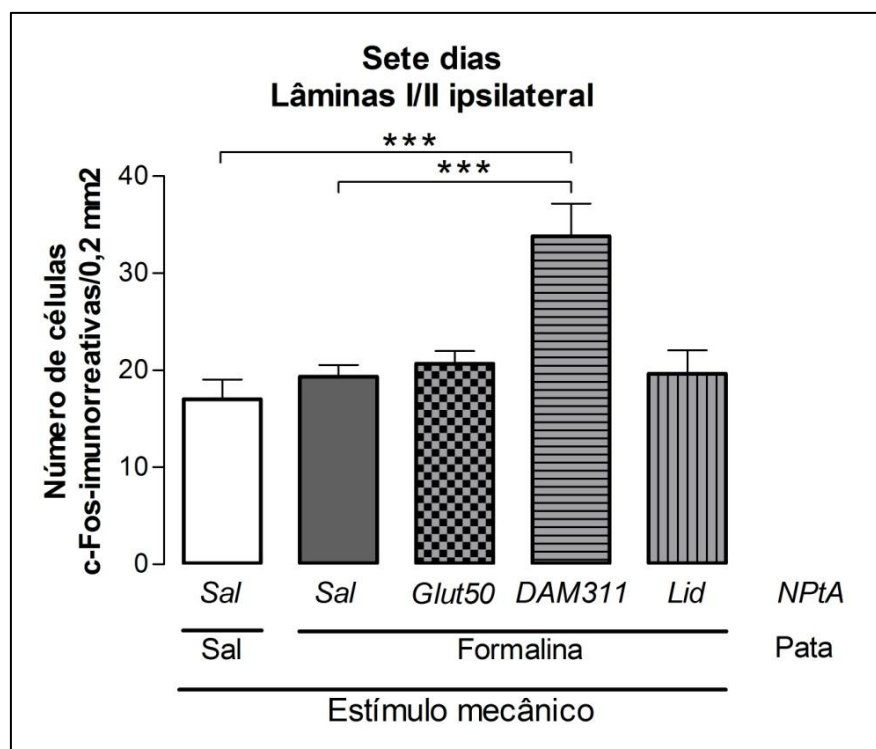


Figura 99. Número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² nas **lâminas I/II** do corno dorsal da medula espinal no **lado direito**. Sete dias após injeção de 50 µl de formalina 5% ou de salina na pata direita os animais receberam microinjeção de 250 nl de glutamato (5 ou 50 nmol), DAMGO (311 pmol), lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo e estimulação mecânica das patas posteriores e da cauda. Barras indicam média ± EPM de 4-5 animais por grupo. ***P<0,001 (One-way ANOVA seguida pelo teste de Newman-Keuls).

4.5.1.2 Lâminas I/II contralateral

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 100**.

A microinjeção de 250 nl de salina, de glutamato (50 nmol), de DAMGO (311 pmol) ou de lidocaína 2% no NPtA esquerdo e estimulação mecânica nas patas posteriores e cauda, sete dias após injeção de formalina (50 µl) na pata direita, não provocou mudanças significativas do número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² nas lâminas I/II do corno dorsal da medula espinal no lado esquerdo quando, comparado com os animais que receberam injeção i.pl. de salina e microinjeção de salina no NPtA.

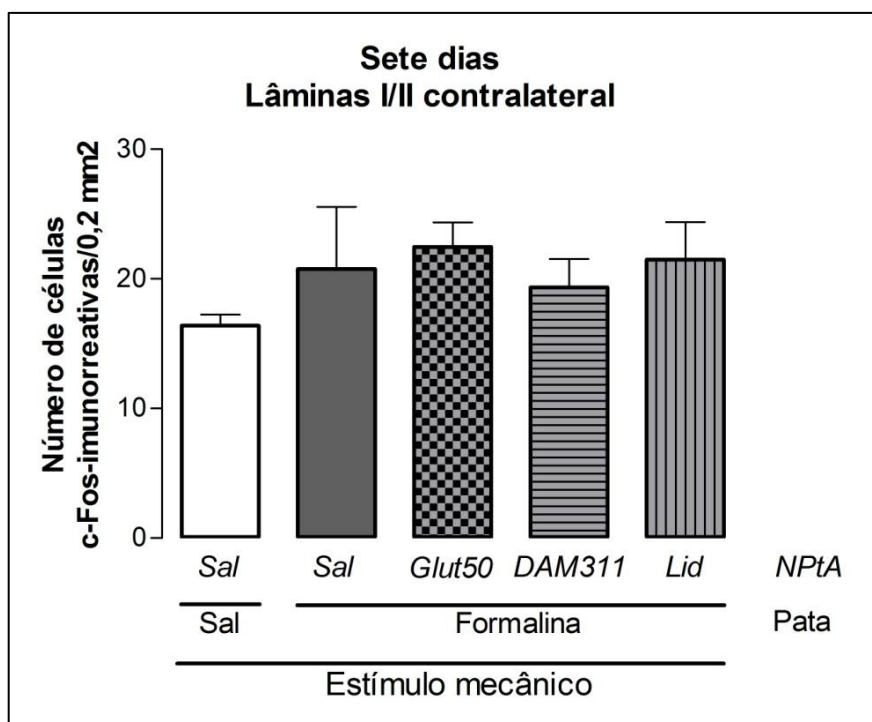


Figura 100. Número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² nas lâminas I/II do corno dorsal da medula espinal no lado esquerdo. Sete dias após injeção de 50 µl de formalina 5% ou de salina na pata direita os animais receberam microinjeção de 250 nl de glutamato (5 ou 50 nmol), DAMGO (311 pmol), lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo e estimulação mecânica das patas posteriores e da cauda. Barras indicam média ± EPM de 4-5 animais por grupo.

4.5.1.3 Lâmina V ipsilateral

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 101**.

A microinjeção de 250 nl de salina, de DAMGO (311 pmol) ou de lidocaína 2% no NPtA esquerdo e estimulação mecânica nas patas posteriores e cauda, sete dias após a injeção de formalina (50 µl) na pata direita, aumentou de forma significativa o número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² na lâmina V do corno dorsal da medula espinal no lado direito, quando comparado com os animais que receberam injeção i.pl. de salina e microinjeção de salina no NPtA. Nas mesmas condições, a microinjeção de glutamato (50 nmol/250nl) no NPtA, após injeção i.pl. de formalina, impediu o aumento do número de células c-Fos imunorreativas quando comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA e formalina na pata.

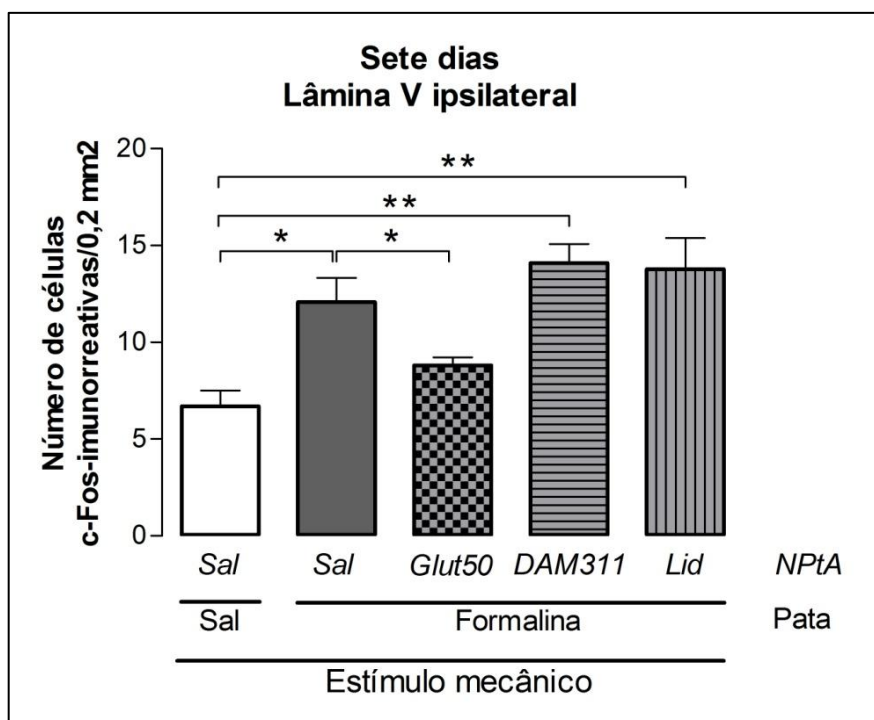


Figura 101. Número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² na lâmina V do corno dorsal da medula espinal no lado direito. Sete dias após injeção de 50 µl de formalina 5% ou de salina na pata direita os animais receberam microinjeção de 250 nl de glutamato (5 ou 50 nmol), DAMGO (311 pmol), lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo e estimulação mecânica das patas posteriores e da cauda. Barras indicam média ± EPM de 4-5 animais por grupo. **P<0,01, *P<0,05 (One-way ANOVA seguida pelo teste de Newman-Keuls).

4.5.1.3 Lâmina V contralateral

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 102**.

A microinjeção de 250 nl de salina, de glutamato (50 nmol), de DAMGO (311 pmol) ou de lidocaína 2% no NPtA esquerdo e estimulação mecânica nas patas posteriores e na cauda, sete dias após injeção de formalina (50 µl) na pata direita, não provocou mudanças significativas do número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² na lâmina V do corno dorsal da medula espinal no lado esquerdo, quando comparado com os animais que receberam injeção i.pl. de salina (50 µl) e microinjeção de salina no NPtA.

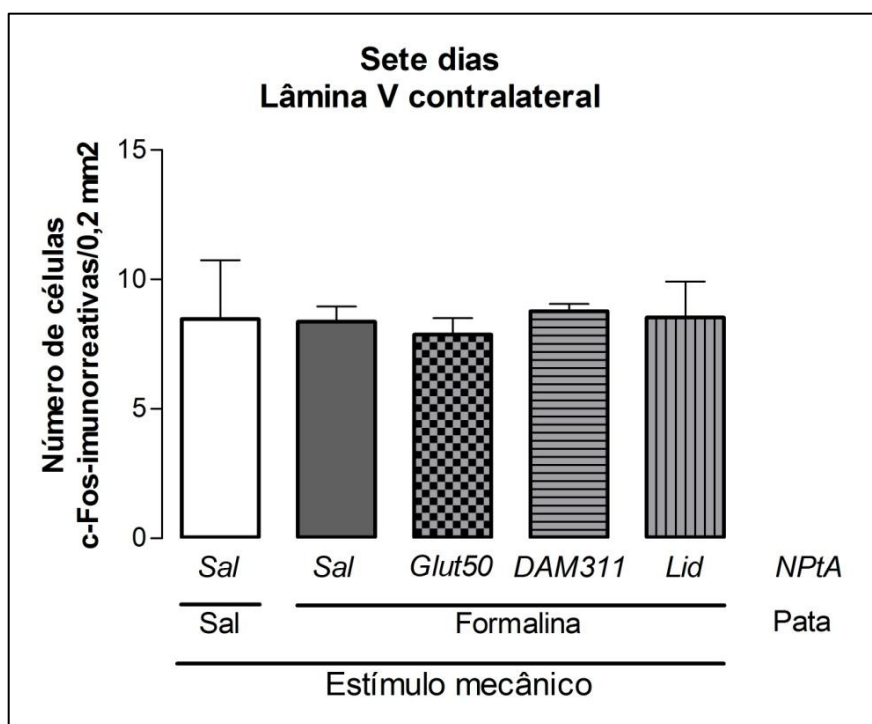


Figura 102. Número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² na lâmina V do corno dorsal da medula espinal no lado esquerdo. Sete dias após injeção de 50 µl de formalina 5% ou de salina na pata direita os animais receberam microinjeção de 250 nl de glutamato (5 ou 50 nmol), DAMGO (311 pmol), lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo e estimulação mecânica das patas posteriores e da cauda. Barras indicam média ± EPM de 4-5 animais por grupo.

4.5.1 Estímulo térmico

4.5.1.1 Lâminas I/II ipsilateral

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 103**.

A microinjeção de 250 nl de salina, de glutamato (50 nmol) ou de lidocaína 2% no NPtA esquerdo e estimulação térmica nas patas posteriores e cauda, sete dias após injeção de formalina (50 µl) na pata direita, aumentou de forma não significativa o número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² nas lâminas I/II do corno dorsal da medula espinal no lado direito, quando comparada com os animais que receberam injeção i.pl. de salina (50 µl) e microinjeção de salina no NPtA. Nas mesmas condições, a microinjeção de DAMGO (311 pmol/250 nl) no NPtA, sete dias após injeção i.pl. de formalina, aumentou de forma significativa o número de células c-Fos imunorreativas quando comparado com os animais com microinjeção de salina no NPtA e injeção de salina na pata.

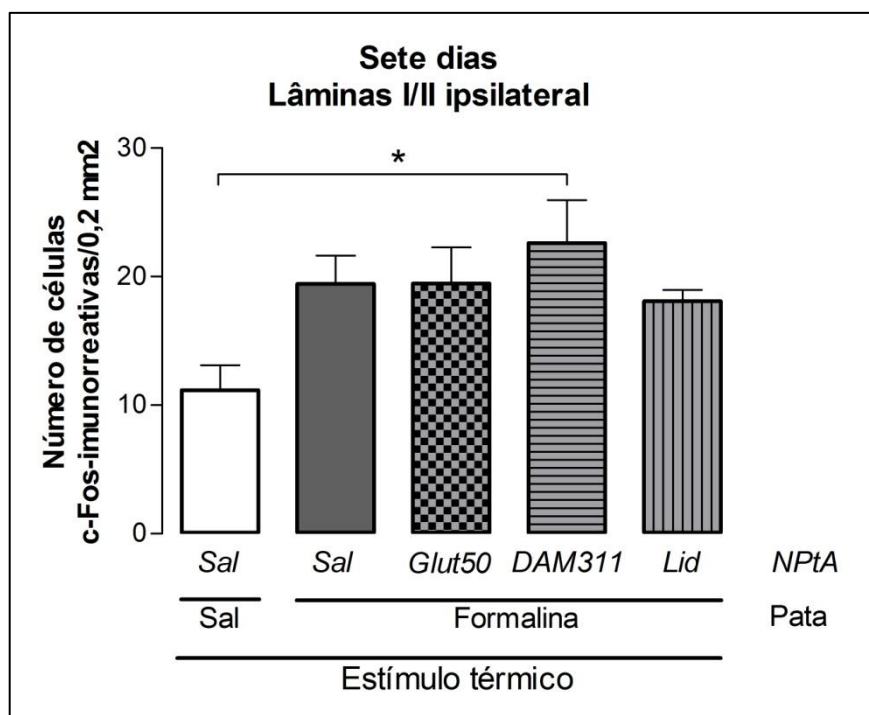


Figura 103. Número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² nas lâminas I/II do corno dorsal da medula espinal no lado direito. Sete dias após injeção de 50 µl de formalina 5% ou de salina na pata direita os animais receberam microinjeção de 250 nl de glutamato (5 ou 50 nmol), DAMGO (311 pmol), lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo e estimulação térmica das patas posteriores e da cauda. Barras indicam média ± EPM de 4-5 animais por grupo. #P<0,05 (One-way ANOVA seguida pelo teste de Newman-Keuls).

4.5.1.1 Lâminas I/II contralateral

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 104**.

A microinjeção de 250 nl de salina, de glutamato (50 nmol), de DAMGO (311 pmol) ou de lidocaína 2% no NPtA esquerdo e estimulação térmica nas patas posteriores e cauda, sete dias após injeção de formalina (50 µl) na pata direita, não provocou mudanças significativas do número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² nas lâminas I/II do corno dorsal da medula espinal no lado esquerdo, quando comparado com os animais que receberam injeção i.pl. de salina (50 µl) e microinjeção de salina no NPtA.

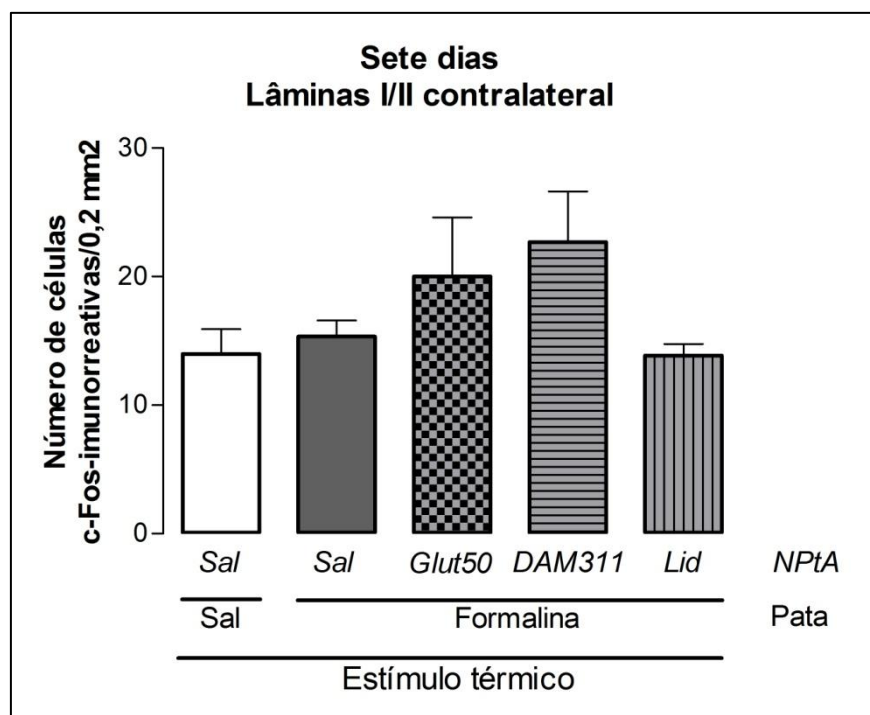


Figura 104. Número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² nas **lâminas I/II** do corno dorsal da medula espinal no **lado esquerdo**. Sete dias após injeção de 50 µl de formalina 5% ou de salina na pata direita os animais receberam microinjeção de 250 nl de glutamato (5 ou 50 nmol), DAMGO (311 pmol), lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo e estimulação térmica das patas posteriores e da cauda. Barras indicam média ± EPM de 4-5 animais por grupo.

4.5.1.1 Lâmina V ipsilateral

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 105**.

A microinjeção de 250 nl de salina, de glutamato (50 nmol), de DAMGO (311 pmol) ou de lidocaína 2% no NPtA esquerdo e estimulação térmica nas patas posteriores e cauda, sete dias após injeção de formalina (50 µl) na pata direita, não provocou mudanças significativas do número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² na lâmina V do corno dorsal da medula espinal no lado direito, quando comparado com os animais que receberam injeção i.pl. de salina (50 µl) e microinjeção de salina no NPtA.

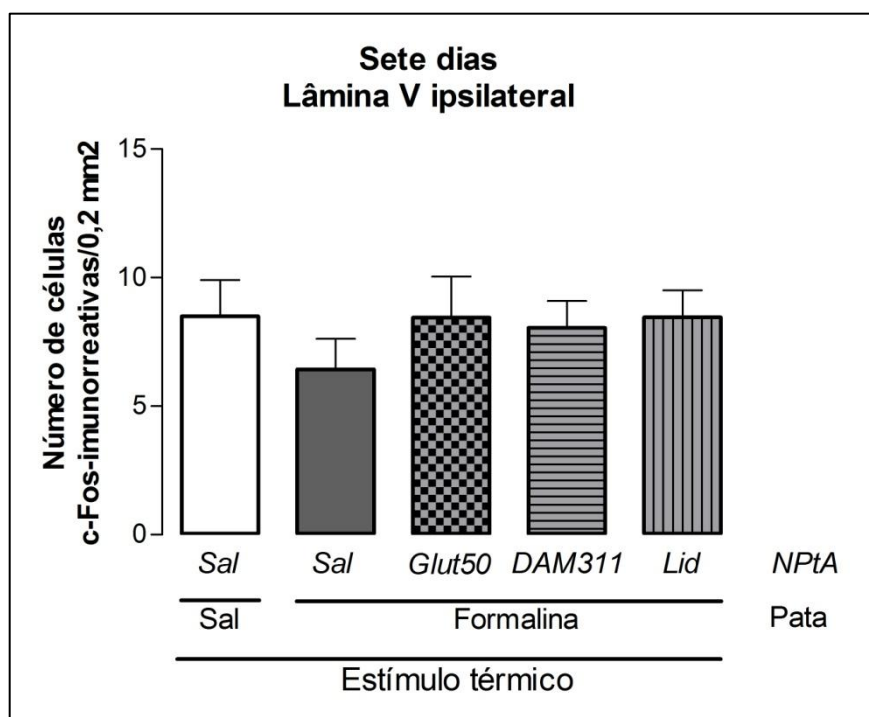


Figura 105. Número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² nas lâminas V do corno dorsal da medula espinal no lado direito. Sete dias após injeção de 50 µl de formalina 5% ou de salina na pata direita os animais receberam microinjeção de 250 nl de glutamato (5 ou 50 nmol), DAMGO (311 pmol), lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo e estimulação térmica das patas posteriores e da cauda. Barras indicam média ± EPM de 4-5 animais por grupo.

4.5.1.1 Lâmina V contralateral

Os resultados deste experimento estão representados na **figura 106**.

A microinjeção de 250 nl de salina, de glutamato (50 nmol), de DAMGO (311 pmol) ou de lidocaína 2% no NPtA esquerdo e estimulação térmica nas patas posteriores e cauda, sete dias após injeção de formalina (50 µl) na pata direita, não provocou mudanças significativas do número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² na lâmina V do corno dorsal da medula espinal no lado esquerdo, quando comparado com os animais que receberam injeção i.pl. de salina (50 µl) e microinjeção de salina no NPtA.

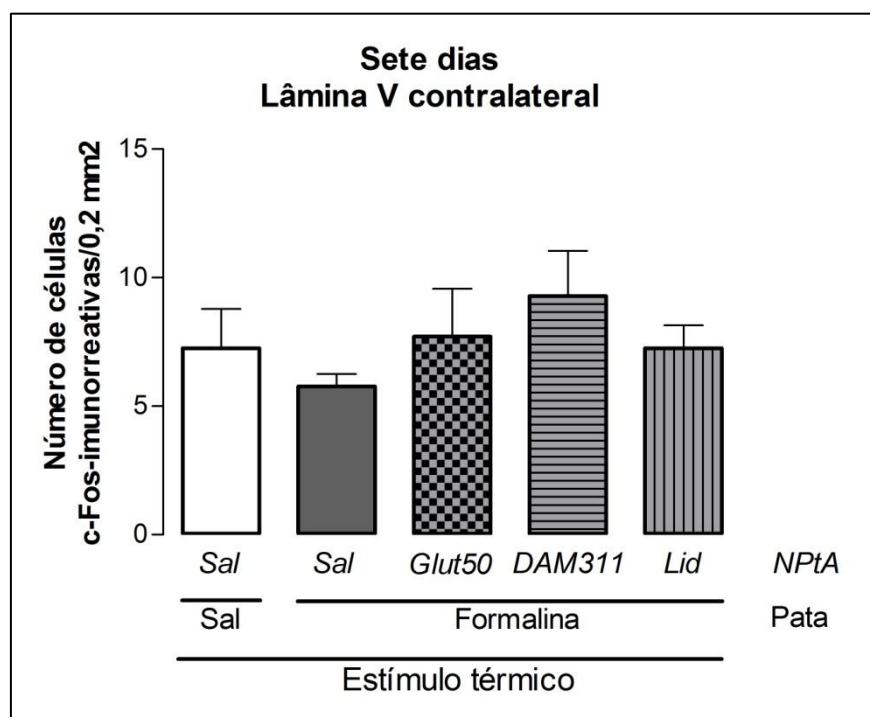


Figura 106. Número de células c-Fos imunorreativas/0,2 mm² nas **lâminas V** do corno dorsal da medula espinal no **lado esquerdo**. Sete dias após injeção de 50 µl de formalina 5% ou de salina na pata direita os animais receberam microinjeção de 250 nl de glutamato (5 ou 50 nmol), DAMGO (311 pmol), lidocaína 2% ou de salina no NPtA esquerdo e estimulação térmica das patas posteriores e da cauda. Barras indicam média ± EPM de 4-5 animais por grupo.

Neste trabalho, observamos que a injeção intraplantar de formalina 5% causa imediata e intensa hiperalgesia primária mecânica que perdura por até 7 dias após a indução da inflamação. Também observamos intensa hiperalgesia térmica primária detectada imediatamente e 2 horas após a injeção i.pl., mas sem se prolongar para os tempos posteriores deste estudo.

Estes resultados corroboram parcialmente achados anteriores que mostram que a hiperalgesia mecânica observada na pata tratada com formalina ocorre rapidamente após a injeção, porém, diferentemente do comportamento nociceptivo espontâneo que dura até duas horas, esta hiperalgesia se estende por aproximadamente 4 semanas (FU; LIGHT; MAIXNER, 2001). Por outro lado, esses autores observaram que a hiperalgesia térmica também se prolonga até a 4ª semana e não somente até 2 horas como observado neste estudo.

A injeção de formalina 5% também causou imediata hiperalgesia secundária mecânica na pata contralateral à que recebeu formalina, efeito que durou até 1 dia após a injeção. Entretanto, não alterou de forma significativa o limiar para estímulo térmico nesta pata em nenhum dos momentos estudados. Outros estudos também têm reportado que a injeção de formalina 5% em uma pata influencia o limiar nociceptivo da pata contralateral (FU; LIGHT; MAIXNER, 2001).

A injeção de formalina na pata não alterou o limiar da cauda em nenhum momento do estudo. Esses resultados contrastam com achados anteriores que mostram que a injeção de formalina em uma pata traseira facilita o reflexo de retirada da cauda evocado por estímulo térmico ou mecânico (WIERTELAK et al., 1994; CALEJESAN; CH'ANG; ZHUO, 1998). Aplicação de óleo de mostarda na pata traseira de rato também facilita o reflexo de retirada da cauda a estímulos térmicos (URBAN, M. O.; JIANG; GEBHART, 1996). Wiertelak e cols. (1994), mostraram que

a resposta hiperalgésica a estímulos térmicos aplicados à cauda dura muitas horas após a injeção da formalina na pata de ratos, e outros autores tem reportado que a injeção de formalina na cauda baixa, por várias horas, o limiar de retirada da pata a estímulos térmicos (BIANCHI; PANERAI, 1997).

4.1 Efeitos da microinjeção de glutamato no NPtA

A microinjeção de glutamato (50 nmol) no NPtA teve forte efeito antinociceptivo contra estímulos mecânicos aferidos na pata que recebeu salina ou formalina (hiperalgesia mecânica primária). Nos animais com formalina, este efeito antinociceptivo foi pronunciado 1 e 7 dias após a injeção i.pl., mas foi menor quando avaliado imediatamente, 2 horas ou 14 dias pós-formalina. Da mesma forma, nos animais com injeção i.pl. de salina houve forte efeito antinociceptivo 2 horas, 1 dia, 7 dias e 14 dias após a injeção i.pl.

Quando o limiar para estímulo térmico foi avaliado, o glutamato (50 nmol) também foi efetivo, principalmente quando se avaliou o limiar imediatamente, 2 horas e 1 dia após a injeção i.pl. de formalina, mas este efeito foi menor aos 7 e 14 dias. Nos animais que receberam injeção i.pl. de salina o efeito antinociceptivo do glutamato (50 nmol) foi discreto nas medidas realizadas imediatamente e 2 horas após a injeção i.pl.

Por outro lado, quando glutamato (5 nmol) foi microinjetado no NPtA observou-se, em todos os tempos avaliados, leve e não significativo efeito pronociceptivo para estímulos mecânicos na pata que recebeu salina, e um fraco

aumento no limiar para estímulo térmico (também não significativo). Nos animais que receberam formalina, esta baixa dose de glutamato induziu efeito antinociceptivo discreto.

Diversos estudos têm mostrado que vias descendentes são extremamente importantes no controle da hiperalgesia primária. A secção bilateral do funículo dorso-lateral torna mais intensa a hiperalgesia térmica primária induzida pela injeção de carragenina na pata traseira (REN; DUBNER, 1996). A imunorreatividade a c-Fos na medula espinal de ratos ipsilateral á pata inflamada pela injeção de CFA é aumentada pela transecção da medula (REN; RUDA, 1996). Influências inibitórias descendentes tônicas parecem já estar presentes quando a formalina é injetada na pata, pois a transecção do funículo dorso-lateral dias antes da injeção de formalina, torna as respostas nociceptivas mais intensas (ABBOTT; HONG; FRANKLIN, 1996).

A injeção de formalina 5% na pata direita causou hiperalgesia mecânica também na pata contralateral até 1 dia pós-formalina, sem efeitos significativos sobre o limiar térmico.

A microinjeção de glutamato (50 nmol) no NPtA teve efeito antinociceptivo, contra estímulos mecânicos aplicados na pata contralateral naqueles animais que receberam a injeção i.pl. previa de formalina em todos os tempos avaliados. Efeito antinociceptivo mais discreto foi observado nos animais com injeção i.pl. de salina. Por outro lado, de forma semelhante ao que ocorreu com a pata ipsilateral, a microinjeção de glutamato (5 nmol) no NPtA teve efeito hipernociceptivo naqueles animais com injeção i.pl. de salina e não apresentou efeitos significativos nos animais com injeção i.pl. de formalina. Não observamos efeitos sobre o limiar térmico da pata contralateral com nenhuma das doses de glutamato utilizada tanto imediatamente, quanto 2 horas, 1 dia, 7 dias e 14 dias após a injeção i.pl.

A microinjeção de glutamato (50 nmol) não influenciou o limiar mecânico da cauda e apresentou efeito antinociceptivo sobre o limiar térmico somente daqueles animais com injeção i.pl. de salina. A dose de 5 nmol de glutamato não apresentou efeitos consistentes sobre o limiar mecânico ou térmicos da cauda, tanto os animais com injeção i.pl. de salina quanto de formalina.

A literatura confirma que vias descendentes também influenciam a hiperalgesia secundária. Secção bilateral do funículo dorso lateral facilita o desenvolvimento da hiperalgesia secundária após a injeção de CFA ou de carragenina na pata traseira (REN; DUBNER, 1996). A lesão do RVM impede a facilitação do reflexo de retirada desencadeado por estimulação da pata na vigência de inflamação do joelho (URBAN, M. O.; ZAHN; GEBHART, 1999). A lesão prévia do bulbo dorso-rostral em ratos impede que se desenvolva hiperalgesia térmica secundária (URBAN, M. O.; ZAHN; GEBHART, 1999).

4.3 Efeitos da microinjeção de DAMGO no NPtA

A microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol) no NPtA apresentou forte efeito antinociceptivo dose dependente na maioria das vezes, tanto em animais tratados com salina i.pl. quanto com formalina i.pl. e quando avaliado o limiar mecânico e térmico em todos os tempos aferidos. Todavia, no 14º dia após a injeção i.pl. os efeitos do DAMGO foram mais discretos.

Quando avaliamos o limiar mecânico e térmico da pata contralateral (hiperalgesia secundária) também observamos forte efeito antinociceptivo da maior

dose de DAMGO (311 pmol). Efeito semelhante foi obtido quando DAMGO (156 pmol) foi microinjetado no NPtA 1 dia, 7 dias e 14 dias após a injeção i.pl.

A microinjeção da maior dose de DAMGO no NPtA promoveu forte efeito antinociceptivo também contra estímulos térmicos aferidos na cauda (hiperalgesia secundária) em todos os momentos avaliados. Já a menor dose não apresentou efeito significativo imediatamente e 2 horas após a injeção i.pl., mas produziu antinocicepção no 1º, 7º ou 14º dias após a injeção de salina ou de formalina na pata direita. Quando o limiar mecânico foi avaliado, observamos efeito antinociceptivo da maior dose de DAMGO até um dia após a injeção i.pl. de formalina.

Os opiáceos ainda são os agentes disponíveis mais eficazes para o tratamento de dores severas. Muitos estudos demonstram efeito antinociceptivo de opiáceos sobre os comportamentos eliciados pela formalina (DUBUISSON; DENNIS, 1977; OLUYOMI; HART; SMITH, 1992). Dickenson e Sullivan, (1987) mostraram que a administração sistêmica, intratecal ou intracerebroventricular (i.c.v.) de DAMGO deprime fortemente os comportamentos nociceptivos induzidos pela formalina e a resposta de neurônios do corno dorsal da medula espinal.

A microinjeção de DAMGO no NPtA promove antinocicepção (MAMEDE ROSA; PRADO, 1997). Receptores opióides são largamente distribuídos no encéfalo de ratos incluindo o NPtA (ATWEH; KUHAR, 1977). Trabalhos apontam a presença de receptes opióides do tipo μ no NPtA (GOODMAN et al., 1980) mas não dos tipos δ , κ e σ (TEMPEL; ZUKIN, 1987; MANSOUR et al., 1993). Além disso, corpos celulares positivos para dinorfina B e met-enkefalina tem sido identificados no NPtA (FALLON; LESLIE, 1986).

Uma vez que a ação direta de opióides sobre neurônios hiperpolariza a membrana celular e reduz a liberação de neurotransmissores, seu efeito excitatório é provavelmente decorrente de inibição de interneurônios gabaérgicos ou de seus terminais (HEINRICHER; MORGAN; FIELDS, 1992; ZAGON; MENG; FIELDS, 1997)

De fato, Villarreal e Prado, 2007 mostram que quando impulsos nociceptivos persistentes atingem o NPtA, terminais colinérgicos e/ou serotoninérgicos locais independentes são ativados e desencadeiam influências inibitórias descendentes sobre a nocicepção. Ainda segundo os autores esta via serotoninérgica descendente que parte do NPtA está sob influência inibitória local de neurônios gabaérgicos que por sua vez recebem aferência inibitória de neurônios opióidérgicos. Dessa forma, a injeção de DAMGO neste núcleo intensifica a via serotoninérgica descendente por inibir os neurônios gabaérgicos que a inibem, culminando com inibição da nocicepção (VILLARREAL; PRADO, 2007), o que corrobora os resultados obtidos neste trabalho com o uso do DAMGO. Seguindo essa linha de raciocínio, é provável que os receptores responsáveis pela ação analgésica do glutamato estejam localizados em terminais colinérgicos e/ou serotoninérgicos ou então em neurônios opioidérgicos que inibem os gabaérgicos, em ambos os casos provocando inibição descendente sobre a nocicepção.

4.3 Efeitos da microinjeção de lidocaína no NPtA

O bloqueio neural do NPtA com lidocaína aumentou a hiperalgesia primária mecânica 2 horas após a injeção i.pl. de formalina. A hiperalgesia secundária

avaliada na pata esquerda não apresentou mudanças significativas. Por outro lado, a cauda apresentou efeito hiperalgésico para estímulos térmicos imediatamente após a injeção i.pl. de formalina. Outros trabalhos têm mostrado a importância assumida pelo NPtA em injúrias persistentes (REES; TERENCE; ROBERTS, 1995; VILLARREAL; DEL BEL; PRADO, 2003)

4.4 Avaliação da atividade neuronal do corno dorsal da medula espinal

A expressão da proteína c-Fos no estudo da dor foi primeiramente empregada por Hunt e cols. (HUNT; PINI; EVAN, 1987). Este método apresenta certas vantagens sobre técnicas anatômicas e eletrofisiológicas convencionais para o estudo da dor, pois pode ser usada em animais acordados, além de marcar neurônios em todo o neuroeixo (HARRIS, 1998). Vários estudos mostram que mudanças químicas e eletrofisiológicas significativas e de longa-duração desencadeadas por estimulação nociva são, pelo menos em parte, dependentes da expressão da proteína c-Fos. A inibição da expressão dessa proteína diminui a hiperalgesia da segunda fase da formalina, sugerindo uma relação causal entre os dois eventos (HOU et al., 1997).

Para estudar a influência de vias descendentes do NPtA sobre a atividade neuronal no corno dorsal da medula espinal em resposta a estimulação mecânica ou térmica na vigência de inflamação, escolhemos os tempos imediatamente e 7 dias pós-formalina para realização de imunohistoquímica c-Fos. Glutamato (5 e 50 nmol), DAMGO (311 pmol) e lidocaína 2% foram microinjetados no NPtA.

Para tanto, os animais foram submetidos a protocolos semelhantes aos utilizados nos estudos comportamentais, com a diferença de que agora, grupos diferentes de animais foram usados para estudar a hiperalgesia mecânica ou térmica, pois assim poderíamos ver a influência individual destes tipos de hiperalgesias sobre a atividade neuronal no corno dorsal da medula espinal. Além disso, a estimulação mecânica foi padronizada em 5 estímulos mecânicos em cada área estimulada (pata traseira direita, pata traseira esquerda e cauda) cada vez que as medidas eram necessárias. A estimulação térmica foi sempre repetida 2 vezes em cada área, em todos os momentos da aferição nas diversas etapas deste estudo (com exceção das medidas basais que foram repetidas 3 vezes).

Assim, observamos que a estimulação mecânica ou térmica das patas posteriores e da cauda após injeção i.pl. de formalina causa imediato e expressivo aumento no número de células c-Fos imunorreativas na lâmina V do corno dorsal da medula espinal ipsilateral. Aumento semelhante ocorreu nas lâminas I/II ipsilateral dos animais que receberam formalina i.pl. e estimulação térmica, e de forma menos expressiva (não significativa estatisticamente) nos animais que receberam estimulação mecânica. Não foi observado aumento significativo no número de células c-Fos imunorreativas nas lâminas I/II e V do corno dorsal contralateral nestes animais. Padrão semelhante de expressão de c-Fos no corno dorsal da medula espinal tem sido reportado na literatura em animais que receberam injeção i.pl. de formalina (PRESLEY et al., 1990; GOGAS et al., 1991; GOGAS et al., 1996).

A ativação do NPtA com glutamato (50 nmol) logo após a injeção i.pl. de formalina diminuiu levemente o número de células c-Fos imunorreativas nas lâminas I/II do corno dorsal ipsilateral nos animais que receberam tanto estimulação mecânica quanto térmica das patas posteriores e da cauda, e aumentou

discretamente na lâmina V contralateral dos animais com injeção i.pl. de formalina e estimulação térmica.

Quando receptores μ -opióides foram ativados no NPtA com a microinjeção de DAMGO (311 pmol) após a injeção i.pl. de formalina, ocorreu diminuição da imunorreatividade a c-Fos nas lâminas I/II ipsilateral e aumento no lado contralateral dos animais que receberam estímulo mecânico, sem, no entanto, produzir efeitos na lâmina V destes animais. Já nos animais que, nas mesmas condições, receberam estimulação térmica nas patas posteriores e na cauda, também houve aumento no número de células c-Fos imunorreativas nas lâminas I/II do lado contralateral, e diminuição na lâmina V no lado ipsilateral.

A literatura tem mostrado que opióides podem ter efeitos diferentes sobre a expressão de c-Fos nas lâminas superficiais e profundas do corno dorsal da medula espinal. A injeção i.c.v. de DAMGO inibe a imunorreatividade a c-Fos desencadeada por injeção i.pl. de formalina nas lâminas profundas, mas com poucos efeitos sobre as lâminas superficiais (GOGAS et al., 1991). Injeção i.c.v. de morfina (0.70 nmol) inibe a imunorreatividade a c-Fos nas lâminas superficiais e aumenta, ainda que discretamente, nas lâminas profundas do corno dorsal após injeção de formalina na pata (GOGAS et al., 1996).

Quando o NPtA sofreu bloqueio temporário pela microinjeção de lidocaína 2%, após a injeção i.pl. de formalina, houve aumento no número de células c-Fos imunorreativas na lâmina V do lado ipsilateral dos animais que receberam estimulação mecânica, e diminuição deste número nas lâminas I/II do lado ipsilateral dos animais com estimulação térmica. Villarreal et al., (2003) também mostraram que a ablação do NPtA reduz a imunorreatividade a c-Fos induzida por incisão na

pata nas lâminas superficiais e aumenta nas lâminas profundas do corno dorsal da medula espinal.

Também estudamos o efeito da microinjeção de glutamato (5 nmol) no NPtA sobre a imunorreatividade a c-Fos na medula espinal, logo após injeção i.pl. de salina e frente a estimulação mecânica, uma vez que em nossos resultados comportamentais foi identificado efeito pronociceptivo contra estímulos mecânicos com o uso desta dose de glutamato. Neste caso, verificamos aumento no número de células c-Fos imunorreativas na lâmina V contralateral quando 5 nmol de glutamato foi microinjetado no NPtA após a injeção de salina na pata de animais que receberam estimulação mecânica, e leve aumento também nas lâminas I/II contralateral.

Quando avaliamos a imunorreatividade a c-Fos 7 dias após injeção i.pl. de formalina, observamos aumento no número de células c-Fos imunorreativas na lâmina V do corno dorsal da medula espinal ipsilateral nos animais que receberam estimulação mecânica. Aumento semelhante, mas não significativo, foi observado nas lâminas I/II ipsilateral, dos animais que receberam estimulação térmica.

A microinjeção de glutamato (50 nmol) no NPtA 7 dias após a injeção i.pl. de formalina diminuiu o número de células c-Fos imunorreativas somente na lâmina V ipsilateral dos animais que sofreram estimulação mecânica. Já a microinjeção de DAMGO (311 pmol) aumentou este número nas lâminas I/II ipsilateral tanto dos animais que receberam estimulação mecânica quanto térmica.

O bloqueio neural do NPtA com a microinjeção de lidocaína, feita 7 dias após a injeção de formalina na pata, não apresentou efeitos significativos sobre o número de células c-Fos imunorreativas nas lâminas do corno dorsal estudadas nos animais que sofreram estimulação mecânica ou térmica.

Relacionando nossos achados imunohistoquímicos com os comportamentais, podemos ver que a intensa hiperalgesia primária mecânica e térmica observadas na pata ipsilateral dos animais, imediatamente após a injeção intraplantar de formalina, está correlacionada com o aumento no número de células c-Fos imunorreativas nas lâminas I/II e V do corno dorsal ipsilateral descritas acima. Na pata contralateral, porém, a hiperalgesia mecânica secundária observada imediatamente após a injeção i.pl. de formalina não apresentou aumento correspondente na imunorreatividade a c-Fos no corno dorsal contralateral. Não observamos o aparecimento de hiperalgesia térmica na pata contralateral nem tampouco aumento no número de células c-Fos imunorreativas nas lâminas I/II e V do corno dorsal contralateral após a injeção i.pl. de formalina e estimulação térmica.

Corroborando outros achados (FU; LIGHT; MAIXNER, 2001), 7 dias após a injeção de formalina na pata ainda detectamos hiperalgesia mecânica primária na pata ipsilateral. É possível ver aumento correspondente no número de células c-Fos imunorreativas na lâmina V do corno dorsal ipsilateral dos animais que receberam estimulação mecânica 7 dias após a injeção de formalina na pata.

Não detectamos hiperalgesia térmica primária no sétimo dia pós-formalina mas discreto aumento na imunorreatividade a c-Fos (sem significado estatístico) foi visto nas lâminas I/II do lado ipsilateral de animais com estimulação térmica 7 dias após injeção i.pl. de formalina. Da mesma forma, a pata contralateral não mostrou sinais de hiperalgesia mecânica ou térmica 7 dias após a injeção de formalina na pata. Também, não foi detectada mudança no número de células c-Fos imunorreativas no corno dorsal contralateral de animais que receberam estimulação mecânica ou térmica 7 dias pós-formalina.

A ativação do NPtA com glutamato (50 nmol) teve efeito antinociceptivo contra estímulos mecânicos na pata ipsilateral (hiperalgesia primária) principalmente 1 dia e 7 dias após a injeção i.pl. de formalina, e de forma menos intensa, imediatamente e 2 horas após a injeção i.pl. Quando o limiar para estímulo térmico foi avaliado, glutamato (50 nmol) microinjetado no NPtA promoveu efeito antinociceptivo imediatamente, 2 horas e 1 dia após a injeção de formalina, mas teve efeito menor no 7º e 14º dias.

A avaliação da atividade neuronal das lâminas do corno dorsal ipsilateral mostra que a microinjeção de glutamato (50 nmol) no NPtA imediatamente após a injeção de formalina na pata diminuiu levemente o número de células c-Fos imunorreativas nas lâminas I/II do corno dorsal ipsilateral nos animais que receberam estimulação mecânica ou térmica das patas posteriores e da cauda. Sete dias após formalina, a microinjeção de glutamato (50 nmol) diminuiu a imunorreatividade a c-Fos somente na lâmina V ipsilateral dos animais que sofreram estimulação mecânica.

A microinjeção de glutamato (50 nmol) no NPtA teve efeito antinociceptivo contra estímulos mecânicos também na pata esquerda. Este efeito foi observado até no 7º dia após a injeção de formalina na pata direita. Tais achados não mostraram correspondência com a atividade neuronal das lâminas I/II e V do corno dorsal contralateral, uma vez que não observamos mudanças no número de células c-Fos imunorreativas destas lâminas quando glutamato (50 nmol) foi microinjetado no NPtA imediatamente ou sete dias após injeção i.pl. de formalina em animais que receberam estimulação mecânica.

Aumento discreto do número de células c-Fos imunorreativas na lâmina V contralateral foi observado em animais que receberam microinjeção de glutamato

(50 nmol) imediatamente após a injeção i.pl. de formalina e que receberam estimulação térmica, apesar de não termos observado efeitos sobre o limiar para estímulo térmico da pata contralateral em nenhum dos tempos avaliados.

A microinjeção de DAMGO (156 ou 311 pmol) no NPtA causou forte efeito antinociceptivo na pata ipsilateral, na maioria das vezes dose relacionado, quando avaliados o limiar mecânico ou térmicos imediatamente, 2 horas, 1 dia, 7 dias e 14 dias após formalina, sendo que no 14º dia os efeitos foram mais discretos. Quando avaliamos o efeito da microinjeção de DAMGO (311 pmol) no NPtA imediatamente após injeção i.pl. de formalina sobre a imunorreatividade a c-Fos, observamos diminuição do número de células c-Fos imunorreativas nas lâminas I/II ipsilateral dos animais que receberam estímulo mecânico e diminuição discreta na lâmina V ipsilateral dos animais que receberam estimulação térmica. Sete dias após a injeção de formalina na pata, a microinjeção de DAMGO (311 pmol) no NPtA aumentou o número de células c-Fos imunorreativas nas lâminas I/II ipsilateral dos animais que receberam estimulação mecânica ou térmica.

O limiar mecânico e térmico da pata contralateral também sofreu intenso aumento após a microinjeção da maior dose de DAMGO, que foi efetiva em todos os tempos do estudo. Quando a menor dose de DAMGO foi microinjetada no NPtA, observamos aumento do limiar mecânico e térmicos principalmente no 1º e 7º dias pós-formalina.

A microinjeção de DAMGO (311 pmol) no NPtA imediatamente após a injeção i.pl. de formalina, aumentou o número de células c-Fos imunorreativas nas lâminas I/II no lado contralateral tanto dos animais que receberam estímulo mecânico quanto térmico nas patas posteriores e na cauda. Nenhum efeito significativo foi observado sobre a imunorreatividade a c-Fos no corno dorsal contralateral quando avaliada 7

dias após a injeção de formalina na pata de animais que receberam estimulação mecânica ou térmica.

Quando glutamato (5 nmol) foi microinjetado no NPtA observou-se efeito pronociceptivo para estímulos mecânicos na pata ipsilateral e principalmente na pata contralateral, em todos os tempos avaliados, nos animais que receberam injeção i.pl. de salina, sem efeitos visíveis contra estímulos térmicos. Verificamos aumento no número de células c-Fos imunorreativas na lâmina V contralateral e aumento discreto nas lâminas I/II contralateral, de animais que receberam microinjeção de glutamato (5 nmol) no NPtA imediatamente após injeção i.pl. de salina e que tiveram estimulação mecânica nas patas posteriores e na cauda.

O bloqueio neural do NPtA com lidocaína causou hiperalgesia secundária contra estímulos térmicos somente na cauda e imediatamente após a injeção de formalina na pata. A imunohistoquímica revelou que a microinjeção de lidocaína no NPtA imediatamente após a injeção de formalina na pata aumentou o número de células c-Fos imunorreativas na lâmina V ipsilateral dos animais com estimulação mecânica e diminuiu este número nas lâminas I/II do lado ipsilateral dos animais com estimulação térmica. Nenhum efeito significativo foi observado quando da microinjeção de lidocaína no NPtA sobre a imunorreatividade a c-Fos 7 dias após a injeção i.pl. de formalina nos animais que receberam estimulação mecânica ou térmica.

Em conjunto esses resultados indicam que a atividade neuronal da lâmina V ipsilateral mostra forte correlação com a hiperalgesia primária mecânica e térmica desencadeada pela injeção de formalina na pata, tanto imediatamente quanto a 7 dias da injeção i.pl. Estes resultados corroboram achados anteriores que apontam a atividade das lâminas profundas do corno dorsal da medula espinal como estando

mais diretamente relacionada ao comportamento nociceptivo desencadeado pela formalina do que as lâminas superficiais (GOGAS et al., 1991). Por outro lado, a hiperalgesia mecânica secundária observada na pata contralateral imediatamente após injeção i.pl. de formalina não encontrou correlação com a atividade neuronal do corno dorsal contralateral.

A ativação de circuitos glutamatérgicos no NPtA com alta dose de glutamato (50 nmol) mostrou diferente ação sobre as lâminas do corno dorsal dependente do tempo de desenvolvimento do processo inflamatório desencadeado pela formalina. Imediatamente após a instalação da inflamação as lâminas I/II ipsilaterais mostraram ter papel importante na ação antinociceptiva de influências inibitórias descendentes do NPtA em respostas a estímulos mecânicos e térmicos periféricos. Porém, 7 dias após o início do processo inflamatório, esta vias inibitórias descendentes agem sobre a lâmina V ipsilateral no sentido de inibir a hiperalgesia primária mecânica instalada.

O corno dorsal contralateral não mostrou correlação entre o comportamento nociceptivo desencadeado pela estimulação da pata contralateral e a atividade neuronal das lâminas I/II e V, pois a microinjeção de glutamato (50 nmol) teve forte efeito antinociceptivo contra estímulos mecânicos na pata contralateral mas não alterou a atividade neuronal nestas lâminas.

Outros estudos têm relatado efeito antinociceptivo sem diminuição correspondente da imunorreatividade a c-Fos no corno dorsal da medula espinal (GOGAS et al., 1991; BIRDER; DE GROAT, 1998; HAMMOND et al., 1998; SAADE et al., 1999)

Quando circuitos glutamatérgicos mais sensíveis são ativados no NPtA pela microinjeção de baixa dose de glutamato, é visto interessante efeito facilitatório

para estímulos mecânicos principalmente na pata contralateral e somente nos animais sem inflamação na pata. Além disso, nota-se correspondente aumento na atividade neuronal na lâmina V contralateral, e mais discretamente, também na lâmina I/II contralateral. Mais uma vez, correlacionando-se diretamente a atividade neuronal de lâminas profundas com o comportamento nociceptivo. Nos animais com inflamação na pata, não foi possível detectar este efeito facilitatório. Portanto, circuitos glutamatergicos mais sensíveis, ativados por baixas doses de glutamato, presentes no NPtA desencadeiam facilitação descendente que aparece somente em condições fisiológicas, cuja função fisiopatológica precisa ser melhor estudada.

Outros trabalhos têm relatado efeito dual semelhante da microinjeção de diferentes concentrações de glutamato em sítios supraespinais sobre a nocicepção (ZHUO; GEBHART, 1992; 2002a; b; VILLARREAL; KINA; PRADO, 2004b). Três horas após a injeção de CFA na pata traseira de ratos anestesiados superficialmente, a microinjeção de 10 ou 1000 pmol de NMDA no RVM facilitou e inibiu, respectivamente, a hiperalgesia térmica primária (TERAYAMA et al., 2000; GUAN et al., 2002).

A intensa antinocicepção desencadeada pela ativação de circuitos μ -opioides no NPtA não mostrou clara correlação com a atividade neuronal do corno dorsal da medula espinal. Imediatamente após o início do processo inflamatório as lâminas I/II ipsilaterais foram inibidas enquanto as contralaterais foram facilitadas quando havia estimulação mecânica periférica, um efeito antagônico para uma mesma atividade final, qual seja, a antinocicepção sobre a hiperalgesia primária (pata ipsilateral) e secundária (pata contralateral). Fato semelhante ocorreu quando utilizamos estímulos térmicos, pois apesar do efeito antinociceptivo sobre a

hiperalgesia térmica primária e secundária, a lâmina V ipsilateral foi inibida enquanto as lâminas I/II contralaterais foram facilitadas.

Sete dias após o início do processo inflamatório, as vias descendentes ativadas pela microinjeção de DAMGO (311 pmol) no NPtA tiveram a mesma ação facilitatória sobre as lâminas superficiais do corno dorsal ipsilateral quando estímulos mecânicos ou térmicos foram aplicados, e o efeito comportamental sempre foi inibição da hiperalgesia primária mecânica e térmica. Efeito comportamental semelhante foi observado na pata contralateral contra estímulos mecânico e térmico sem efeitos sobre as lâminas do corno dorsal contralateral estudadas.

Estudos anteriores têm relatado efeitos antinociceptivos de opióides sem diminuição correspondente da imunorreatividade a c-Fos no corno dorsal da medula espinal (GOGAS et al., 1991; HAMMOND et al., 1998; SAADE et al., 1999). Em outros trabalhos, analgesia total foi obtida com o uso de opióides, mas com a presença de considerável expressão de c-Fos na medula espinal (JASMIN et al., 1994; ABBADIE et al., 1997; SAADE et al., 1997; HAMMOND et al., 1998; BAI et al., 2002). A administração sistêmica, intratecal ou i.c.v. de DAMGO tem forte efeito analgésico no teste da formalina além de inibir a resposta de neurônios do corno dorsal da medula espinal (DICKENSON; SULLIVAN, 1987)

Nos primeiros momentos após a instalação da inflamação, o NPtA parece estar exercendo certa ação inibitória descendente sobre as aferências de estímulos térmicos da cauda, pois o bloqueio neural deste núcleo gerou hiperalgesia neste local. Na imunohistoquímica vimos que as lâminas superficiais do corno dorsal ipsilateral estiveram inibidas neste momento, sem efeitos sobre o corno dorsal contralateral.

Outros trabalhos têm enfatizado a importância do NPtA para redução da severidade das respostas nociceptivas em injúrias persistentes. Lesão do NPtA intensifica a autotomia desenvolvida por seccionamento da raiz dorsal (REES; TERENCE; ROBERTS, 1995) e o bloqueio neural do NPtA intensifica a dor persistente induzida por injeção intraplantar de carragenina ou incisão cirúrgica da pata de ratos (VILLARREAL; DEL BEL; PRADO, 2003).

Sete dias após o início da inflamação o NPtA parece estar exercendo poucos efeitos sobre a nocicepção, pois seu bloqueio não gerou efeitos contra estímulos mecânico ou térmico, nem tampouco alterou a atividade neuronal das lâminas do corno dorsal estudadas.

Embora os resultados comportamentais apontem que o NPtA exerce efeito antinociceptivo semelhante sobre a hiperalgesia primária e secundária, é plausível admitir que as vias descendentes responsáveis por tais efeitos atuem de forma diferente sobre a atividade neuronal das lâminas do corno dorsal da medula espinal. Em nosso estudo, a atividade celular das lâminas do corno dorsal contralateral foram sempre facilitadas pelos tratamentos que foram efetivos mesmo quando o resultado final foi inibição da hiperalgesia secundária, mostrando assim uma deficiência na correlação entre atividade neuronal nessas áreas e comportamento nociceptivo na pata contralateral.

Já a hiperalgesia primária sofreu forte influência inibitória descendente mostrada pelo número de células c-Fos imunorreativas nas lâminas do corno dorsal ipsilateral que se correlacionou diretamente com os resultados comportamentais. Facilitação da atividade neuronal também foi vista no corno dorsal ipsilateral sem correspondência comportamental.

Também é possível ver que as lâminas I/II são o principal alvo de vias descendentes facilitatórias sobre a atividade neuronal do corno dorsal, corroborando achados anteriores que mostram que vias descendentes do NPtA ativam as lâminas superficiais do corno dorsal da medula espinal (REES; TEREZI; ROBERTS, 1995; VILLARREAL; DEL BEL; PRADO, 2003).

Resultados obtidos com os testes comportamentais mostram que o NPtA parece exercer influência semelhante também sobre a hiperalgesia mecânica e térmica. Porém, a avaliação da atividade neuronal das lâminas do corno dorsal mostra algumas particularidades em cada caso. O bloqueio neuronal do NPtA no início do processo inflamatório mostra que, nesse momento, vias descendentes do NPtA inibem as lâminas profundas ipsilaterais em resposta à estimulação mecânica e, quando há estimulação térmica, a inibição se dá nas lâminas superficiais ipsilaterais. Efeito oposto é observado com a microinjeção de DAMGO (311 pmol) no NPtA imediatamente após a injeção de formalina na pata, quando se observa inibição das lâminas superficiais ipsilaterais em resposta a estimulação mecânica e inibição mais discreta das lâminas profundas ipsilaterais em resposta a estimulação térmica.

Mais estudos são necessários para compreender os mecanismos descendentes de controle da nocicepção. A plasticidade do controle descendente parece ser componente integral das síndromes eliciadas por dano periférico persistente. Os dados ainda são insuficientes para inferir que princípio geral guia as operações e transformações do sistema descendente de controle da dor em face de um dano periférico persistente como a inflamação. Como vimos aqui e em outros trabalhos citados, parece haver uma mistura de inibição e facilitação descendentes, mas esse equilíbrio parece ser diferente para a hiperalgesia primária e secundária,

para hiperalgesia mecânica ou térmica e ainda pode sofrer mudanças no decorrer do desenvolvimento do processo patológico. Pacientes que experimentam dores crônicas, freqüentemente necessitam de intervenções em tempos substancialmente longos após a ocorrência da injúria, e via de regra, a eficiência da terapêutica diminui com o tempo, o que reforça a necessidade do conhecimento desses mecanismos, não só os que iniciam, mas também os que mantêm essas dores.

A intensa hiperalgesia primária mecânica e térmica observadas na pata ipsilateral, imediatamente após a injeção intraplantar de formalina, está correlacionada com o aumento no número de células c-Fos imunorreativas nas lâminas I/II e V do corno dorsal ipsilateral;

A hiperalgesia mecânica secundária observada imediatamente após a injeção i.pl. de formalina não teve aumento correspondente no número de células c-Fos imunorreativas no corno dorsal contralateral;

A atividade neuronal da lâmina V ipsilateral mostra forte correlação com a hiperalgesia primária mecânica e térmica desencadeada pela injeção de formalina na pata, tanto imediatamente quanto 7 dias após a injeção i.pl.;

O NPtA exerce efeitos semelhantes sobre as hiperalgesia primária e secundária, porém, as vias descendentes responsáveis por tal efeito agem de forma diferente sobre a atividade neuronal das lâminas do corno dorsal da medula espinal;

As lâminas I/II são o principal alvo de vias descendentes facilitatórias oriundas do NPtA;

O NPtA parece exercer influência semelhante também sobre a hiperalgesia mecânica e térmica, porém, as vias descendentes responsáveis por tal efeito agem de forma diferente sobre a atividade neuronal das lâminas do corno dorsal da medula espinal.

Referências bibliográficas

ABBADIE, C.; TAYLOR, B. K.; PETERSON, M. A.; BASBAUM, A. I. Differential contribution of the two phases of the formalin test to the pattern of c-fos expression in the rat spinal cord: studies with remifentanil and lidocaine. **Pain**, v. 69, n. 1-2, p. 101-110, 1997.

ABBOTT, F. V.; HONG, Y.; FRANKLIN, K. B. The effect of lesions of the dorsolateral funiculus on formalin pain and morphine analgesia: a dose-response analysis. **Pain**, v. 65, n. 1, p. 17-23, 1996.

ALREJA, M.; MUTALIK, P.; NAYAR, U.; MANCHANDA, S. K. The formalin test: a tonic pain model in the primate. **Pain**, v. 20, n. 1, p. 97-105, 1984.

ATWEH, S. F.; KUHAR, M. J. Autoradiographic localization of opiate receptors in rat brain. II. The brain stem. **Brain Res**, v. 129, n. 1, p. 1-12, 1977.

BAI, Z. T.; CHEN, B.; ZHANG, X. Y.; FAN, G. L.; JI, Y. H. c-Fos expression in rat spinal cord induced by scorpion BmK venom via plantar subcutaneous injection. **Neurosci Res**, v. 44, n. 4, p. 447-454, 2002.

BERGE, O. G.; GARCIA-CABRERA, I.; HOLE, K. Response latencies in the tail-flick test depend on tail skin temperature. **Neurosci Lett**, v. 86, n. 3, p. 284-288, 1988.

BIANCHI, M.; PANERAI, A. E. Formalin injection in the tail facilitates hindpaw withdrawal reflexes induced by thermal stimulation in the rat: effect of paracetamol. **Neurosci Lett**, v. 237, n. 2-3, p. 89-92, 1997.

BIRDER, L. A.; DE GROAT, W. C. Contribution of C-fiber afferent nerves and autonomic pathways in the urinary bladder to spinal c-fos expression induced by bladder irritation. **Somatosens Mot Res**, v. 15, n. 1, p. 5-12, 1998.

BLIX, M. Experimentelle Beiträge zur Lösung der Frage über die Speifische Energie der Hautherven. **Zeitschrift für Biologie**, v. 20, n., p. 141-156, 1884.

CALEJESAN, A. A.; CH'ANG, M. H.; ZHUO, M. Spinal serotonergic receptors mediate facilitation of a nociceptive reflex by subcutaneous formalin injection into the hindpaw in rats. **Brain Res**, v. 798, n. 1-2, p. 46-54, 1998.

CARLI, G.; FARABOLLINI, F.; FONTANI, G. Effects of pain, morphine and naloxone on the duration of animal hypnosis. **Behav Brain Res**, v. 2, n. 3, p. 373-385, 1981.

CHIANG, C. Y.; CHEN, I. C.; DOSTROVSKY, J. O.; SESSLE, B. J. Inhibitory effect of stimulation of the anterior pretectal nucleus on the jaw-opening reflex. **Brain Res**, v. 497, n. 2, p. 325-333, 1989.

COGHILL, R. C.; PRICE, D. D.; HAYES, R. L.; MAYER, D. J. Spatial distribution of nociceptive processing in the rat spinal cord. **J Neurophysiol**, v. 65, n. 1, p. 133-140, 1991.

CULBERSON, J. L.; HAINES, D. E.; KIMMEL, D. L.; BROWN, P. B. Contralateral projection of primary afferent fibers to mammalian spinal cord. **Exp Neurol**, v. 64, n. 1, p. 83-97, 1979.

DALLENBACH, K. M. Somesthesia. In: Baring, E. G., Langfield, H. S., *et al* (Ed.). **Introduction to psychology**. New York: John Wiley, 1939, p.608-625.

DE OLIVEIRA, R. W.; DEL BEL, E. A.; GUIMARAES, F. S. Behavioral and c-fos expression changes induced by nitric oxide donors microinjected into the dorsal periaqueductal gray. **Brain Res Bull**, v. 51, n. 6, p. 457-464, 2000.

DENNIS, S. G.; MELZACK, R. Comparison of phasic and tonic pain in animals. In: Bonica, J. J. L., J. C.; Albé-Fessard, D. (Ed.). **Advances in Pain Research and Therapy** New York Raven Press, 1979. v.3, p.747-760.

DICKENSON, A. H.; SULLIVAN, A. F. Subcutaneous formalin-induced activity of dorsal horn neurones in the rat: differential response to an intrathecal opiate administered pre or post formalin. **Pain**, v. 30, n. 3, p. 349-360, 1987.

DUBNER, R.; KENSHALO, D. R., JR.; MAIXNER, W.; BUSHNELL, M. C.; OLIVERAS, J. L. The correlation of monkey medullary dorsal horn neuronal activity and the perceived intensity of noxious heat stimuli. **J Neurophysiol**, v. 62, n. 2, p. 450-457, 1989.

DUBUISSON, D.; DENNIS, S. G. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. **Pain**, v. 4, n. 2, p. 161-174, 1977.

DUMOULIN, A.; ALONSO, G.; PRIVAT, A.; FELDBLUM, S. Biphasic response of spinal GABAergic neurons after a lumbar rhizotomy in the adult rat. **Eur J Neurosci**, v. 8, n. 12, p. 2553-2563, 1996.

FALLON, J. H.; LESLIE, F. M. Distribution of dynorphin and enkephalin peptides in the rat brain. **J Comp Neurol**, v. 249, n. 3, p. 293-336, 1986.

FIELDS, H. L.; HEINRICHER, M. M.; MASON, P. Neurotransmitters in nociceptive modulatory circuits. **Annu Rev Neurosci**, v. 14, n., p. 219-245, 1991.

FIELDS, H. L.; BASBAUM, A. I. Central nervous system mechanisms of pain modulation. In: Wall, P. D. e Melzack, R. (Ed.). **Textbook of Pain**. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1999, p.309-329.

FINGER, S. **Origins of Neuroscience: A History of Explorations into Brain Function** Oxford: Oxford University Press, 2001. 480 p.

FU, K. Y.; LIGHT, A. R.; MAIXNER, W. Long-lasting inflammation and long-term hyperalgesia after subcutaneous formalin injection into the rat hindpaw. **J Pain**, v. 2, n. 1, p. 2-11, 2001.

GEBHART, G. F. **Visceral Pain**. Seattle: IASP Press, 1995. 516 p.

GILBERT, A. K.; FRANKLIN, K. B. GABAergic modulation of descending inhibitory systems from the rostral ventromedial medulla (RVM). Dose-response analysis of nociception and neurological deficits. **Pain**, v. 90, n. 1-2, p. 25-36, 2001.

GOGAS, K. R.; PRESLEY, R. W.; LEVINE, J. D.; BASBAUM, A. I. The antinociceptive action of supraspinal opioids results from an increase in descending inhibitory control: correlation of nociceptive behavior and c-fos expression. **Neuroscience**, v. 42, n. 3, p. 617-628, 1991.

GOGAS, K. R.; CHO, H. J.; BOTCHKINA, G. I.; LEVINE, J. D.; BASBAUM, A. I. Inhibition of noxious stimulus-evoked pain behaviors and neuronal fos-like immunoreactivity in the spinal cord of the rat by supraspinal morphine. **Pain**, v. 65, n. 1, p. 9-15, 1996.

GOLDSCHIEDER, A. Die spezifische energie der gefühlsnerven der haut. **Monatshft. Prak. Derm**, v. 3, n., p., 1884.

GOODMAN, R. R.; SNYDER, S. H.; KUCHAR, M. J.; YOUNG, W. S., 3RD. Differentiation of delta and mu opiate receptor localizations by light microscopic autoradiography. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 77, n. 10, p. 6239-6243, 1980.

GREEN, G. M.; SCARTH, J.; DICKENSON, A. An excitatory role for 5-HT in spinal inflammatory nociceptive transmission; state-dependent actions via dorsal horn 5-HT(3) receptors in the anaesthetized rat. **Pain**, v. 89, n. 1, p. 81-88, 2000.

GUAN, Y.; TERAYAMA, R.; DUBNER, R.; REN, K. Plasticity in excitatory amino acid receptor-mediated descending pain modulation after inflammation. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 300, n. 2, p. 513-520, 2002.

HABLER, H. J.; JANIG, W.; KOLTZENBURG, M. Activation of unmyelinated afferent fibres by mechanical stimuli and inflammation of the urinary bladder in the cat. **J Physiol**, v. 425, n., p. 545-562, 1990.

HAMMOND, D. L.; WANG, H.; NAKASHIMA, N.; BASBAUM, A. I. Differential effects of intrathecally administered delta and mu opioid receptor agonists on formalin-evoked nociception and on the expression of Fos-like immunoreactivity in the spinal cord of the rat. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 284, n. 1, p. 378-387, 1998.

HARRIS, J. A. Using c-fos as a neural marker of pain. **Brain Res Bull**, v. 45, n. 1, p. 1-8, 1998.

HEAPY, C. G.; JAMIESON, A.; RUSSEL, N. J. W. Afferent C-fibre and A delta activity in models of inflammation. **Br. J. Pharmacol.**, v. 90, n., p. 164, 1987.

HEINRICHER, M. M.; MORGAN, M. M.; FIELDS, H. L. Direct and indirect actions of morphine on medullary neurons that modulate nociception. **Neuroscience**, v. 48, n. 3, p. 533-543, 1992.

HENRY, J. L. The need for knowledge translation in chronic pain. **Pain Res Manag**, v. 13, n. 6, p. 465-476, 2008.

HONG, Y.; ABBOTT, F. V. Peripheral opioid modulation of pain and inflammation in the formalin test. **Eur J Pharmacol**, v. 277, n. 1, p. 21-28, 1995.

HOU, W. Y.; SHYU, B. C.; CHEN, T. M.; LEE, J. W.; SHIEH, J. Y.; SUN, W. Z. Intrathecally administered c-fos antisense oligodeoxynucleotide decreases formalin-induced nociceptive behavior in adult rats. **Eur J Pharmacol**, v. 329, n. 1, p. 17-26, 1997.

HUGE, V.; SCHLODERER, U.; STEINBERGER, M.; WUENSCHMANN, B.; SCHOPS, P.; BEYER, A.; AZAD, S. C. Impact of a functional restoration program on pain and health-related quality of life in patients with chronic low back pain. **Pain Med**, v. 7, n. 6, p. 501-508, 2006.

HUGHES, R. A.; SUFKA, K. J. Morphine hyperalgesic effects on the formalin test in domestic fowl (*Gallus gallus*). **Pharmacol Biochem Behav**, v. 38, n. 2, p. 247-251, 1991.

HUNSKAAR, S.; FASMER, O. B.; HOLE, K. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. **J Neurosci Methods**, v. 14, n. 1, p. 69-76, 1985.

HUNT, S. P.; PINI, A.; EVAN, G. Induction of c-fos-like protein in spinal cord neurons following sensory stimulation. **Nature**, v. 328, n. 6131, p. 632-634, 1987.

HURLEY, R. W.; HAMMOND, D. L. The analgesic effects of supraspinal mu and delta opioid receptor agonists are potentiated during persistent inflammation. **J Neurosci**, v. 20, n. 3, p. 1249-1259, 2000.

HYLDEN, J. L.; THOMAS, D. A.; IADAROLA, M. J.; NAHIN, R. L.; DUBNER, R. Spinal opioid analgesic effects are enhanced in a model of unilateral inflammation/hyperalgesia: possible involvement of noradrenergic mechanisms. **Eur J Pharmacol**, v. 194, n. 2-3, p. 135-143, 1991.

IASP. Pain terms: a list with definitions and notes on usage. Recommended by the IASP Subcommittee on Taxonomy. **Pain**, v. 6, n. 3, p. 249, 1979.

JASMIN, L.; WANG, H.; TARCZY-HORNOCH, K.; LEVINE, J. D.; BASBAUM, A. I. Differential effects of morphine on noxious stimulus-evoked fos-like immunoreactivity in subpopulations of spinoparabrachial neurons. **J Neurosci**, v. 14, n. 12, p. 7252-7260, 1994.

JENSEN, K.; ANDERSEN, H. O.; OLESEN, J.; LINDBLOM, U. Pressure-pain threshold in human temporal region. Evaluation of a new pressure algometer. **Pain**, v. 25, n. 3, p. 313-323, 1986.

KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSEL, T. M. **Principles of Neural Science**. New York: McGraw-Hill, 2000. 1414 p.

KEAY, K. A.; BANDLER, R. Deep and superficial noxious stimulation increases Fos-like immunoreactivity in different regions of the midbrain periaqueductal grey of the rat. **Neurosci Lett**, v. 154, n. 1-2, p. 23-26, 1993.

- MAMEDE ROSA, M. L.; PRADO, W. A. Antinociception induced by opioid or 5-HT agonists microinjected into the anterior pretectal nucleus of the rat. **Brain Res**, v. 757, n. 1, p. 133-138, 1997.
- MANSOUR, A.; THOMPSON, R. C.; AKIL, H.; WATSON, S. J. Delta opioid receptor mRNA distribution in the brain: comparison to delta receptor binding and proenkephalin mRNA. **J Chem Neuroanat**, v. 6, n. 6, p. 351-362, 1993.
- MELDRUM, M. L. A capsule history of pain management. **JAMA**, v. 290, n. 18, p. 2470-2475, 2003.
- MELZACK, R.; WALL, P. D. Pain mechanisms: a new theory. **Science**, v. 150, n. 699, p. 971-979, 1965.
- MENSE, S. Nociception from skeletal muscle in relation to clinical muscle pain. **Pain**, v. 54, n. 3, p. 241-289, 1993.
- MIAMPAMBA, M.; CHERY-CROZE, S.; GORRY, F.; BERGER, F.; CHAYVIALLE, J. A. Inflammation of the colonic wall induced by formalin as a model of acute visceral pain. **Pain**, v. 57, n. 3, p. 327-334, 1994.
- MILLAN, M. J. The induction of pain: an integrative review. **Prog Neurobiol**, v. 57, n. 1, p. 1-164, 1999.
- MILNE, R. J.; GAMBLE, G. D. Habituation to sham testing procedures modifies tail-flick latencies: effects on nociception rather than vasomotor tone. **Pain**, v. 39, n. 1, p. 103-107, 1989.
- MOLLER, K. A.; JOHANSSON, B.; BERGE, O. G. Assessing mechanical allodynia in the rat paw with a new electronic algometer. **J Neurosci Methods**, v. 84, n. 1-2, p. 41-47, 1998.
- MORGAN, M. M.; GOLD, M. S.; LIEBESKIND, J. C.; STEIN, C. Periaqueductal gray stimulation produces a spinally mediated, opioid antinociception for the inflamed hindpaw of the rat. **Brain Res**, v. 545, n. 1-2, p. 17-23, 1991.
- NETO, F. L.; SCHADRACK, J.; ABLEITNER, A.; CASTRO-LOPES, J. M.; BARTENSTEIN, P.; ZIEGLGANSBERGER, W.; TOLLE, T. R. Spinal metabolic activity changes in the rat during adjuvant monoarthritis. **Neuroscience**, v. 94, n. 2, p. 607-621, 1999.
- OJUGAS, A. C. **A dor através da história e da arte**. São Paulo: Atlas Medical Publishing Ltd., 1999.
- OLUYOMI, A. O.; HART, S. L.; SMITH, T. W. Differential antinociceptive effects of morphine and methylnorphine in the formalin test. **Pain**, v. 49, n. 3, p. 415-418, 1992.
- OYAMA, T.; UEDA, M.; KURAISHI, Y.; AKAIKE, A.; SATOH, M. Dual effect of serotonin on formalin-induced nociception in the rat spinal cord. **Neurosci Res**, v. 25, n. 2, p. 129-135, 1996.

PAXINOS, G.; WATSON, C. **The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates**. New York: NY: Academic Press, 1986.

PERL, E. R. Ideas about pain, a historical view. **Nat Rev Neurosci**, v. 8, n. 1, p. 71-80, 2007.

PORRO, C. A.; CAVAZZUTI, M.; GALETTI, A.; SASSATELLI, L. Functional activity mapping of the rat brainstem during formalin-induced noxious stimulation. **Neuroscience**, v. 41, n. 2-3, p. 667-680, 1991.

PORRO, C. A.; CAVAZZUTI, M. Spatial and temporal aspects of spinal cord and brainstem activation in the formalin pain model. **Prog Neurobiol**, v. 41, n. 5, p. 565-607, 1993.

PORTER, D. G. Ethical scores for animal experiments. **Nature**, v. 356, n. 6365, p. 101-102, 1992.

PRADO, W. A.; ROBERTS, M. H. An assessment of the antinociceptive and aversive effects of stimulating identified sites in the rat brain. **Brain Res**, v. 340, n. 2, p. 219-228, 1985.

PRESLEY, R. W.; MENETREY, D.; LEVINE, J. D.; BASBAUM, A. I. Systemic morphine suppresses noxious stimulus-evoked Fos protein-like immunoreactivity in the rat spinal cord. **J Neurosci**, v. 10, n. 1, p. 323-335, 1990.

REES, H.; ROBERTS, M. H. Anterior pretectal stimulation alters the responses of spinal dorsal horn neurones to cutaneous stimulation in the rat. **J Physiol**, v. 385, n., p. 415-436, 1987.

REES, H.; ROBERTS, M. H. Activation of cells in the anterior pretectal nucleus by dorsal column stimulation in the rat. **J Physiol**, v. 417, n., p. 361-373, 1989.

REES, H.; TERENCE, M. G.; ROBERTS, M. H. Anterior pretectal nucleus facilitation of superficial dorsal horn neurones and modulation of deafferentation pain in the rat. **J Physiol**, v. 489 (Pt 1), n., p. 159-169, 1995.

REN, K.; RUDA, M. A. Descending modulation of Fos expression after persistent peripheral inflammation. **Neuroreport**, v. 7, n. 13, p. 2186-2190, 1996.

REN, K.; DUBNER, R. Enhanced descending modulation of nociception in rats with persistent hindpaw inflammation. **J Neurophysiol**, v. 76, n. 5, p. 3025-3037, 1996.

REYNOLDS, D. V. Surgery in the rat during electrical analgesia induced by focal brain stimulation. **Science**, v. 164, n. 878, p. 444-445, 1969.

ROBERTS, M. H.; REES, H. The antinociceptive effects of stimulating the pretectal nucleus of the rat. **Pain**, v. 25, n. 1, p. 83-93, 1986.

ROSLAND, J. H. The formalin test in mice: the influence of ambient temperature. **Pain**, v. 45, n. 2, p. 211-216, 1991.

SAADE, N. E.; ABOU JAOUDE, P. G.; SAADEH, F. A.; HAMOUI, S.; SAFIEH-GARABEDIAN, B.; KANAAN, S. A.; ATWEH, S. F.; JABBUR, S. J. Fos-like
Silveira, JWS

immunoreactivity induced by intraplantar injection of endotoxin and its reduction by morphine. **Brain Res**, v. 769, n. 1, p. 57-65, 1997.

SAADE, N. E.; LAWAND, H. F.; SAFIEH-GARABEDIAN, B.; KANAAN, S. A.; ATWEH, S. F.; JABBUR, S. J. Thymulin induces c-fos expression in the spinal cord of rats which is reversed by meloxicam and morphine. **J Neuroimmunol**, v. 97, n. 1-2, p. 16-24, 1999.

SHERRINGTON, C. S. **The integrative action of the nervous system**. New York: C Scribner and Sons, 1906.

SIDDALL, P. J.; COUSINS, M. J. Persistent pain as a disease entity: implications for clinical management. **Anesth Analg**, v. 99, n. 2, p. 510-520, table of contents, 2004.

TAKAHASHI, H.; SHIBATA, M.; OHKUBO, T.; NARUSE, S. [Formalin-induced minor tremor response as an indicator of pain]. **Nippon Yakurigaku Zasshi**, v. 84, n. 4, p. 353-362, 1984.

TEMPEL, A.; ZUKIN, R. S. Neuroanatomical patterns of the mu, delta, and kappa opioid receptors of rat brain as determined by quantitative in vitro autoradiography. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 84, n. 12, p. 4308-4312, 1987.

TERAYAMA, R.; GUAN, Y.; DUBNER, R.; REN, K. Activity-induced plasticity in brain stem pain modulatory circuitry after inflammation. **Neuroreport**, v. 11, n. 9, p. 1915-1919, 2000.

TERAYAMA, R.; DUBNER, R.; REN, K. The roles of NMDA receptor activation and nucleus reticularis gigantocellularis in the time-dependent changes in descending inhibition after inflammation. **Pain**, v. 97, n. 1-2, p. 171-181, 2002.

TJOLSEN, A.; BERGE, O. G.; EIDE, P. K.; BROCH, O. J.; HOLE, K. Apparent hyperalgesia after lesions of the descending serotonergic pathways is due to increased tail skin temperature. **Pain**, v. 33, n. 2, p. 225-231, 1988.

TJOLSEN, A.; BERGE, O. G.; HUNSKAAR, S.; ROSLAND, J. H.; HOLE, K. The formalin test: an evaluation of the method. **Pain**, v. 51, n. 1, p. 5-17, 1992.

URBAN, M. O.; JIANG, M. C.; GEBHART, G. F. Participation of central descending nociceptive facilitatory systems in secondary hyperalgesia produced by mustard oil. **Brain Res**, v. 737, n. 1-2, p. 83-91, 1996.

URBAN, M. O.; GEBHART, G. F. Descending nociceptive facilitatory influences modulated by NMDA and neurotensin receptors in the rostral ventromedial medulla significantly contribute to secondary, but not primary thermal hyperalgesia. **Proc. 9th World Congr. Pain**, v., n., p. 147, 1999.

URBAN, M. O.; ZAHN, P. K.; GEBHART, G. F. Descending facilitatory influences from the rostral medial medulla mediate secondary, but not primary hyperalgesia in the rat. **Neuroscience**, v. 90, n. 2, p. 349-352, 1999.

VANEGAS, H.; SCHAIBLE, H. G. Descending control of persistent pain: inhibitory or facilitatory? **Brain Res Brain Res Rev**, v. 46, n. 3, p. 295-309, 2004.

VILLARREAL, C. F.; DEL BEL, E. A.; PRADO, W. A. Involvement of the anterior pretectal nucleus in the control of persistent pain: a behavioral and c-Fos expression study in the rat. **Pain**, v. 103, n. 1-2, p. 163-174, 2003.

VILLARREAL, C. F.; KINA, V. A.; PRADO, W. A. Antinociception induced by stimulating the anterior pretectal nucleus in two models of pain in rats. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 31, n. 9, p. 608-613, 2004a.

VILLARREAL, C. F.; KINA, V. A.; PRADO, W. A. Participation of brainstem nuclei in the pronociceptive effect of lesion or neural block of the anterior pretectal nucleus in a rat model of incisional pain. **Neuropharmacology**, v. 47, n. 1, p. 117-127, 2004b.

VILLARREAL, C. F.; PRADO, W. A. Modulation of persistent nociceptive inputs in the anterior pretectal nucleus of the rat. **Pain**, v. 132, n. 1-2, p. 42-52, 2007.

VON FREY, M. Ueber den Gebrauch von Reizhaaren. **Untersuchungen über die Sinnesfunktionen der menschlichen Haut. Erste Abhandlung: Druckempfindung und Schmerz. Abhandlungen der mathematisch-physischen Classe der Königlich Sächsischen Gesellschaft der Wissenschaften**, v. 23, n., p. 208-217, 1896.

WATKINS, L. R.; WIERTELAK, E. P.; GOEHLER, L. E.; MOONEY-HEIBERGER, K.; MARTINEZ, J.; FURNESS, L.; SMITH, K. P.; MAIER, S. F. Neurocircuitry of illness-induced hyperalgesia. **Brain Res**, v. 639, n. 2, p. 283-299, 1994.

WEI, F.; REN, K.; DUBNER, R. Inflammation-induced Fos protein expression in the rat spinal cord is enhanced following dorsolateral or ventrolateral funiculus lesions. **Brain Res**, v. 782, n. 1-2, p. 136-141, 1998.

WEI, F.; DUBNER, R.; REN, K. Nucleus reticularis gigantocellularis and nucleus raphe magnus in the brain stem exert opposite effects on behavioral hyperalgesia and spinal Fos protein expression after peripheral inflammation. **Pain**, v. 80, n. 1-2, p. 127-141, 1999.

WIERTELAK, E. P.; FURNESS, L. E.; HORAN, R.; MARTINEZ, J.; MAIER, S. F.; WATKINS, L. R. Subcutaneous formalin produces centrifugal hyperalgesia at a non-injected site via the NMDA-nitric oxide cascade. **Brain Res**, v. 649, n. 1-2, p. 19-26, 1994.

WIERTELAK, E. P.; ROEMER, B.; MAIER, S. F.; WATKINS, L. R. Comparison of the effects of nucleus tractus solitarius and ventral medial medulla lesions on illness-induced and subcutaneous formalin-induced hyperalgesias. **Brain Res**, v. 748, n. 1-2, p. 143-150, 1997.

WILSON, D. G.; REES, H.; ROBERTS, M. H. The antinociceptive effects of anterior pretectal stimulation in tests using thermal, mechanical and chemical noxious stimuli. **Pain**, v. 44, n. 2, p. 195-200, 1991.

ZAGON, A.; MENG, X.; FIELDS, H. L. Intrinsic membrane characteristics distinguish two subsets of nociceptive modulatory neurons in rat RVM. **J Neurophysiol**, v. 78, n. 6, p. 2848-2858, 1997.

ZHUO, M.; GEBHART, G. F. Characterization of descending facilitation and inhibition of spinal nociceptive transmission from the nuclei reticularis gigantocellularis and gigantocellularis pars alpha in the rat. **J Neurophysiol**, v. 67, n. 6, p. 1599-1614, 1992.

ZHUO, M.; GEBHART, G. F. Biphasic modulation of spinal nociceptive transmission from the medullary raphe nuclei in the rat. **J Neurophysiol**, v. 78, n. 2, p. 746-758, 1997.

ZHUO, M.; GEBHART, G. F. Facilitation and attenuation of a visceral nociceptive reflex from the rostroventral medulla in the rat. **Gastroenterology**, v. 122, n. 4, p. 1007-1019, 2002a.

ZHUO, M.; GEBHART, G. F. Modulation of noxious and non-noxious spinal mechanical transmission from the rostral medial medulla in the rat. **J Neurophysiol**, v. 88, n. 6, p. 2928-2941, 2002b.

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

ZIMMERMANN, M. Ethical considerations in relation to pain in animal experimentation. **Acta Physiol Scand Suppl**, v. 554, n., p. 221-233, 1986.

Resumo - Resultados comportamentais

NPtA	Estímulo	Imediatam		2 horas		1 dia		7 dias		14 dias		
		Sal	Form	Sal	Form	Sal	Form	Sal	Form	Sal	Form	
Glutamato 5 nmol	Pata Dir	Mecânico	↓	↑*	↓	-	↓	-	↓*	↑	↓	↓
		Térmico	-	↑	-	↑	↑	↑	↑	-	↑	↑
	Cauda	Mecânico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Térmico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Pata Esq	Mecânico	↓*	↑	↓*	-	↓	-	↓**	-	↓	↑
		Térmico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glutamato 50 nmol	Pata Dir	Mecânico	↑	↑	↑*	↑	↑***	↑***	↑*	↑**	↑***	-
		Térmico	↑	↑*	↑	↑**	↑*	↑*	↑*	↑	↑*	↑
	Cauda	Mecânico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Térmico	-	-	-	-	↑*	-	↑**	-	↑	-
	Pata Esq	Mecânico	↑	↑***	↑	↑**	↑*	↑***	↑	↑***	↑***	-
		Térmico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DAMGO 156 pmol	Pata Dir	Mecânico	-	↑*	-	↑*	↑***	↑***	-	↑*	↑	-
		Térmico	-	↑*	↑	↑	↑**	↑**	↑***	↑**	↑**	↑
	Cauda	Mecânico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Térmico	-	-	-	-	↑**	↑*	↑*	↑*	↑**	↑*
	Pata Esq	Mecânico	-	↑	-	-	↑**	↑***	-	↑**	↑*	↑
		Térmico	-	↑	-	-	↑	↑***	↑*	-	↑**	-
DAMGO 311 pmol	Pata Dir	Mecânico	↑**	↑*	↑*	↑***	↑***	↑***	↑**	↑*	↑**	↑**
		Térmico	↑**	↑***	↑***	↑***	↑***	↑**	↑***	↑***	↑**	↑
	Cauda	Mecânico	↑*	↑*	-	↑**	↑	↑*	-	-	-	-
		Térmico	↑***	↑***	↑***	↑***	↑**	↑*	↑*	↑*	↑**	↑*
	Pata Esq	Mecânico	↑***	↑***	↑**	↑***	↑***	↑***	↑*	↑***	↑	↑*
		Térmico	↑*	↑***	↑***	↑***	↑***	↑***	↑**	↑*	↑**	↑*
Lidocaína 2%	Pata Dir	Mecânico	↓	-	↓	↓**	↓	-	-	-	↓	↓
		Térmico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Cauda	Mecânico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Térmico	↓	↓***	-	-	↓	-	↓	-	-	-
	Pata Esq	Mecânico	↑	↑	↓	-	-	-	-	-	-	↑
		Térmico	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

↑ Aumento dos limiares
 ↓ Diminuição dos limiares

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 Diferença estatística significativa (One-way ANOVA + teste de Tukey)

Resumo - Resultados de Imunohistoquímica

				Imediatam	
NPtA		Estímulo		Salina	
Glutamato 5nmol	Ipsilateral	Lam I/II	Mecânico	-	
		Lam V	Mecânico	-	
	Contralateral	Lam I/II	Mecânico	↑	
		Lam V	Mecânico	↑*	
				Imediatam	7 dias
				Formalina	Formalina
Glutamato 50 nmol	Ipsilateral	Lam I/II	Mecânico	↓	-
			Térmico	↓	↑*
		Lam V	Mecânico	-	↓*
			Térmico	-	-
	Contralateral	Lam I/II	Mecânico	-	-
			Térmico	-	-
		Lam V	Mecânico	-	-
			Térmico	↑	-
DAMGO 311 pmol	Ipsilateral	Lam I/II	Mecânico	↓*	↑***
			Térmico	-	↑*
		Lam V	Mecânico	-	-
			Térmico	↓	-
	Contralateral	Lam I/II	Mecânico	↑*	-
			Térmico	↑**	↑
		Lam V	Mecânico	-	-
			Térmico	-	-
Lidocaína 2%	Ipsilateral	Lam I/II	Mecânico	-	-
			Térmico	↓*	-
		Lam V	Mecânico	↑***	-
			Térmico	-	-
	Contralateral	Lam I/II	Mecânico	-	-
			Térmico	-	-
		Lam V	Mecânico	↑	-
			Térmico	-	-

↑ Aumento do número de células c-Fos imunorreativas

↓ Diminuição do número de células c-Fos imunorreativas

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 Diferença estatística significativa (One-way ANOVA + Newman-Keuls)

Inhibitory and facilitatory descending mechanisms from APtN: Influences upon primary and secondary, mechanical and thermal hyperalgesia

Silveira, J.W.S. and W.A. Prado*

Department of Pharmacology, Faculty of Medicine of Ribeirao Preto, University of São Paulo, São Paulo 14049-900, Brazil.

Abstract

Descending modulation of nociception is a mixture of inhibition and facilitation. It seems that different hyperalgesias can be handled differently by the descending control system. The Anterior Pretectal Nucleus (APtN) is known to be involved in descending pathways that control noxious spinal inputs. Here, we examine the role of APtN stimulation on primary and secondary, mechanical and thermal hyperalgesia caused by intraplantar (i.p.) formalin in rats. After injection of formalin (5%, 50 μ l) or saline (50 μ l) in the dorsal region of the right hind paw, glutamate (5 or 50 nMol, 250 nl) was microinjected in the contralateral APtN and the mechanical and thermal hyperalgesia was evaluated in the ventral surface of the right (primary hyperalgesia) and left (secondary hyperalgesia) hind paw. Formalin caused strong primary mechanical and thermal hyperalgesia. Secondary mechanical but not thermal hyperalgesia was detected. APtN stimulation with glutamate (50 nmol) reduced primary mechanical and thermal hyperalgesia and blocked the secondary mechanical hyperalgesia. Hyperalgesic effect to mechanical stimulus was observed when 5 nmol of glutamate was microinjected into the NPtA. Therefore, NPtA activation can lead to inhibitory or facilitatory descending modulation on pain.

* Corresponding author.

Department of Pharmacology, Faculty of Medicine of Ribeirão Preto
Av. Bandeirantes 3900, CEP 14049-900, Ribeirão Preto, SP, Brazil
Tel.: +55 16 36023038; fax: +55 16 36332301.

E-mail address: wadprado@fmrp.usp.br (W.A. Prado)

1. Introduction

Inflammation of peripheral tissues lead to increased responses to noxious stimuli (primary hyperalgesia) and aversive responses to previously innocuous stimuli (primary allodynia) when the stimuli are applied to the affected body part, as well as expansion of the hypersensitivity toward neighboring but undamaged tissues (secondary hyperalgesia and allodynia) (VANEGAS; SCHAIBLE, 2004). Inflammation triggers both descending inhibition and facilitation onto both primary and secondary hyperalgesic mechanisms in the spinal cord; but the balance for primary hyperalgesia is different from the balance for secondary hyperalgesia. The formalin test is a frequently used model of sustained peripheral damage. The subcutaneous (s.c.) injection of formalin gives rise to an early phase (1–5 min after injection, approximately) and a late phase (15–60 min approximately) of pain sensation in humans and nociceptive behavior in animals (PORRO; CAVAZZUTI, 1993). Spinal nociceptive neurons with receptive fields in the injected paw show corresponding early and late phases of firing (DICKENSON; SULLIVAN, 1987).

It seems that tonic descending inhibitory influences are already present when formalin is injected. If this inhibition is eliminated by dorsolateral funiculus section at the thoracic level, formalin injection causes a more intense response (ABBOTT; HONG; FRANKLIN, 1996). There is evidence that the early phase of the formalin response is facilitated by descending serotonergic projections (GREEN; SCARTH; DICKENSON, 2000). A facilitation of the late formalin response by descending serotonergic projections is supported by the finding that spinal application of antagonists at the serotonin 5-HT₃ receptor, strongly depresses this response in dorsal horn neuronal recordings (GREEN; SCARTH; DICKENSON, 2000; SUZUKI et al., 2002) as well as in behavioral experiments (OYAMA et al., 1996). Also, intrathecal administration of 5-HT₃ receptor agonist, facilitates the behavioral late formalin response.

The anterior pretectal nucleus (APtN) is a midbrain structure known to participate in the normal physiological response to noxious stimulation and to be involved in descending pathways that control noxious inputs to the spinal cord (REES; ROBERTS, 1993). APtN stimulation inhibits the noxious stimulus-induced excitation of deep multireceptive neurons and excites superficial lamina I neurons in the spinal dorsal horn (REES; ROBERTS, 1987; REES; TRENZI; ROBERTS, 1995).

In this study we examine the involvement of the APtN in the control of primary and secondary, mechanical and thermal hyperalgesia caused by intraplantar (i.pl.) formalin in rats.

2. Methods

2.1. Subjects and surgery

Male Wistar rats (160–180 g) were used in this study. Animals were housed two to a cage under controlled temperature ($23 \pm 1^\circ\text{C}$) and on a 12 h light–dark cycle, with the dark cycle beginning at 07:00 h, and had free access to food and water. The experiments were approved by the Commission of Ethics in Animal Research, Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo (Number 189/2005). The guidelines of the Committee for Research and Ethical Issues of IASP (ZIMMERMANN, 1983) were followed throughout the experiments. Each animal was anaesthetized with tribromoethanol (250 mg/kg, i.p.) and a 12 mm length of a 23-gauge stainlesssteel guide cannula was stereotaxically implanted into the skull until its tip lay 3 mm above the left APtN. The coordinates (in mm) were AP +3.2 (relative to the interaural line), L +1.8 (relative to the sagittal suture), and H -2.4 (relative to the skull surface). The guide cannula was fixed to the skull with two steel screws and dental cement. Each guide cannula was kept patent with a sterile obturator until the time of drug administration. After receiving an i.m. injection of 0.2 mL of antibiotic (Pentabiotic®, Fontoura-Wyeth®), the animal was allowed to recover for at least 5 days before the experiments.

2.2. Microinjection procedures

All drugs or saline were microinjected into the APtN using a glass needle (70–80 μm o.d.) protected by a system of telescoping steel tubes as described elsewhere (AZAMI; LLEWELYN; ROBERTS, 1980). The assembly was inserted into the guide cannula immediately before microinjection and the needle advanced to protrude 3 mm beyond the guide cannula tip. The volume of each injection was 0.25 μl delivered at a constant rate over a period of 2 min, and the needle was removed 20 s after the completion of this procedure.

2.3. Nociceptive tests

All experiments were conducted using 5–7 animals per group. Rats were placed in an elevated clear plastic cage with a nylon mesh bottom, which allowed easy access to the paw plantar surface. Before each test, rats remained in the cage for approximately 30 min to allow behavioural acclimation.

2.3.1. Thermal latencies

The latency to thermal stimulation was measured with a wire coil maintained at room temperature ($24 \pm 1^\circ \text{C}$). The paw was touched with the coil which temperature was then raised by the passage of electric current and the latency for the paw withdrawal reflex was measured. Heat was applied to the ventral surface of the paw. Each trial was terminated after 9 s to minimize the possibility of skin damage. Paw-flick latency was measured for three consecutive trials to determine the baseline latencies, and for two consecutive trials for latency measured immediately after and 15 min after the formalin or saline i.pl. injection. The response intensity was measured as the change in the reaction time (s) obtained by subtracting the baseline values of the values obtained after i.pl. injection (Δ).

2.3.1. Mechanical thresholds

The threshold to mechanical stimulation was measured with an automated electronic von Frey apparatus (Insight®), consisting of a hand-held probe unit to which a rigid plastic tip (tip area 0.44 mm²) was connected. This device was used as a standard von Frey monofilament to produce a punctate mechanical pressure. The experimenter then applied the plastic tip with increasing force in an upward direction against sites in the plantar surface of the hind paws. The movement of the probe was stopped when withdrawal of the stimulated paw occurred. During this procedure, the force applied was recorded continuously by a main unit connected to the probe. A single trial consisted of three to six applications of the tip, to each hind paw. A positive response was defined as withdrawal of the stimulated paw. The mean of three readings was taken as the threshold for a particular time. The response intensity was measured as the change in the withdraw threshold (g) obtained by subtracting the baseline values of the values obtained after i.pl. injection (Δ).

2.4. Drugs

L-glutamic acid hydrochloride (RBI/Sigma, Natick, MA, USA) was used. It was diluted in saline and doses refer to the salt.

2.5. Histology

At the end of the experiment Fast Green (0.25 μ l) dye was microinjected to label the sites of intracerebral injection. The animal was then killed with an overdose of thiopental sodium and perfused transcardially with saline followed by 4% paraformaldehyde. Dye spots were localized from 60- μ m serial coronal sections stained with Neutral Red, and identified on diagrams from the atlas of Paxinos and Watson (PAXINOS; WATSON, 1986).

2.6. Statistical analysis

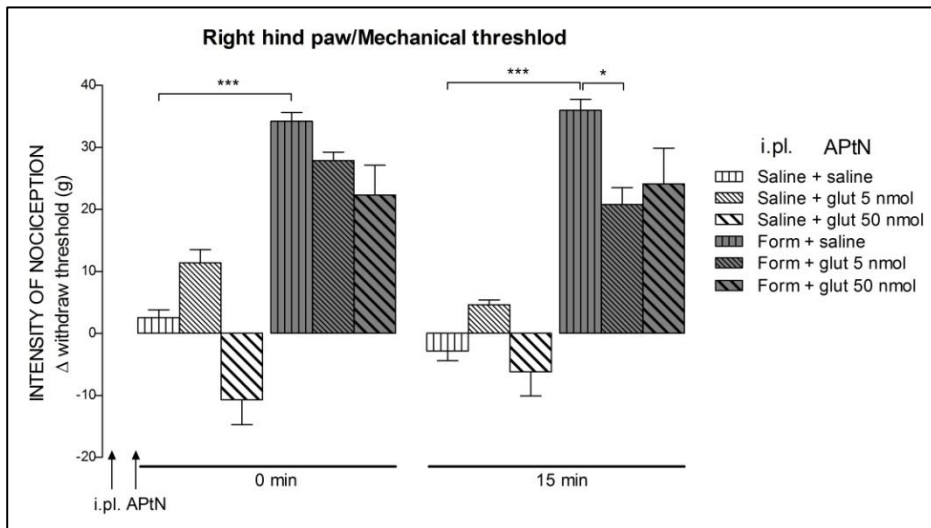
Statistical significance on group means was measured by one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's Multiple Comparison Test. The significance level was set at $p < 0.05$.

3. Results

3.1. Effects of APtN activation on formalin-induced primary hyperalgesia (Fig. 1)

Formalin (5%) injected on the dorsal surface of the right hind paw caused strong primary mechanical and thermal hyperalgesia measured on the ventral surface of the right hind paw, as compared to the animals injected with saline i.pl. APtN stimulation with glutamate (5 or 50 nmol/250 nl) reduced formalin-induced primary mechanical and thermal hyperalgesia. Microinjection of glutamate (5 nmol/250 nl) into the APtN of animals treated with saline i.pl. reduced (not significantly) the mechanical threshold and did not change the thermal latency.

A) Primary mechanical hyperalgesia



B) Primary thermal hyperalgesia

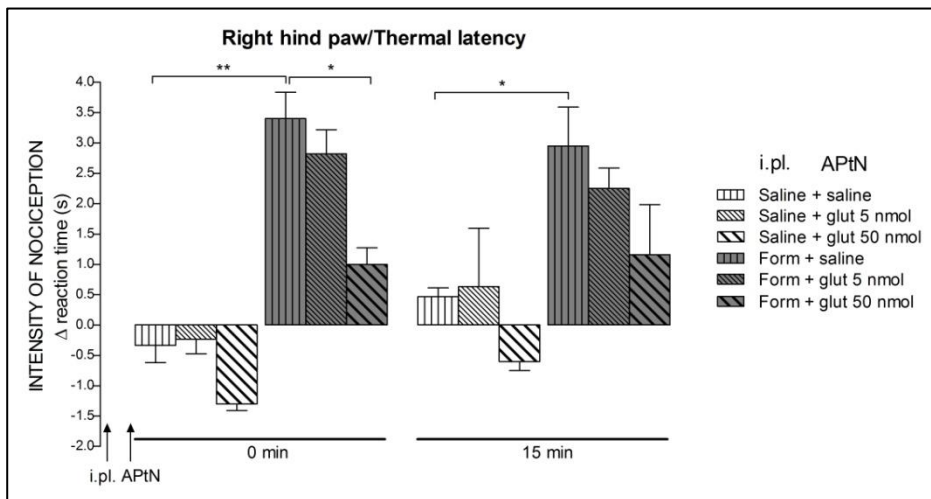
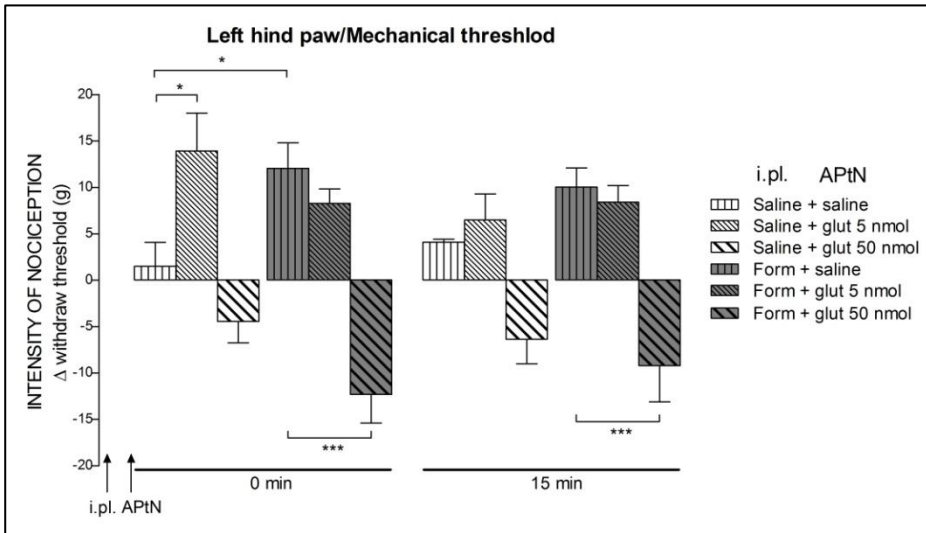


Fig. 1) Changes produced by injecting saline (250 nl) or glutamate (5 or 50 nmol, 250 nl) into the left Anterior Pretectal Nucleus (APtN) in the primary mechanical (A) and thermal (B) hyperalgesia caused by intraplantar (i.pl.) formalin in rats. Hyperalgesia was measured 0 min or 15 min after i.pl. injections. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ and *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA followed by Tukey's test).

3.2. Effects of APtN activation on formalin-induced secondary hyperalgesia (Fig. 2)

Formalin (5%) injected on the dorsal surface of the right hind paw caused secondary mechanical but not thermal hyperalgesia measured on the ventral surface of the left hind paw, as compared to the animals injected with saline i.pl. APtN stimulation with glutamate (50 nmol/250 nl) but not with glutamate (5 nmol/250 nl) caused a significant analgesic effect against formalin-induced secondary mechanical hyperalgesia. On the other hand, when 5 nmol of glutamate was microinjected into the APtN of animals treated with saline i.pl. hyperalgesic effect against mechanical stimulus was observed. No effects was observed on thermal stimulus applied to the contralateral paw when glutamate (5 or 50 nmol/250 nl) was injected into the APtN.

A) Secondary mechanical hyperalgesia



B) Secondary thermal hyperalgesia

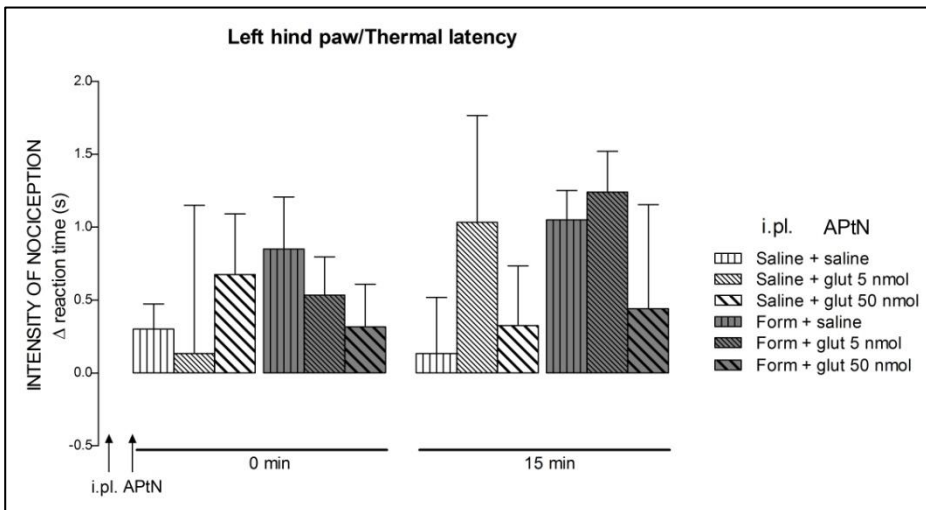


Fig. 2) Changes produced by injecting saline (250nl) or glutamate (5 or 50nMol, 250nl) into the left Anterior Pretectal Nucleus (APtN) in the secondary mechanical (A) and thermal (B) hyperalgesia caused by intraplantar (i.pl.) formalin in rats. Hyperalgesia was measured 0 min or 15 min after intraplantar injections. * $P < 0,05$, and *** $P < 0,001$ (One-way ANOVA followed by Tukey's test).

4. Discussion

Numerous studies have used the formalin test to address the mechanisms through which persistent nociception is generated (DUBUISSON; DENNIS, 1977; TJOLSEN et al., 1992; ABBOTT; FRANKLIN; WESTBROOK, 1995).

Our results confirm that formalin i.pl. produces strong primary mechanical and thermal hyperalgesia as reported elsewhere (FU; LIGHT; MAIXNER, 2001). Also, secondary mechanical but not thermal hyperalgesia was detected in the contralateral paw.

When APtN was stimulated with glutamate (50 nmol) a reduction in the primary mechanical and thermal hyperalgesia was seen. These preliminary results indicate that the APtN has similar antinociceptive effect on thermal and mechanical hyperalgesia. Others works have reported that a tonic descending inhibitory influence are already present when formalin is injected, since when dorsolateral funiculus is sectioned at the thoracic level, formalin injection causes a more intense response (ABBOTT; HONG; FRANKLIN, 1996).

Moreover, the secondary mechanical hyperalgesia was blocked when glutamate (50 nmol) was microinjected into the APtN. These results indicate that, as reported to the mechanical and thermal hiperalgesia, APtN acts inhibiting primary and secondary mechanical hyperalgesia. Evidence for the involvement of the APtN in antinociception includes the demonstration that brief electrical stimulation of this nucleus produces strong and long-lasting antinociceptive effects in the rat tail flick (PRADO; ROBERTS, 1985; ROBERTS; REES, 1986) and formalin tests (WILSON; REES; ROBERTS, 1991), and inhibits the responses of deep dorsal horn cells to peripheral noxious stimulation (REES; ROBERTS, 1987).

Also, our work shows that hyperalgesic effect to mechanical stimulus is present when 5 nmol of glutamate is microinjected into the NPtA of animals treated with saline i.pl. This means that when more sensitive APtN glutamatergic circuits is activated by low doses of glutamate, descending facilitation is seen in physiological conditions, whose pathophysiological role should be further studied.

So, we conclude that APtN activation can lead to inhibitory effects on primary mechanical and thermal hiperalgesia, as well as, on secondary mechanical hyperalgesia. Facilitatory descending pathways can be triggered by activation of sensitive APtN glutamatergic circuits.

References

ABBOTT, F. V.; FRANKLIN, K. B.; WESTBROOK, R. F. The formalin test: scoring properties of the first and second phases of the pain response in rats. **Pain**, v. 60, n. 1, p. 91-102, 1995.

ABBOTT, F. V.; HONG, Y.; FRANKLIN, K. B. The effect of lesions of the dorsolateral funiculus on formalin pain and morphine analgesia: a dose-response analysis. **Pain**, v. 65, n. 1, p. 17-23, 1996.

AZAMI, J.; LLEWELYN, M. B.; ROBERTS, M. H. T. An extra-fine assembly for intracerebral microinjection. **J Physiol**, v. 305, n., p. 18-19, 1980.

DICKENSON, A. H.; SULLIVAN, A. F. Subcutaneous formalin-induced activity of dorsal horn neurones in the rat: differential response to an intrathecal opiate administered pre or post formalin. **Pain**, v. 30, n. 3, p. 349-360, 1987.

DUBUISSON, D.; DENNIS, S. G. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. **Pain**, v. 4, n. 2, p. 161-174, 1977.

FU, K. Y.; LIGHT, A. R.; MAIXNER, W. Long-lasting inflammation and long-term hyperalgesia after subcutaneous formalin injection into the rat hindpaw. **J Pain**, v. 2, n. 1, p. 2-11, 2001.

GREEN, G. M.; SCARTH, J.; DICKENSON, A. An excitatory role for 5-HT in spinal inflammatory nociceptive transmission; state-dependent actions via dorsal horn 5-HT₃ receptors in the anaesthetized rat. **Pain**, v. 89, n. 1, p. 81-88, 2000.

OYAMA, T.; UEDA, M.; KURASHI, Y.; AKAIKE, A.; SATOH, M. Dual effect of serotonin on formalin-induced nociception in the rat spinal cord. **Neurosci Res**, v. 25, n. 2, p. 129-135, 1996.

PAXINOS, G.; WATSON, C. **The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates**. New York: NY: Academic Press, 1986

PORRO, C. A.; CAVAZZUTI, M. Spatial and temporal aspects of spinal cord and brainstem activation in the formalin pain model. **Prog Neurobiol**, v. 41, n. 5, p. 565-607, 1993.

PRADO, W. A.; ROBERTS, M. H. An assessment of the antinociceptive and aversive effects of stimulating identified sites in the rat brain. **Brain Res**, v. 340, n. 2, p. 219-228, 1985.

REES, H.; ROBERTS, M. H. Anterior pretectal stimulation alters the responses of spinal dorsal horn neurones to cutaneous stimulation in the rat. **J Physiol**, v. 385, n., p. 415-436, 1987.

REES, H.; ROBERTS, M. H. The anterior pretectal nucleus: a proposed role in sensory processing. **Pain**, v. 53, n. 2, p. 121-135, 1993.

REES, H.; TERENCE, M. G.; ROBERTS, M. H. Anterior pretectal nucleus facilitation of superficial dorsal horn neurones and modulation of deafferentation pain in the rat. **J Physiol**, v. 489 (Pt 1), n., p. 159-169, 1995.

ROBERTS, M. H.; REES, H. The antinociceptive effects of stimulating the pretectal nucleus of the rat. **Pain**, v. 25, n. 1, p. 83-93, 1986.

SUZUKI, R.; MORCUENDE, S.; WEBBER, M.; HUNT, S. P.; DICKENSON, A. H. Superficial NK1-expressing neurons control spinal excitability through activation of descending pathways. **Nat Neurosci**, v. 5, n. 12, p. 1319-1326, 2002.

TJOLSEN, A.; BERGE, O. G.; HUNSKAAR, S.; ROSLAND, J. H.; HOLE, K. The formalin test: an evaluation of the method. **Pain**, v. 51, n. 1, p. 5-17, 1992.

VANEGAS, H.; SCHAIBLE, H. G. Descending control of persistent pain: inhibitory or facilitatory? **Brain Res Brain Res Rev**, v. 46, n. 3, p. 295-309, 2004.

WILSON, D. G.; REES, H.; ROBERTS, M. H. The antinociceptive effects of anterior pretectal stimulation in tests using thermal, mechanical and chemical noxious stimuli. **Pain**, v. 44, n. 2, p. 195-200, 1991.

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

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)