

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE PSICOLOGIA E EDUCAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSICOBIOLOGIA

**Regulação GABAérgica no Núcleo Pré-tectal Anterior (NPtA) do
comportamento exploratório e da antinocicepção induzida por medo em
ratos.**

Eduardo Ledvinka-Filho

Dissertação de Mestrado apresentada à
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de
Ribeirão Preto – USP, como parte integrante
das exigências para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de Concentração:
Psicobiologia.

RIBEIRÃO PRETO
- 2010 -

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE PSICOLOGIA E EDUCAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSICOBIOLOGIA

**Regulação GABAérgica no Núcleo Pré-tectal Anterior (NPtA) do
comportamento exploratório e da antinocicepção induzida por medo em
ratos.**

Eduardo Ledvinka-Filho

Dissertação de Mestrado apresentada à
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de
Ribeirão Preto – USP, como parte integrante
das exigências para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de Concentração:
Psicobiologia.

Orientador: Prof.º Dr.º Marcus Lira Brandão

RIBEIRÃO PRETO
- 2010 -

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E 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

Ledvinka-Filho, Eduardo

Regulação GABAérgica no núcleo pré-tectal anterior (NPtA) do comportamento exploratório e da antinocicepção induzida por medo em ratos. Ribeirão Preto, 2006.

90p.: il.: 30 cm.

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – USP – Área de Concentração: Psicobiologia.

Orientador: Brandão, Marcus Lira

1. Núcleo Pré-tectal Anterior. 2. Medo. 3. Analgesia induzida pelo medo. 4. GABA. 5. Labirinto em Cruz Elevado. 6. Teste de Retirada de Cauda.

Não importa o que eu aprenda nas melhores universidades e centros de pesquisa do mundo. O essencial para a vida foram vocês que me ensinaram: honestidade, bondade e respeito.

Dedico esse trabalho aos meus avós, Luigi e Michelina (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

Ao Prof.º Dr.º Marcus Lira Brandão, pela oportunidade, ensinamentos e paciência.

Ao Prof.º Dr.º Ricardo Nunes de Souza, pelas críticas construtivas ao longo do mestrado e por participar da banca examinadora.

À Prof.ª Dr.ª Joice Maria da cunha, por prontamente ter aceitado participar da banca examinadora.

À minha mãe Silvana, tia Ana, irmã Cristina e prima Luíza por tudo que fizeram por mim em todos esses anos. Vocês são o meu porto seguro.

À Prof.ª Dr.ª Cláudia Maria Padovan, pelas conversas científicas, ensinamentos e supervisão do PAE e principalmente pelo suporte e amizade construída ao longo desses anos. Obrigado.

À secretária e amiga Renata Vicentini e seu marido Alexandre. Obrigado por sempre me recepcionar e pelas conversas dentro e fora da universidade.

Aos meus amigos “botucudos” em Ribeirão: Kani, Portera, Ziriguidi, Gorfo (grande mestre), Lag e Matheus, e aos ainda botucudos: Balada, Gorran, Glória, Vagi, Girassol, OB, DR.

À Joy, pessoa que admiro e respeito muito, e a Jana. Vocês duas são incríveis batalhadoras, e foram importantíssimas no período que convivemos juntos em Ribeirão.

À Margareth, pela amor de pessoa que sempre foi. Boa sorte em sua jornada.

Ao Dr.º Manoel Jorge Nobre, por me ajudar na elucidação de questões relacionadas à psicobiologia em geral.

À Luciana, pelo ombro “materno” e por cuidar da minha “filha” quando precisei.

À Ana Maria Padula, veterinária e amiga. Obrigado pela paciência, amizade e atendimentos veterinários.

Aos colegas de república: Reinaldo, Carlos, Jean, Thiago, James, Henrique e Felipe. Só gente boa!

À Márcia, por me ouvir e tentar me ajudar.

Aos colegas de laboratório.

Aos animais, tributo o meu respeito.

À CAPES, pelo auxílio financeiro.

SUMÁRIO

Resumo	<i>i</i>
Abstract	<i>iii</i>
Lista de abreviações	<i>v</i>
1. Introdução	13
1.1 <i>Dor</i>	14
1.2 <i>Antinocicepção</i>	18
1.3 <i>Medo e Antinocicepção</i>	20
1.4 <i>Núcleo Pré-tectal Anterior (NPtA)</i>	24
1.5 <i>Neurotransmissão GABAérgica</i>	26
2. Objetivos	28
3. Materiais e Métodos	29
3.1 <i>Animais</i>	30
3.2 <i>Cirurgia</i>	30
3.3 <i>Microinjeções de drogas</i>	32
3.4 <i>Drogas</i>	33
3.5 <i>Modelos animais</i>	33
3.5.1 <i>Labirinto em Cruz Elevado</i>	33
3.5.2 <i>Teste de Retirada de Cauda</i>	34
3.6 <i>Histologia</i>	35
3.7 <i>Análise estatística</i>	36
4. Resultados	37
4.1 <i>Sítios de microinjeções</i>	38
4.2 <i>Labirinto em Cruz Elevado</i>	40
4.3 <i>Teste de Retirada de Cauda após exposição ao LCE</i>	52
5. Discussão	64
6. Conclusões	72
7. Referências Bibliográficas	74

RESUMO

LEDVINKA-FILHO, E. Regulação GABAérgica no Núcleo Pré-tectal Anterior (NPtA) do comportamento exploratório e da antinocicepção induzida por medo em ratos. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

Um importante componente do sistema de defesa dos animais é a redução da percepção da dor em situações de emergência, fenômeno conhecido como antinocicepção, auxiliando o organismo a exibir comportamentos que aumentam sua probabilidade de sobrevivência. Uma extensa rede neural parece mediar os fenômenos antinociceptivos a partir do tronco encefálico, embora estruturas diencefálicas e telencefálicas também exerçam relevante papel na modulação da dor. Há um considerável número de regiões do encéfalo cuja estimulação elétrica causa antinocicepção. Entre elas estão a substância cinzenta periaqueductal, núcleo magno da rafe, núcleo reticular paragigantocelular, colículo superior, núcleo dorsal da rafe e o núcleo pré-tectal anterior (NPtA). Estudos realizados em áreas rostrais do NPtA sugerem sua participação no processamento de estímulos nociceptivos já que, em ratos, sua estimulação diminui o reflexo espinhal sem causar aversão significativa. Entretanto, alguns trabalhos na literatura relatam que a estimulação da região caudal do NPtA ventral causa comportamentos defensivos acompanhados de antinocicepção. O presente estudo examina a participação de mecanismos GABAérgicos do NPtA na mediação da antinocicepção induzida pelo medo. Para isso, foram analisados os efeitos de injeções do agonista GABAérgico – muscimol – e do inibidor da síntese de GABA – semicarbazida – intra-NPtA no teste do labirinto em cruz elevado (LCE) e no teste de retirada de cauda (TRC). A microinjeção de muscimol no NPtA ventral de ratos diminuiu o número de entradas nos braços abertos do LCE, enquanto que a semicarbazida aumentou o número de entradas nos braços fechados. No TRC após exposição ao LCE, a simples estimulação mecânica do NPtA ventral causou antinocicepção significativa. O tratamento com muscimol na região

ventral caudal potencializou essa antinocicepção. A estimulação mecânica do NPtA dorsal, juntamente com injeções locais de muscimol e sermicarbazida, não produziram efeitos significativos nas medidas analisadas nesse trabalho. Os resultados sugerem que fibras de projeção GABAérgicas provenientes do NPtAv participam na regulação da conhecida inibição tônica dos substratos neurais do medo no teto mesencefálico e, em consequência disso, essas fibras GABAérgicas também exibem papel importante na modulação da antinocicepção induzida pelo medo.

Palavras-chave: Núcleo Pré-tectal Anterior; Medo; Analgesia induzida pelo medo; GABA; Labirinto em Cruz Elevado; Teste de Retirada de Cauda.

ABSTRACT

LEDVINKA-FILHO, E. GABAergic regulation in the Anterior Pre-tectal Nucleus (APtN) on the exploratory behavior and fear induced antinociception in rats. Dissertation (Máster) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

An important component of the defense system is the reduction of the perception of pain in emergency situations, a phenomenon known as antinociception, helping the animal to exhibit behaviors that increase their probability of survival. An extensive neural network appears to mediate the antinociceptive phenomena from the brainstem, although diencephalon and telencephalon structures also play a significant role in pain modulation. There is a considerable number of brain regions whose electrical stimulation cause antinociception. Among them the periaqueductal gray, the nucleus raphe magnus, the reticular nucleus paraventricular, the superior colliculus, the dorsal raphe nucleus and the anterior pre-tectal area (APtN) have been enrolled. Studies with stimulation of rostral areas of the APtN suggest their involvement in the processing of nociceptive stimuli without participation of fear mechanisms. However, some studies in the literature report that stimulation of the caudal region of the ventral NPTA causes defensive behavior accompanied by antinociception. This study examines the involvement of GABAergic mechanisms in the APtN mediating the antinociception induced by fear. To this end, we analyzed the effects of intra-APtN injections of the GABA agonist – muscimol – and the inhibitor of GABA synthesis – semicarbazide – on fear and nociception through the use of the elevated plus maze (EPM) and the tail flick tests (TFT), respectively. The microinjection of muscimol in the ventral APtN of rats decreased the number of entries in the open arms of the EPM, while semicarbazide increased the number of closed arm entries. On the TFT after EPM exposure, the simple mechanical stimulation of the ventral APtN caused significant antinociception. Injection of muscimol into the ventral caudal APtN potentiated this antinociception. The mechanical stimulation of the

dorsal APtN, plus local injections of muscimol and sermicarbazide did not produce significant effects on the defensive behaviors and nociceptive reactivity examined in this work. The results suggest that GABAergic projection fibers from the APtNv are involved in the regulation of the well-known neural substrates of fear in the midbrain tectum and, probably, these GABAergic fibers also play an important role in the modulation of fear-induced antinociception.

Keywords: Anterior Pré-tectal Nucleus; Fear; Fear-induced analgesia; GABA; Elevated plus maze; Tail flick test.

LISTA DE ABREVIACÕES

BZP	Benzodiazepínico
CI	Colículo Inferior
CS	Colículo Superior
Enc	Encefalina
GABA	Ácido amino- γ -butírico
IA	Índice de Analgesia
LB	Linha de base
LCE	Labirinto em Cruz Elevado
LRC	Latência de retirada da cauda
min.	Minutos
mm	Milímetros
NDR	Núcleo Dorsal da Rafe
NGM	Núcleo Geniculado Medial
NMR	Núcleo Mediano da Rafe
NptA	Núcleo Pré-tectal Anterior
NPtAd	Núcleo Pré-tectal Anterior dorsal
NptAv	Núcleo Pré-tectal Anterior ventral
SCP	Substância Cinzenta Periaqueductal
SCPd	Substância Cinzenta Periaqueductal dorsal
SNpr	Substância Nigra <i>pars reticulata</i>
SP	Substância P
TRC	Teste de Retirada de Cauda
ZI	Zona Incerta
μ g	Micrograma
μ l	Microlitro
μ m	Micrômetro

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

O estudo da neurobiologia do medo e da ansiedade se inicia com os relatos de Darwin sobre o caráter evolutivo do comportamento emocional. Seus trabalhos na segunda metade do século XIX indicavam que o estudo do comportamento de outros animais era o caminho para a compreensão das emoções no homem (BRANDÃO e cols., 2003).

As bases neurobiológicas do medo e da antinocicepção têm sido frequentemente estudadas em modelos animais de ansiedade. O emprego desses modelos está baseado em estudos evolutivos que indicam que a ansiedade humana está diretamente relacionada com as reações de defesa que os animais exibem em resposta aos estímulos ou situações que sinalizam perigo (HETEM e cols., 1996). Durante a expressão dos comportamentos defensivos em resposta aos sinais de perigo, circuitos neuronais antinociceptivos associados são ativados com o fim de minimizar o sofrimento físico provocado pela situação de confronto o que, de certa forma, favorece a luta/fuga para prevenir o dano físico e assegurar a sobrevivência do indivíduo. Atualmente, parece haver concordância entre os pesquisadores dessa área que a antinocicepção possa ser um componente da reação de defesa (KIEFEL e cols., 1992; COIMBRA e cols., 1992; 2006).

1.1 DOR

A dor é um fenômeno universal da espécie humana. Embora todos saibam o que significa, não existe uma definição satisfatória de dor. De acordo com a Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP), o conceito dor está relacionado com “uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a lesão real ou potencial ou descrita

em termos de tais lesões”. A dor pode ser manifestada mesmo na ausência do estímulo que danifica o tecido, o que podemos verificar nos casos de neuropatia periférica ou central e em algumas manifestações psicopatológicas (TEIXEIRA, 2001).

A dor promove ações que estão ligadas diretamente à cura, já que sua função biológica primária é o desencadeamento de comportamentos recuperativos na presença de sinais de ameaça física. Entretanto, a percepção de uma ameaça traumática, incluindo dor física, motiva medo e conseqüentemente mobiliza comportamentos de defesa. Após o fim da ameaça e do medo ter-se dissipado, comportamentos recuperativos como o repouso e imobilização predominam (BRANDÃO, GRAEFF, 2006).

A maior parte dos neurônios envolvidos no processamento da informação dolorosa pertence a áreas filogeneticamente antigas, como as paredes mediais e caudais dos ventrículos, o tálamo, o hipotálamo e a substância ativadora reticular ascendente do tronco encefálico. Algumas dessas áreas também são dotadas de circuitos neurais responsáveis pelo alívio da dor. A participação destas áreas antigas do ponto de vista evolutivo, na recepção e condução da informação nociceptiva bem como no controle ou inibição da dor sugere que compartilhamos esta propriedade com muitos animais e que, portanto, as propriedades fisiológicas desse sistema podem ser estudadas experimentalmente em animais. Essa localização também sugere que a manutenção destes sistemas nociceptivo e analgésico no homem tem um valor evolutivo e adaptativo (BRANDÃO, 2001).

O termo nocivo qualifica um estímulo que causa algum dano tecidual. Estímulos causam dor quando sua intensidade ameaça danificar o tecido. A sensação de dor é originada em receptores localizados por todo o nosso corpo e algumas terminações nervosas livres podem atuar como receptores especializados. Uma propriedade que define um nociceptor é sua capacidade em responder a um dano tecidual potencial ou real. Alguns

nociceptores são profundos, localizados em órgãos, músculos e articulações, e outros são superficiais (BRANDÃO, GRAEFF, 2006).

Existem dois componentes relacionados com o fenômeno da dor: o componente perceptivo-discriminativo e o aversivo-cognitivo-emocional, também denominado de componente reacional. O componente perceptivo-discriminativo é discriminável no tempo, espaço e intensidade (momento em que o organismo identifica o estímulo como doloroso). O componente reacional compreende uma série de comportamentos defensivos que vão desde a retirada reflexa do membro até as respostas emocionais do tipo luta/fuga. Esses comportamentos geralmente são acompanhados de fortes sensações subjetivas de desconforto e de intensa motivação para aliviar ou terminar a dor (BOLLES, FANSELOW, 1980).

Ainda não está bem estabelecida uma melhor classificação da dor. Um modo simples de caracterizá-la é distinguir se a dor é aguda ou crônica, tendo como base a resposta do indivíduo ao estímulo aversivo. A definição dos componentes fásico e tônico da dor é crucial para o entendimento dessa distinção. A dor fásica é de curta duração e reflete o impacto imediato causado pela injúria. Os danos traumáticos como, por exemplo, as queimaduras de grau leve, provocam um mecanismo de reflexo vigoroso, movimentos de proteção e comportamentos característicos, como expressão verbal ou não verbal. Na dor aguda existe uma causa bem definida e com um curso temporal característico, e a dor desaparece tão logo ocorre a cura da injúria. A dor aguda provocada por um dano tissular é constituída de dois componentes, o fásico e o tônico. O rápido início da dor é referido como componente fásico, enquanto que a fase insidiosa, permanente, é referida como componente tônico. O componente tônico tem como finalidade propiciar o repouso, os cuidados e a proteção da área lesada, com o intuito de promover a cura. A dor crônica também possui dois componentes, fásico e tônico. Entretanto, na dor crônica, o componente tônico pode persistir mesmo que ocorra a cura da injúria. Para a grande maioria dos pacientes que apresentam dor crônica,

mesmo que haja cura, o paciente ainda sente dor em resposta a estímulos que não deveriam ser dolorosos. Por essa razão, os aspectos emocional e psicológico são mais importantes na dor crônica que na dor aguda (BRANDÃO, 2001).

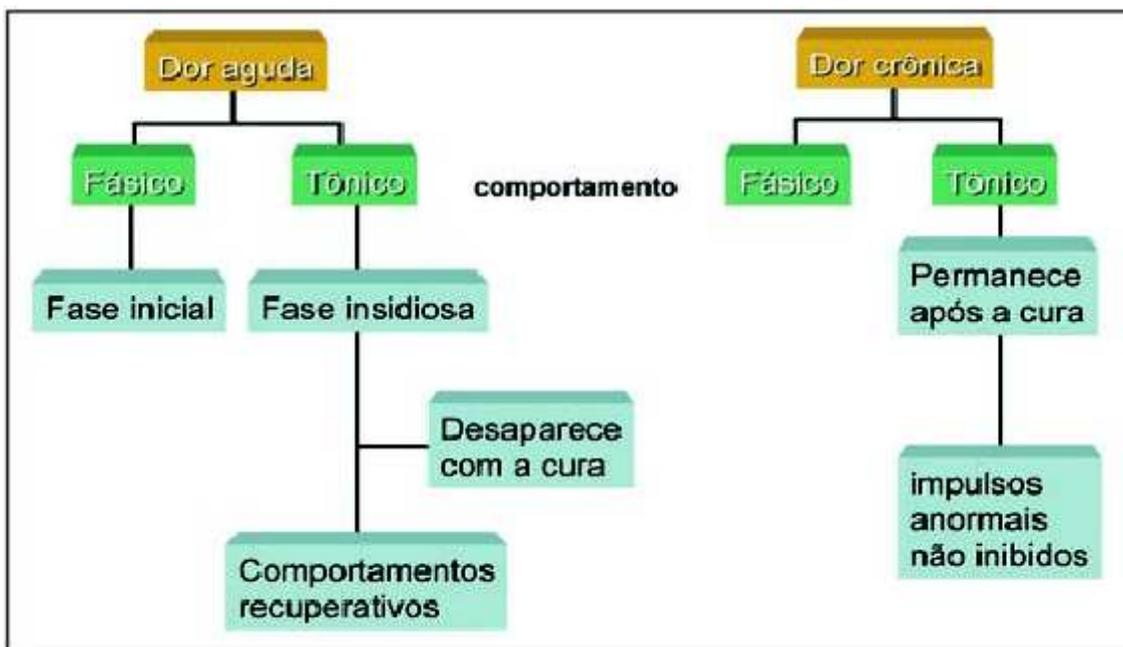


Figura 1: Diagrama ilustrativo da dor aguda e crônica com seus componentes fásico e tônico (BRANDÃO, 2001)

A informação dolorosa é captada pelos nociceptores, que estão presentes em quase todo o corpo, incluindo a pele, músculos, articulações e algumas vísceras (WILLIS, 1985). Os sinais elétricos são conduzidos até o corno dorsal da medula espinhal pelas fibras nervosas A e C. As fibras do tipo A estão divididas em $A\delta$ e $A\beta$ sendo essas bastante mielinizadas; porém, as fibras $A\delta$ são mais finas que as fibras $A\beta$, e as fibras C são amielinizadas e mais finas que as fibras $A\delta$. Assim, as fibras $A\beta$ conduzem os sinais elétricos mais rapidamente e respondem a estímulos mecanorreceptivos (MILLAN, 1999; PRADO, 2000). As fibras $A\delta$ e C, estão envolvidas com a transmissão de estímulos álgicos, determinando a localização, intensidade e qualidade da dor.

No corno dorsal da medula espinhal, as informações nociceptivas passam pelo primeiro processamento. As redes neurais nessa região são responsáveis não somente pela

transmissão de informações nociceptivas por meio de neurônios que se projetam ao encéfalo, mas também auxiliam na modulação dessas informações (MELZACK e cols., 1982).

1.2 – ANTINOCICEPÇÃO

Em situações de ameaças ambientais extremas em que se torna imprescindível a mobilização de mecanismos de defesa, dominância ou adaptação, há o recrutamento do sistema antinociceptivo, pois essas reações que seguem a percepção da dor seriam extremamente desvantajosas para a sobrevivência do animal (COIMBRA e cols., 2006). A dor promove ações que estão ligadas diretamente à cura, já que sua função biológica primária é desencadear comportamentos recuperativos na presença de sinais de ameaça física ou perigo. Entretanto, a percepção de uma ameaça traumática, incluindo dor física, motiva medo e conseqüentemente comportamentos de defesa. Após o fim da ameaça e do medo ter-se dissipado, comportamentos recuperativos como repouso e imobilização predominam (BRANDÃO, GRAEFF, 2006).

A redução na sensibilidade nociceptiva permite ao animal ameaçado se engajar em reações de defesa necessárias sem competir com as reações desencadeadas pelo estímulo nocivo. Esse ponto é consistente com a hipótese de que a antinocicepção é parte do repertório de reações de defesa espécie-específicas do animal em situação ameaçadoras desde que permita ao animal realizar o comportamento de defesa apesar da dor que acompanha uma injúria que possa ter recebido. (BOLLES, FANSELOW, 1980; FANSELOW, SIGMUNDI, 1986; FANSELOW e cols., 1988).

Em 1969, Reynolds relatou que foi possível realizar cirurgia abdominal em ratos sem o auxílio de anestésicos, sendo utilizado, então, a estimulação elétrica da substância cinzenta periaquedutal mesencefálica, produzindo analgesia. Desde então, diversas investigações têm

sido feitas na busca do conhecimento do funcionamento e das estruturas envolvidas neste sistema (BESSON e CHAOUCH, 1987; FIELDS e BESSON, 1988; LIGHT, 1992). Vários neurotransmissores envolvidos nessa via têm sido descritos na literatura, incluindo opióides, serotonina e noradrenalina (ANDERSEN e DAFNY, 1983; CLARK e PROUDFIT, 1991; FOO e WESTBROOK, 1991). As estruturas anatômicas envolvidas incluem a substância cinzenta periaquedutal, o colículo superior, o *locus coeruleus*, a região subcoerulea, o núcleo subparabraquial, os núcleos reticulares gigantocelular e paragigantocelular, os núcleos da rafe e vários outros núcleos da formação reticular bulbar (OLIVEIRAS e cols., 1979; COIMBRA, BRANDÃO, 1997; WANG, NAKAI, 1994)

Diversos estímulos ambientais ou químicos causam antinocicepção. Estímulos nocivos aplicados em uma área do corpo podem inibir respostas comportamentais a estímulos nocivos aplicados em outra área. Essa inibição pode agir, em parte, em um nível espinal, pois a atividade convergente de neurônios da coluna dorsal a estímulos nocivos discretos é inibida por estímulos nocivos provenientes de outras partes do corpo. Uma variedade de outros estímulos estressores que não são necessariamente dolorosos também apresenta com propriedades antinociceptivas. A estimulação elétrica de certas regiões encefálicas pode causar reações típicas de estresse ou de comportamentos de fuga e esquiva, acompanhados de antinocicepção. É possível que os efeitos antinociceptivos sejam decorrentes do estresse causado durante a estimulação cerebral. O núcleo magno da rafe (NMR) e a substância cinzenta periaqueductal (SCP), que são descritos como estruturas que recebem parte das projeções espinais do sistema antinociceptivo, também são conhecidos por participarem de circuitos responsáveis pela produção de reações de fuga em animais e sensações desagradáveis em humanos (PRADO e ROBERTS, 1984).

Melzack e Wall (1965) desenvolveram um modelo de inibição da percepção da dor denominado de “modelo de comporta”. Esse modelo possui dois principais cernes:

. “A dor depende do somatório da estimulação sensorial e não apenas da descarga dos receptores nociceptivos”;

. “A sensação da dor está sujeita a um grande controle central que influencia a entrada de impulsos dolorosos no corno dorsal da medula espinhal”.

A teoria propõe que a região atingida pelo estímulo nocivo envia dois tipos de informação para a medula espinhal: uma determinada pelas características específicas do estímulo aplicado (tátil, térmico ou pressão) que chega ao corno dorsal por intermédio das fibras grossas (A), e a outra determinada pela intensidade do estímulo nociceptivo, que chega ao corno dorsal através das fibras finas (C). Ambos os estímulos excitam as células transmissoras da dor nas camadas superficiais, através do neurônio ascendente e na substância gelatinosa do corno dorsal da medula espinhal, por intermédio do neurônio modulador. Existe uma diferença fundamental entre esses dois processos que ocorrem na substância gelatinosa. As fibras finas excitam o neurônio ascendente, através da liberação de substância P (SP), iniciando a condução da dor. De outra forma, as fibras grossas quando estimuladas, excitam o neurônio modulador situado na substância gelatinosa, que libera encefalina (Enc). Esse neurotransmissor inibe a transmissão de sinais dolorosos ao cérebro. O mesmo neurônio modulador pode ser estimulado pelas vias inibitórias descendentes vindas do SNC. Então, as fibras finas estimulam as células que potencializam a transmissão da dor, abrindo a comporta, e as fibras grossas excitam um tipo de célula que inibe as células transmissoras da dor, fechando a comporta (GRAEFF, 1990; BRANDÃO, 2001).

1.3. MEDO E ANTINOCICEPÇÃO

O medo é um estado emocional, cujas raízes se encontram na reação de defesa dos animais e possui assim um óbvio valor adaptativo. É uma emoção produzida pela percepção

do perigo real ou iminente e é normal em determinadas situações. Quando os animais são confrontados com situações ameaçadoras ou aversivas, eles exibem uma série de respostas comportamentais (por ex., fuga, luta, congelamento, vocalização) e neurovegetativas (por ex., taquicardia, hipertensão, defecação), caracterizadas como reações de medo. Geralmente, essas respostas são acompanhadas por antinocicepção (MENDES-GOMES, 2005). Assim como outras emoções, o medo pode ser constituído por diversas reações que tendem a ocorrer simultaneamente ou sequencialmente. Nesse contexto, dois comportamentos com características opostas podem ocorrer: o congelamento e a fuga para longe do estímulo aversivo. Esses comportamentos podem mudar subitamente, onde um animal aterrorizado pode mostrar um padrão de congelamento e repentinamente fugir para se abrigar (MARKS, 1987).

Estratégias comportamentais são desenvolvidas conforme o grau de ameaça e a situação de perigo em que o animal está vivenciando no momento. Se o fator de perigo, independentemente qual seja, não está presente ou não é muito evidente, a principal estratégia é a avaliação do ambiente a fim de verificar o risco e a real existência do perigo. Já, se o animal se deparar com o perigo, mas com uma distância grande, ele adotará um comportamento mais passivo, como a imobilização e diminuição da exploração ambiental. No entanto, se o estímulo caracterizado como nocivo pelo animal estiver muito perto dele, ele adotará um comportamento estratégico de luta ou fuga. Essa resposta defensiva varia de espécie para espécie, mas geralmente tais reações podem ser reproduzidas em laboratório com a estimulação do teto mesencefálico (COIMBRA e cols., 1992; BANDLER e cols., 2000).

Consistente com seu presumido papel na reação de defesa, vários autores têm argumentado que a antinocicepção possui um papel crítico em algumas situações ambientais que denotam perigo. Evidências de que respostas antinociceptivas estão associadas ao medo podem ser agrupadas em três categorias. Primeiro, existem numerosas evidências que

sustentam que respostas antinociceptivas e defensivas co-ocorrem em animais expostos a sinais de perigo inatos ou aprendidos. Segundo, manipulações que reduzem medo, como a administração de benzodiazepínicos ou lesões da amígdala, atenuaram respostas antinociceptivas antes eliciadas por sinais de medo inato ou aprendido. Terceiro, manipulações que induzem medo, como a administração de agonistas inversos benzodiazepínicos (β -carbolina) provocam respostas antinociceptivas (HARRIS, 1995).

A analgesia induzida por estresse tem sido demonstrada tanto em humanos (DROSTE e cols., 1991) como em animais (WIEDENMAYER, BARR, 2000; LAPO e cols., 2002). Há relatos que a exposição a predadores (LESTER, FANSELOW, 1985), o que em princípio se caracteriza como um estímulo não doloroso, pode produzir antinociceção, o que sugere o envolvimento de estruturas neurais que controlam a expressão do medo no recrutamento do sistema endógeno de inibição de dor. Nesse sentido, Willer e Ernest (1986), demonstraram que a antecipação de choque em humanos, que provoca medo e ansiedade no indivíduo, produz analgesia induzida pelo estresse, sendo antagonizada pelo tratamento com diazepam. Em 1977, Chesher e Chan mostraram que o choque nas patas (*footshock*) de camundongos produzia um efeito analgésico, o qual era antagonizado pela naloxona, um antagonista de receptor opióide. O choque nas patas mostrou ser capaz de aumentar os níveis de peptídeos opióides endógenos (AKIL e cols., 1976). Subseqüentemente, diversos estressores incluindo o choque nas patas, natação, imobilização, isolamento e restrição têm sido utilizados para o estudo da analgesia induzida por estresse. Os efeitos analgésicos induzidos por estes estressores são comparados àqueles causados pela morfina em doses de 5-10 mg/kg, porém a duração desses efeitos é relativamente menor, desaparecendo aproximadamente dentro de 30 minutos (GIRADOT; HOLLOWAY, 1984).

Embora os estudos anteriores tenham demonstrado os efeitos analgésicos do estresse, muitas pesquisas relatam que determinadas condições experimentais (estresse agudo e

crônico) podem provocar hiperalgesia ao invés de analgesia (VIDAL, JACOB, 1982; QUINTERO e cols., 2000). Por exemplo, uma breve exposição a um estresse emocional, como a exposição a novos ambientes, produz uma hiperalgesia imediata e transitória (VIDAL; JACOB, 1982), Torres e cols. (2003) conduziram um trabalho onde verificou-se que diferentes respostas são observadas dependendo do estressor utilizado. Animais que ficaram contidos por 1 hora durante 40 dias consecutivos (estresse de contenção), e no último dia foram expostos a um estresse agudo semelhante ao estresse crônico (contenção por 3 horas), os animais mantiveram-se hiperalgésicos. Em outro grupo foi utilizado como estressor agudo o teste do nado forçado, e foram observados efeitos antinociceptivos claros. Os mecanismos relacionados à hiperalgesia de longa duração ainda não estão esclarecidos. É possível que esse aumento de percepção aos estímulos dolorosos esteja relacionado a alterações no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, no sistema opióide ou em qualquer outro sistema responsável pela resposta de estresse. A deficiência na transmissão serotoninérgica central pode produzir sensibilização das vias de transmissão da dor. Por isso o estresse crônico quem em geral pode causar uma redução de transmissores serotonina no SNC pode estar associado a aumentos na sensibilidade dolorosa (QUINTERO e cols., 2000). As divergências em relação aos efeitos do estresse sobre a nocicepção ocorrem, pelo menos em parte, devido ao fato de que a resposta de estresse depende de fatores como a natureza, a intensidade e a duração do estímulo estressor (TERMAN e cols., 1986). Muitos trabalhos têm demonstrado que as alterações nos estados emocionais tanto de humanos (BARLOW e cols., 1996), como de animais (KING e cols., 1996) podem alterar fortemente a reatividade à estimulação dolorosa. Por isso, um modelo experimental destinado ao estudo da relação entre dor e estresse precisa considerar as diversas variáveis, fisiológicas, psicológicas e comportamentais envolvidas em uma situação de estresse ou a uma ameaça de injúria.

1.4 – NÚCLEO PRÉ-TECTAL ANTERIOR (NPtA)

Pesquisadores vêm estudando o envolvimento do núcleo pré-tectal anterior (NPtA), ou área pré-tectal anterior, no processamento de estímulos nociceptivos. De fato, vários estudos relataram que a estimulação do NPtA de ratos diminuiu o reflexo espinhal a estímulos nocivos (alta temperatura) sem causar uma aversão significativa (REES e cols. , 1987; REES; ROBERTS, 1989).

O NPtA é uma estrutura bilateral, situada na porção mais caudal do diencefalo e estendendo-se na porção rostral do mesencéfalo (REES; ROBERTS, 1989), envolvida em respostas fisiológicas a estímulos nociceptivos periféricos e nas vias descendentes que controlam impulsos de estímulos nociceptivos ao cordão espinhal (VILLARREAL e cols., 2004). Outros componentes do complexo pré-tectal incluem o núcleo pré-tectal medial, núcleo pré-tectal posterior, o núcleo do trato óptico e núcleo pré-tectal olivar. O complexo pré-tectal recebe aferências predominantemente da retina e do teto óptico e são importantes na modulação do comportamento motor em resposta às informações visuais (ASHWELL; PAXINOS, 2007).

Estudos neuroanatômicos das conexões do NPtA sugerem que este núcleo pode ser dividido em pólo rostral e caudal, sendo ainda subdividido em regiões dorsal compacta e ventral reticular (FOSTER e cols. , 1989), sendo provável que elas atuem em funções distintas ou separáveis. Consta ainda que as aferências para o NPtA rostral são consideravelmente diferentes das aferências ao NPtA caudal e aos demais componentes do complexo. Dentre as conexões anatômicas entre o NPtA e demais estruturas do sistema nervoso central, Carvalho (2007), destaca como principais aferências: o córtex somato-sensorial, o núcleo geniculado ventrolateral e o núcleo mesencefálico profundo. Como principais eferências, destacam-se o núcleo reticular gigantocelular, núcleo reticular paragigantocelular, núcleo magno da rafe

(NMR), núcleo rubro parvicelular e região parabraquial pontina. Dentre as estruturas que fazem conexões recíprocas com o NPtA, as mais importantes são: zona incerta (ZI), colículo superior (CS), núcleo tegmental pedúnculo-pontino, substância cinzenta periaquedutal (SCP) e núcleo dorsal da rafe (NDR). Sabe-se que o CS, a SCP e o NMR participam ativamente de respostas antinociceptivas induzidas pelo medo, e a ZI no processamento de informações nociceptivas. Além disso, estruturas como a SCP e o CS fazem parte do sistema encefálico aversivo e o NMR participa do sistema de inibição comportamental (BRANDÃO e cols., 2003).

Estudos realizados por Brandão e cols. (1991), demonstraram que a estimulação do NPtA reduz a aversividade produzida pela estimulação do hipotálamo medial. Isso sugere que os efeitos antinociceptivos da estimulação do NPtA são tanto inibição dos neurônios sensoriais espinhais quanto inibição de mecanismos supra-espinhais que controlam a aversividade dos estímulos. Além disso, é possível que o NPtA, em sua porção dorsal, tenha efeito antinociceptivo, enquanto que a estimulação da porção ventral do NPtA tenha efeito aversivo.

Um estudo realizado por Aas e Brodal (1990) mostrou a presença de neurônios gabaérgicos imunoreativos no NPtA de ratos e gatos. Ress e Roberts (1989), mostraram que a microinjeção de 5 µg de GABA no NPtA foi capaz de bloquear os efeitos antinociceptivos produzidos pela estimulação da coluna dorsal da medula espinhal. Essa neurotransmissão também foi confirmada por Villareal e Prado (2007), que mostraram que a microinjeção de baclofen, um agonista GABA_B, no NPtA ventral aumentou a alodinia causada por incisão cirúrgica na pata traseira, enquanto que o faclofen, um antagonista GABA_B, reduziu esta alodinia. Nesse mesmo trabalho, a microinjeção de bicuculina, um antagonista GABA_A aumentou a alodinia, enquanto que o muscimol não alterou esse comportamento.

1.5 – NEUROTRANSMISSÃO GABAÉRGICA

O GABA (ácido amino- γ -butírico) é o principal neurotransmissor inibitório do sistema nervoso central dos mamíferos. É produzido pela remoção enzimática de um grupo carboxílico do ácido glutâmico. Apresenta-se virtualmente em todas as áreas do neuroeixo, na maioria delas associado a interneurônios inibitórios locais, e mostra-se ativo em aproximadamente 30 a 40% das sinapses (GRAEFF, 1999). A ação do GABA é rápida, promovendo a abertura de canais iônicos, nos níveis pré ou pós sináptico, com a produção de efeitos inibitórios. Essa neurotransmissão mediada por GABA regula muitos processos psicológicos e fisiológicos.

Os receptores GABAérgicos são divididos em dois grupos: os receptores GABA_A, acoplados a canais de cloro e os receptores GABA_B, acoplados a proteínas-G, classificados inicialmente com base em seus antagonistas específicos bicuculina e baclofen, respectivamente (COOPER e cols., 2003; BOWERY; SMART, 2006). Existe ainda um terceiro subtipo de receptores ionotrópicos, classificado por alguns autores como GABA_C, com propriedades farmacológicas, funcionais e estruturais diferenciadas (JOHNSTON e cols., 1975; BORMANN, 2000.)

O controle exercido por mecanismos GABAérgicos sobre estruturas responsáveis pela geração e elaboração do comportamento defensivo tem sido um dos principais focos de atenção de pesquisas sobre a modulação dos substratos neurais da aversão no teto mesencefálico. Diversos estudos vêm mostrando que injeções locais de benzodiazepínicos (BZP) na substância cinzenta periaqueductal dorsal (SCPd) deprimem o comportamento de fuga aprendido e não aprendido, induzido por estimulação elétrica dessa região (BRANDÃO e cols., 1994; 1999). Dados obtidos de estudos comportamentais usando modelos animais de ansiedade têm fornecido evidências consistentes de uma interação da ação antiaversiva dos

BZP com mecanismos GABAérgicos no teto mesencefálico. Particularmente, tem sido observado que antagonistas de receptores GABAérgicos injetados nessa região causam reações defensivas similares às que se observam com estimulação elétrica, o que sugere que o complexo GABA-BZP exibe um papel inibitório tônico sobre o substrato neural da ansiedade no teto mesencefálico (SCHIMITT e cols., 1985; BRANDÃO e cols., 1988; 1994; 1999).

Também foi mostrada que a neurotransmissão GABAérgica exerce um importante papel na modulação das vias neurais relacionadas com a percepção da dor (MOTTA e cols., 2004). Entretanto, os efeitos dos BZP sobre a dor não estão claros. Em geral, estes compostos não possuem efeitos sobre o limiar de percepção do estímulo nociceptivo e não alteram os efeitos antinociceptivos dos opióides. Entretanto, após a administração intracerebral em áreas do tronco encefálico, os agonistas GABAérgicos possuem efeitos antagônicos aos da morfina. Este é um efeito consistente com o papel dos interneurônios GABAérgicos encontrados na SCP e que exercem um controle sobre mecanismos excitatórios para as projeções bulbares (YAKSH, 1999).

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

Na continuidade de estudos realizados em outros laboratórios que indicam dissociação funcional das áreas rostrais e caudais do NPtA na modulação da antinocicepção e da aversão, nosso trabalho está direcionado para:

- Analisar se a antinocicepção induzida pela estimulação do NPtA está associada a sua região rostral, caudal, dorsal ou ventral;
- Examinar se a natureza da antinocicepção induzida pela estimulação do NPtA decorre da ativação de substratos neurais associados à aversão;
- Estudar a mediação GABAérgica da antinocicepção induzida pela estimulação do NPtA através de injeção local de muscimol – um agonista de receptores GABA_A – e de semicarbazida – um inibidor da síntese do ácido glutâmico, precursor do neurotransmissor GABA.

Para isso, utilizamos a estimulação mecânica por 2 minutos do NPtA com uma agulha de injeção implantada na região ventral ou dorsal e suas subdivisões (rostral e caudal). A análise dos efeitos antinociceptivos da estimulação do NPtA, bem como dos efeitos das injeções intra-NPtA de muscimol e semicarbazida foi realizada através do Teste de Retirada da cauda. Eventuais efeitos aversivos dessa manipulação foram avaliados com o emprego do teste do Labirinto em Cruz Elevado.

MATERIAIS E MÉTODOS

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Animais

Foram utilizados 168 ratos Wistar machos (*Rattus norvegicus*), com peso entre 250 e 300 gramas, provenientes do biotério central da Universidade de São Paulo, *campus* de Ribeirão Preto. Os animais foram agrupados (4 animais por caixa) em gaiolas de polipropileno medindo 33 x 40 x 17 cm, forradas com serragem, com água e comida oferecidas *ad libidum*. Os animais foram mantidos em um biotério setorial com temperatura controlada de 23°C ± 1°C e um programa de iluminação artificial com ciclo claro-escuro de 12 x 12 h, com início do período claro às 07:00 h. Todos os experimentos foram realizados durante a fase clara do ciclo. Os animais foram transportados individualmente até a sala experimental ou de cirurgia, em uma caixa de polipropileno forrada com serragem, medindo 28 x 17 x 13 cm.

Os protocolos experimentais foram estruturados de acordo com os regulamentos e cuidados na utilização de animais em laboratório, conforme a Sociedade Brasileira de Neurociências.

3.2. Cirurgia

Os animais foram anestesiados intraperitonealmente com tribromoetanol (Aldrich-EUA) na dose de 250 mg/Kg, volume de 10 ml/Kg, sendo posteriormente levados a um aparelho estereotáxico (David-Kopf, EUA), onde tiveram o crânio fixado pelo rochedo temporal e incisivos superiores. Após a tricotomia, uma injeção subcutânea de 0,2 ml de lidocaína 2% (Harvey-Brasil) foi aplicada no local da incisão. Em seguida, o tecido subcutâneo foi removido, assim como o perióstio (por raspagem, com auxílio de pinça e

algodão). Já com a superfície craniana exposta e ajustada em posição horizontal, entre *bregma* e *lambda*, dois orifícios foram feitos nos ossos parietais com o uso de uma broca elétrica (Foredom-EUA) para fixação de parafusos destinados a ancorar a prótese ao crânio do animal. Em seguida, tomando-se o *bregma* como referência e seguindo as coordenadas do Atlas de Paxinos e Watson (2007), um orifício foi feito para implante de uma cânula-guia direcionada ao núcleo pré-tectal anterior (antero-posterior = -4,56 à -5,2 mm; médio-lateral = +1,9 à +2,1 mm; dorso-ventral = -4,8 à -5,2mm). Em seguida, o crânio foi revestido com acrílico dental (JET, Brasil) para fixação da cânula-guia e um fio de aço inoxidável foi introduzido para evitar entupimentos. Ao término da cirurgia, cada animal recebeu, via intramuscular, uma injeção de 60.000 UI de Pentabiótico (Fort Dodge, Brasil) e uma injeção do analgésico Banamine por via subcutânea.

Os ratos operados permaneceram em recuperação por 6 dias antes de serem manipulados para experimentação.

3.3. Microinjeções de drogas

A estimulação do NPtA foi realizada através da inserção de uma agulha de injeção na área e sua manutenção por 2 minutos como descrito a seguir.

Os animais receberam uma injeção intra-NPtA dorsal ou ventral de salina ou droga, por meio de uma agulha odontológica 30 G – com 17 mm de comprimento, 0,3 mm de diâmetro externo introduzida na cânula e ultrapassando-a em 1 mm. A agulha para injeção foi conectada a uma seringa Hamilton de 5 µl, com o uso de um tubo de polietileno (PE-10). Um volume de 0,2 µl foi injetado durante 1 min, por meio de uma bomba de microinfusão (Harvard, EUA), e a agulha foi mantida no lugar por 1 min adicional para evitar o refluxo. O

deslocamento de uma bolha de ar no tubo de polietileno foi utilizado para monitorar a microinjeção.

Após 10 min do procedimento de microinjeção de salina, muscimol ou semicarbazida, um grupo de animais foi colocado no teste de LCE e em seguida foram tomadas as medidas de tempo no teste da retirada de cauda. Outro grupo foi exposto somente ao teste do LCE.

3.4. Drogas

Foi utilizado muscimol - um agonista de receptores GABA_A - na dose de 1 nmol/0,2 µl (Sigma-Aldrich, EUA) e semicarbazida - um inibidor da enzima descarboxilase do ácido glutâmico, que sintetiza o GABA - na dose de 6 µg/0,2 µl (10,40 nmol/0,2 µl) (Vetec, Brasil). Os animais controle receberam o mesmo volume de salina. O tempo de espera entre a microinjeção das drogas e os testes experimentais foi de 10 min. A escolha das doses das drogas utilizadas baseou-se em trabalhos realizados anteriormente nesse laboratório (BRANDÃO e cols., 1986; BORELLI e cols., 2005; REIMER, 2008)

3.5. Modelos Animais

3.5.1. Labirinto em Cruz Elevado

Handley e Mithani (1984) adaptaram o modelo proposto por Montgomery (1955), hoje conhecido como Labirinto em Cruz Elevado (LCE), um modelo animal hábil para identificar o medo inato (ou incondicionado) de ratos frente aos perigos naturais: espaço aberto, altura e luminosidade, a partir das observações de que drogas ansiolíticas aumentaram a frequência de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos e drogas ansiogênicas reduziram esse comportamento. O LCE é um modelo clássico em estudos farmacológicos de ansiedade por

basear-se no conflito entre a exploração do ambiente novo e a esquiava de áreas abertas. A validação do LCE como modelo de ansiedade foi realizada por Pellow et al. (1985), por meio de testes farmacológicos, fisiológicos e comportamentais.

O aparelho consiste em dois braços abertos (50 x 10 cm) cruzados em ângulo reto por dois braços fechados de mesmo tamanho. Esses dois braços apresentam paredes de 50 cm de altura, exceto na parte central onde todos os braços se cruzam. O aparato está elevado a 50 cm do chão. Para prevenir a queda dos ratos, uma borda de acrílico (0,5 cm de altura) envolve o perímetro dos braços abertos. As sessões experimentais foram gravadas por uma câmera de vídeo conectada a um monitor em uma sala adjacente.

Os ratos foram divididos em três grupos, salina (controle), muscimol (1 nmol/0,2 µl) e semicarbazida (6 µg/0,2 µl). Após os tratamentos, cada rato foi colocado na área central do LCE com a cabeça voltada para um dos braços fechados e permaneceram no aparato por 5 min. Após esse período, o animal foi retirado e o LCE limpo utilizando-se uma solução de álcool a 20%.

3.5.2. Teste da Retirada de Cauda

O teste da Retirada de Cauda (*Tail Flick Test*) foi realizado no 6º dia após a cirurgia. É um modelo indicado para avaliar a resposta reflexa fásica de retirada de cauda. Nesse teste, é medido o tempo de reação de retirada da cauda frente a um estímulo de natureza térmica.

Cada animal foi contido em um cilindro transparente, e um calor radiante foi direcionado ao terço distal da cauda do animal através do aparelho de teste da retirada da cauda (Ugo Basile, Itália). A latência do primeiro reflexo vigoroso da cauda foi registrada. O tempo máximo de exposição da cauda ao estímulo foi de 6 s, afim de prevenir danos ao tecido da cauda do animal. Um pequeno ajuste de corrente foi feito sempre no início do experimento

a fim de se obter três latências de retirada da cauda (LRC linha de base) entre 2,5 e 3,5 s, tomadas a intervalos de 5 min, todas antes da exposição do animal ao LCE. As medidas teste (LRC teste) foram feitas imediatamente após a retirada do animal do labirinto e em intervalos subsequentes de 5 min durante 30 minutos. Abaixo segue esquema do delineamento desse experimento.



As medidas testes foram normalizadas por um índice de analgesia (IA) através da seguinte fórmula:

$$IA = \frac{(\text{LRC teste}) - (\text{LRC linha de base})}{6 - (\text{LRC linha de base})}$$

3.6. HISTOLOGIA

Ao final dos experimentos, os animais receberam doses letais de Pentobarbital sódico (100 mg/Kg) via intraperitoneal. Em seguida, os animais foram perfundidos por via intracardíaca com solução salina 0,9% seguida por formalina 4%, para fixação do tecido encefálico. Os encéfalos foram removidos das caixas cranianas, mantidos em frascos contendo solução de formalina por 3 h e, posteriormente, transferidos para uma solução de sacarose 30%, onde permaneceram por 48 h a 4°C. Os encéfalos foram congelados e cortes histológicos foram realizados em um criostato (Leica CM 1850) em secções coronais de 60 µm. Os cortes foram colocados em lâminas previamente gelatinizadas e, depois de secos, receberam a coloração de *Nissl* para localização dos sítios das microinjeções, de acordo com o Atlas de Paxinos e Watson (2007).

3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados estão apresentados como média + EPM. As medidas comportamentais observadas no LCE foram submetidas à análise de variância (ANOVA) de uma via e as medidas nociceptivas foram submetidas à análise de variância (ANOVA) de duas vias com medidas repetidas, tendo como fatores os tratamentos (salina, muscimol e semicarbazida) e como medidas repetidas o tempo (0; 5; 10; 15; 20; 25; 30 min). Nas análises de Área Sob a Curva, foi utilizada a ANOVA de uma via para o fator tratamento. No caso de significância estatística, foi utilizado o teste *post-hoc* de Newman-Keuls. Um valor de p inferior a 0,05 foi considerado significativo.

RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. Localização dos sítios de microinjeção

Os resultados apresentados nesse estudo referem-se aos animais cuja cânula de injeção atingiu o NPtA nas suas porções dorsal e ventral. Como ilustrado na figura 2, uma linha imaginária passando no meio da NPtA serviu para dividir esse núcleo em regiões dorsal e ventral. Os limites rostral e caudal foram delimitados baseados no atlas de Paxinos e Watson (2007), considerando como rostral os cortes entre *bregma* -4,36 mm e -5,06 mm, e como dorsal os cortes entre *bregma* -5,06 mm e -5,76 mm. A figura 3 mostra cortes histológicos representativos de sítios de microinjeção no NPtAv e NPtAd. A Figura 4 indica esquematicamente os sítios de microinjeção das drogas nos animais utilizados neste estudo.

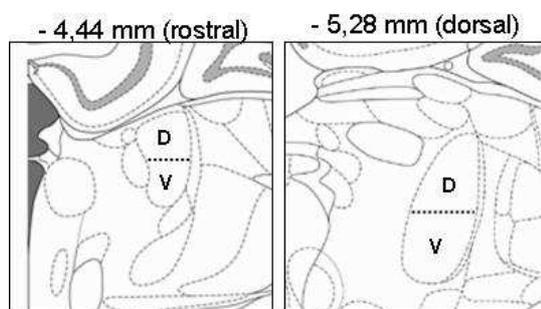


Figura 2: Diagrama mostrando a divisão do NPtA em regiões dorsal e ventral. **D** = dorsal; **V** = ventral.

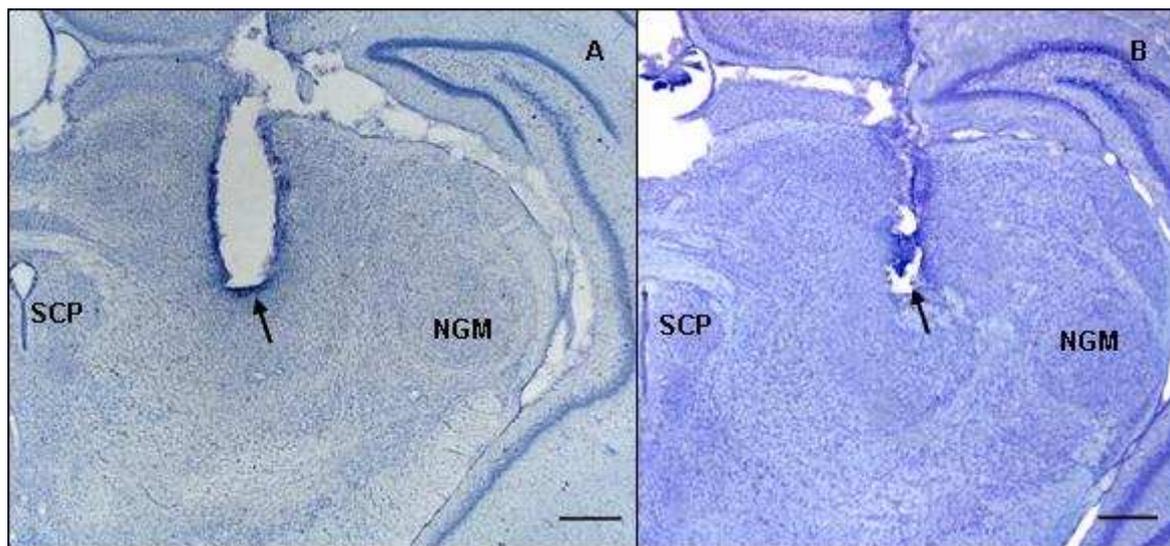


Figura 3: Fotomicrografias representativas de cortes do mesencéfalo rostral de rato Wistar. **A:** A seta indica um sítio de microinjeção no NPtAv rostral (*bregma* -4,92 mm); **B:** A seta indica um sítio de microinjeção no NPtAd caudal (*bregma* -5,40 mm). SCP, substância cinzenta periaquedutal; NGM, núcleo geniculado medial. Barra = 500

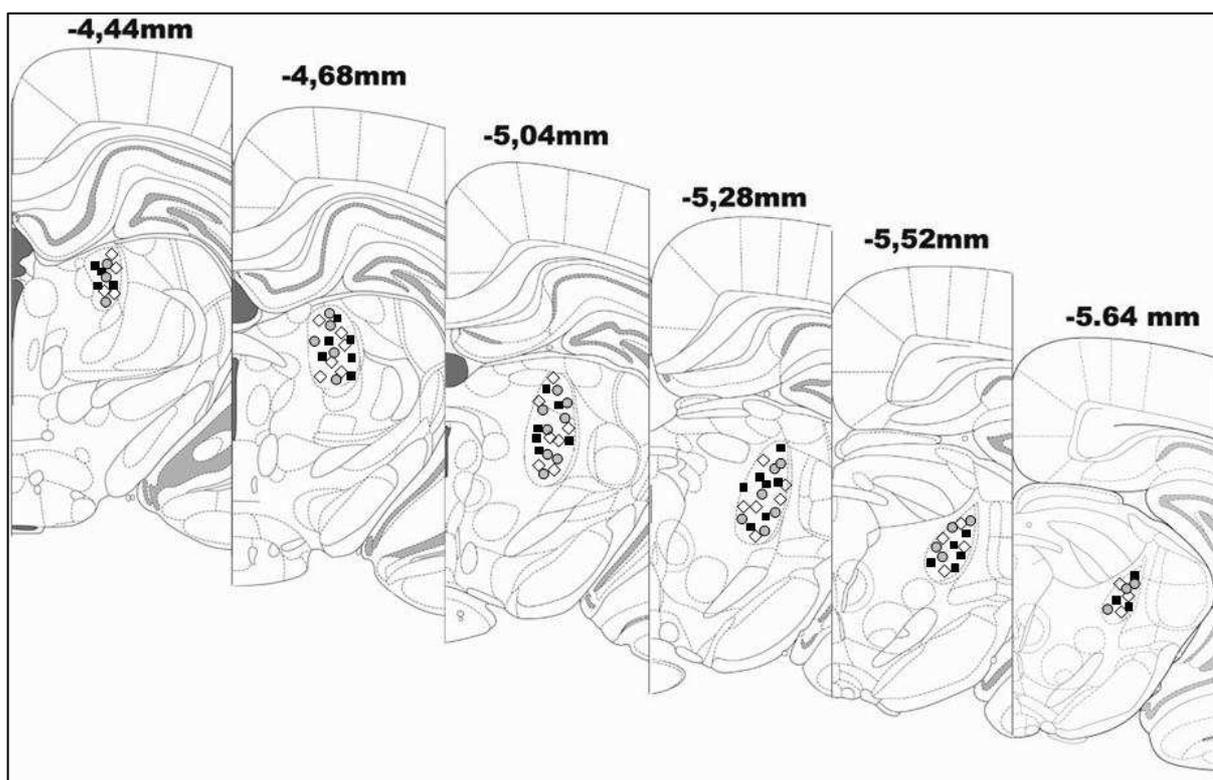


Figura 4: Localização dos sítios de microinjeção nas regiões dorsal e ventral do NPtA de ratos que foram avaliados nos modelos de LCE e TRC realizado logo após ao LCE, em diagramas de acordo com o atlas de Paxinos e Watson (2007). Os números acima do diagrama indicam a distância em mm a partir do *bregma*. (◇) salina; (■) muscimol 1nmol/0,2 μ L; (△) semicarbazida 6 μ g/0,2 μ L. Os pontos apresentados não representam a quantidade real dos sítios de microinjeção no NPtA, já que houve sobreposição dos mesmos.

4.2. TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO

4.2.1. Núcleo Pré-tectal Anterior ventral rostral (NPtAv rostral)

Na Figura 5 estão representados os resultados do tempo de permanência nos braços abertos, número de entradas nos braços abertos e número de entradas nos braços fechados de animais tratados com salina, muscimol ou semicarbazida localmente no NPtAv rostral e submetidos somente ao LCE. A ANOVA de uma via seguida da análise *post-hoc* de Newman-Keuls mostrou que o tratamento com muscimol diminuiu significativamente o número de entradas nos braços abertos do LCE [$F(2,18) = 3,23$; $p < 0,05$]. Não foram encontradas alterações significativas no tempo de exploração dos braços abertos [$F(2,18) = 0,82$], número de entradas nos braços fechados [$F(2,18) = 0,25$], número de levantamentos [$F(2,18) = 1,50$], auto-limpeza [$F(2,18) = 0,9$], mergulhos de cabeça [$F(2,18) = 1,02$], exploração das extremidades dos braços abertos [$F(2,18) = 1,70$] e esticamentos (*Stretch-attend posture*) [$F(2,18) = 0,81$].

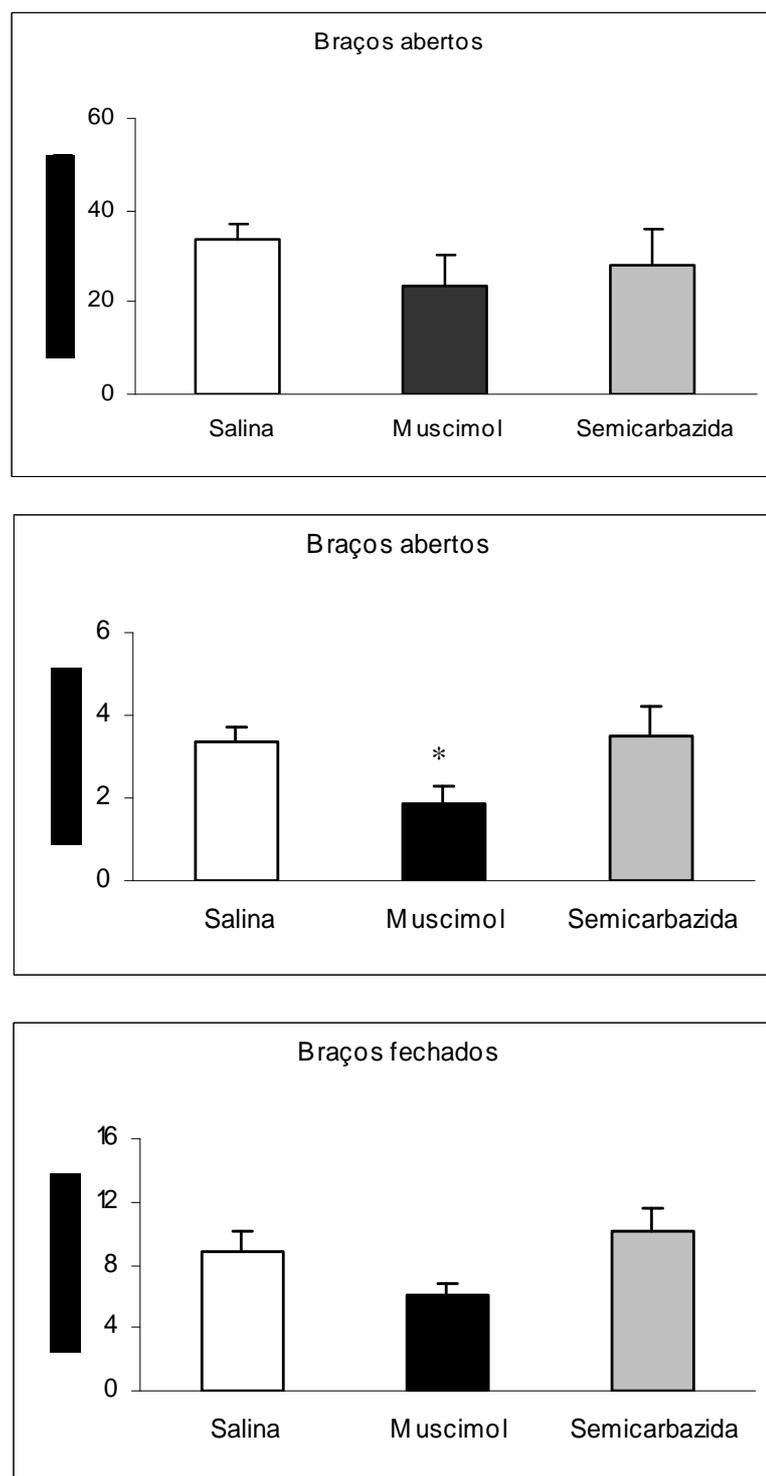


Figura 5: Efeitos de salina, muscimol 1 nmol/0,2 μ l e semicarbazida 6 μ g/0,2 μ l injetados intra-NPtAv rostral de ratos submetidos ao teste do LCE. Os dados são apresentados como média + EPM. n = 7 por grupo. * p < 0,05 quando comparado com o grupo salina (ANOVA de uma via seguida de *post-hoc* de Newman-Keuls)

4.2.2. Núcleo Pré-tectal Anterior ventral caudal (NPtAv caudal)

Na Figura 6 estão representados os resultados do tempo de permanência nos braços abertos, número de entradas nos braços abertos e número de entradas nos braços fechados de animais tratados com salina, muscimol ou semicarbazida localmente no NPtAv caudal e submetidos ao LCE. A ANOVA de uma via seguida da análise *post-hoc* de Newman-Keuls mostrou que o tratamento com semicarbazida aumentou o número de entradas nos braços fechados [$F(2,18) = 3,92$; $p < 0,05$]. Não foram encontradas alterações significativas no tempo de exploração dos braços abertos [$F(2,18) = 1,05$], número de entradas nos braços abertos [$F(2,18) = 1,99$], número de levantamentos [$F(2,18) = 0,51$], auto-limpeza [$F(2,18) = 2,39$], mergulhos de cabeça [$F(2,18) = 2,51$], exploração das extremidades dos braços abertos [$F(2,18) = 1,12$] e esticamentos [$F(2,18) = 2,30$].

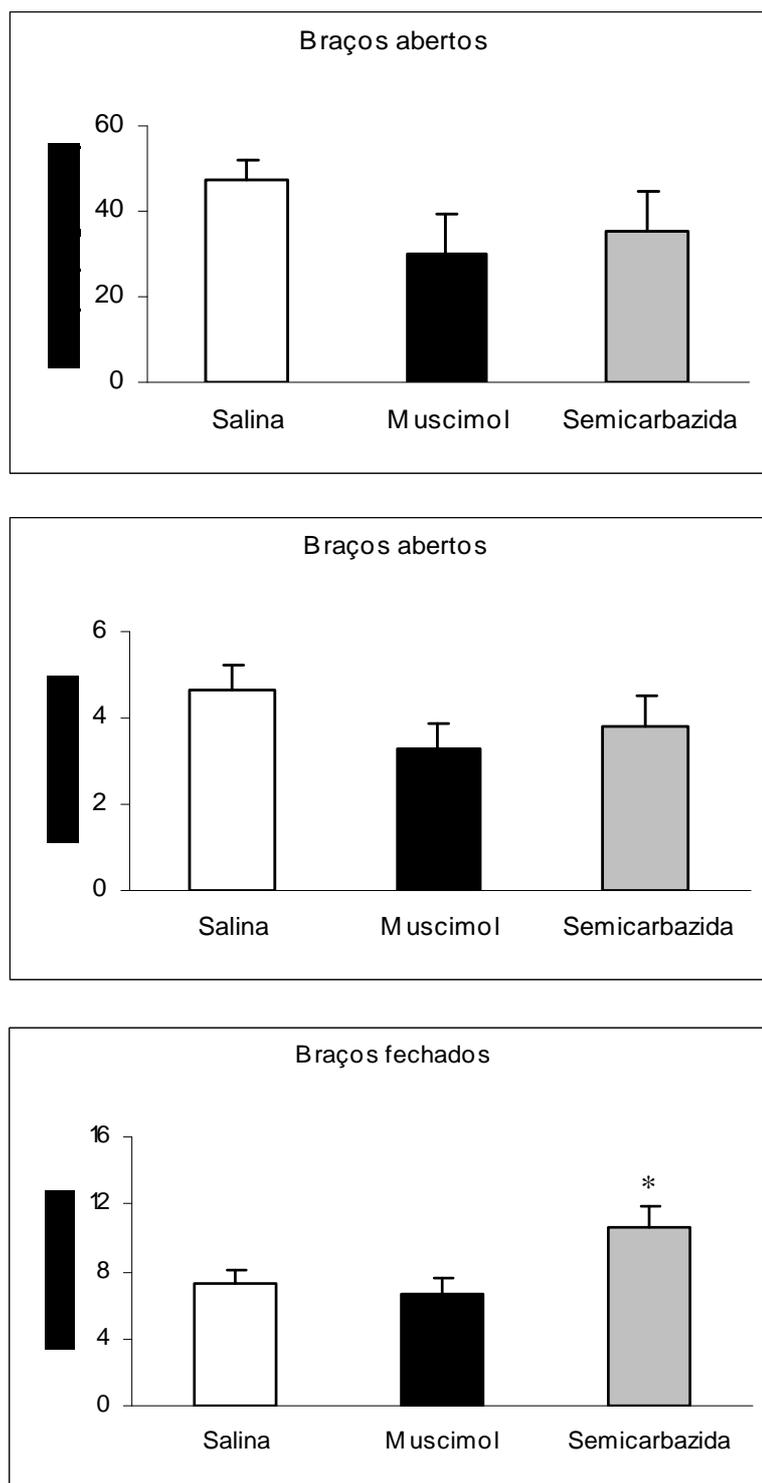


Figura 6: Efeitos de salina, muscimol 1 nmol/0,2 μ l e semicarbazida 6 μ g/0,2 μ l injetados intra-NPtAv caudal de ratos submetidos ao teste do LCE. Os dados são apresentados como média + EPM. n = 7 por grupo. * p < 0,05 quando comparado com o grupo salina (ANOVA de uma via seguida de *post-hoc* de Newman-Keuls)

4.2.3. Núcleo Pré-tectal Anterior ventral rostral e caudal (NPtAv rostro-caudal)

Para efeito de comparação, os dados obtidos com as injeções nas porções rostral e caudal do NPtA ventral foram agrupados. Na Figura 7 estão representados os efeitos dos tratamentos com salina, muscimol e semicarbazida localmente no NPtAv, sobre o tempo de permanência nos braços abertos, número de entradas nos braços abertos e número de entradas nos braços fechados, em ratos submetidos ao LCE. A ANOVA de uma via seguida da análise *post-hoc* de Newman-Keuls mostrou que o tratamento com muscimol diminuiu o número de entradas nos braços abertos [$F(2,39) = 4,31$; $p < 0,05$], enquanto que o tratamento com semicarbazida aumentou a frequência de esticamento [$F(2,39) = 4,17$]. Não foram encontradas alterações significativas no tempo de exploração dos braços abertos [$F(2,39) = 1,67$], número de entradas nos braços fechados [$F(2,39) = 2,87$], número de levantamentos [$F(2,39) = 0,83$], auto-limpeza [$F(2,39) = 0,05$], mergulhos de cabeça [$F(2,39) = 2,28$] e exploração das extremidades dos braços abertos [$F(2,39) = 0,87$].

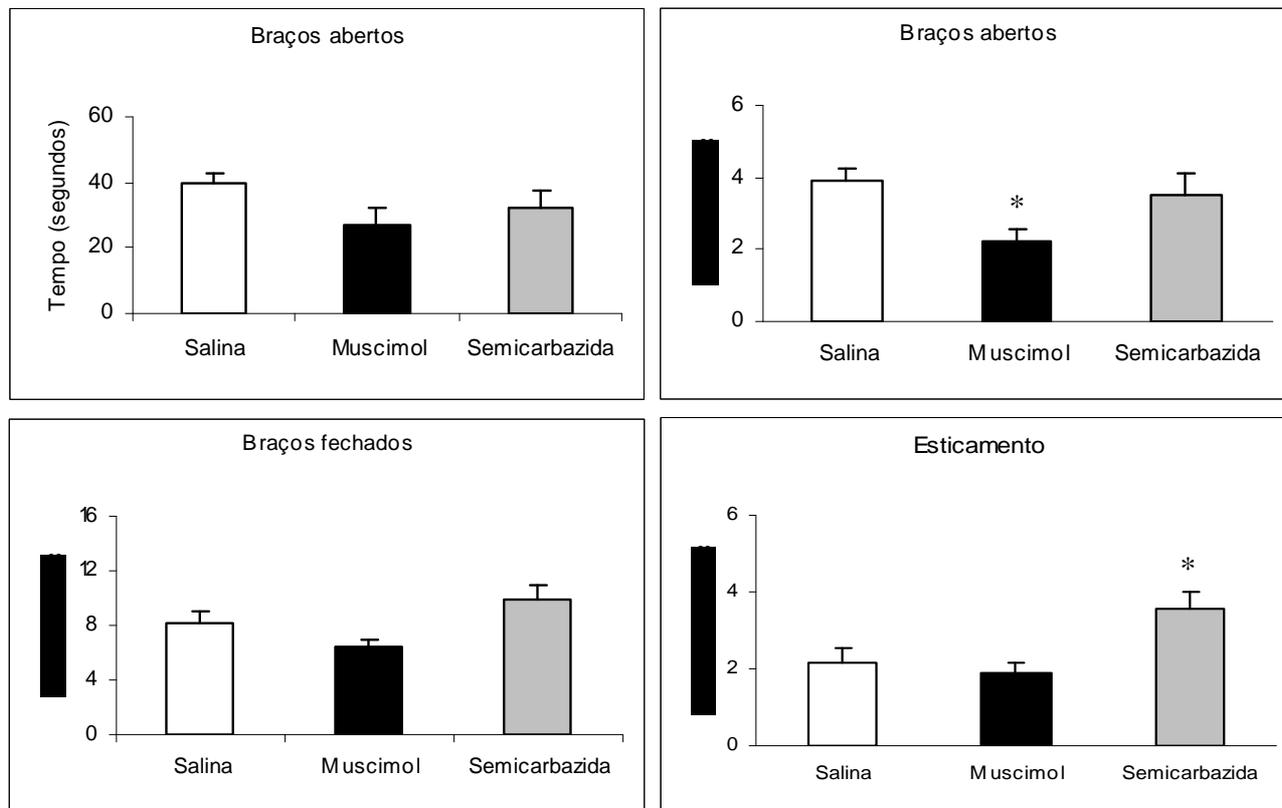


Figura 7: Efeitos de salina, muscimol 1 nmol/0,2 μ l e semicarbazida 6 μ g/0,2 μ l injetados intra-NPtAv rostro-caudal de ratos submetidos ao teste do LCE. Os dados são apresentados como média + EPM. n = 14 por grupo. * p < 0,05 quando comparado com o grupo salina (ANOVA de uma via seguida de *post-hoc* de Newman-Keuls)

4.2.4. Núcleo Pré-tectal Anterior dorsal rostral (NPtAd rostral)

Na Figura 8 estão representados os resultados do tempo de permanência nos braços abertos, número de entradas nos braços abertos e número de entradas nos braços fechados de animais tratados com salina, muscimol ou semicarbazida localmente no NPtAd rostral e submetidos ao LCE. A ANOVA de uma via mostrou que não foram encontradas alterações significativas no tempo de exploração dos braços abertos [$F(2,18) = 2,57$], número de entradas nos braços abertos [$F(2,18) = 1,33$], número de entradas nos braços fechados [$F(2,18) = 1,63$], número de levantamentos [$F(2,18) = 2,61$], auto-limpeza [$F(2,18) = 0,92$], mergulhos de cabeça [$F(2,18) = 1,74$], exploração das extremidades dos braços abertos [$F(2,18) = 1,12$] e esticamentos [$F(2,18) = 0,17$].

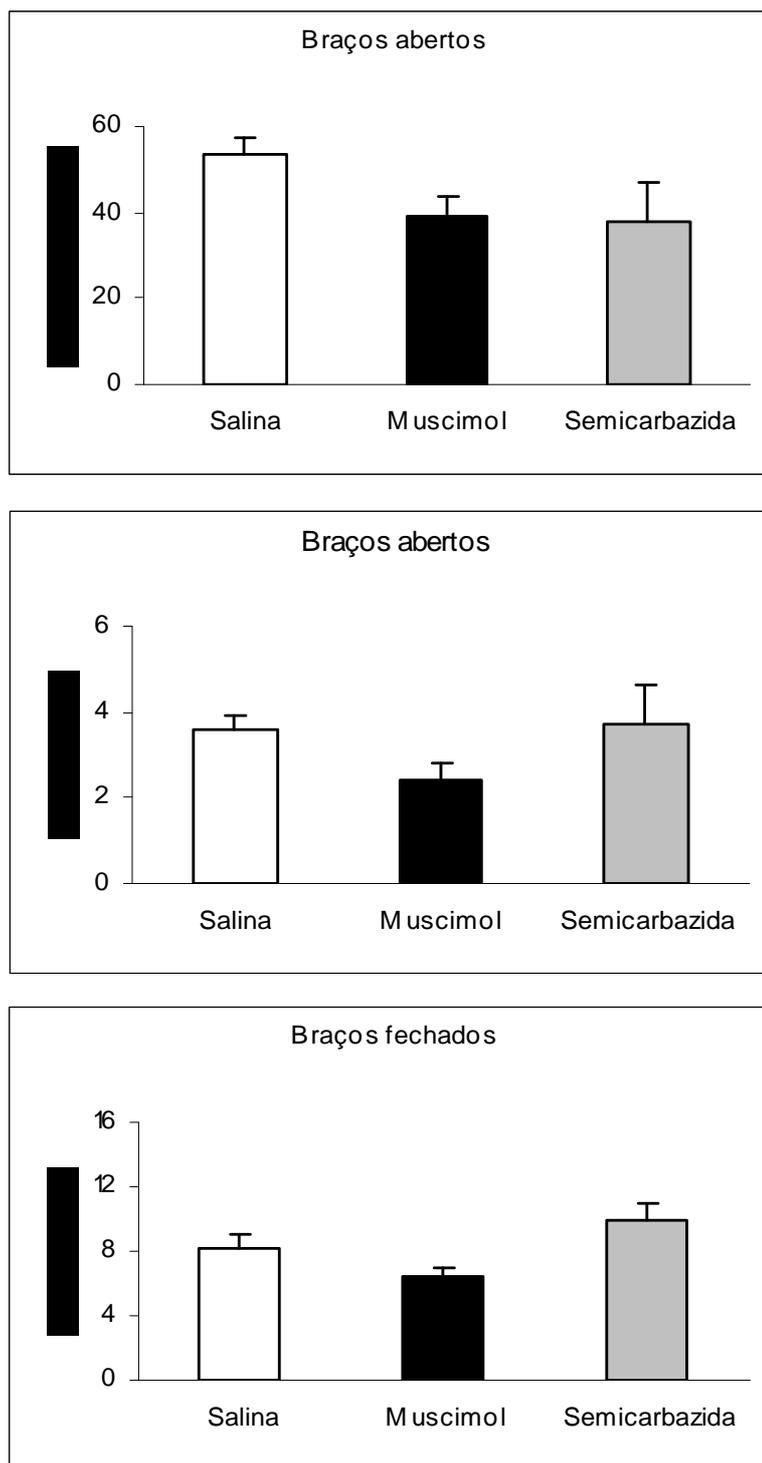


Figura 8: Efeitos de salina, muscimol 1 nmol/0,2 μ l e semicarbazida 6 μ g/0,2 μ l injetados intra-NPtAd rostral de ratos submetidos ao teste do LCE. Os dados são apresentados como média + EPM. n = 7 por grupo.

4.2.5. Núcleo Pré-tectal Anterior dorsal caudal (NPtAd caudal)

Na Figura 9 estão representados os resultados do tempo de permanência nos braços abertos, número de entradas nos braços abertos, número de entradas nos braços fechados e número de levantamentos de animais tratados com salina, muscimol ou semicarbazida localmente no NPtAd caudal e submetidos ao LCE. A ANOVA de uma via mostrou que o tratamento com muscimol aumentou o número de levantamentos [$F(2,18) = 5,07$; $p < 0,05$]. Não foram encontradas alterações significativas no tempo de exploração dos braços abertos [$F(2,18) = 0,63$], número de entradas nos braços abertos [$F(2,18) = 0,71$], número de entradas nos braços fechados [$F(2,18) = 0,81$], auto-limpeza [$F(2,18) = 2,21$], mergulhos de cabeça [$F(2,18) = 0,55$], exploração até as extremidades dos braços abertos [$F(2,18) = 1,84$] e esticamentos [$F(2,18) = 1,24$].

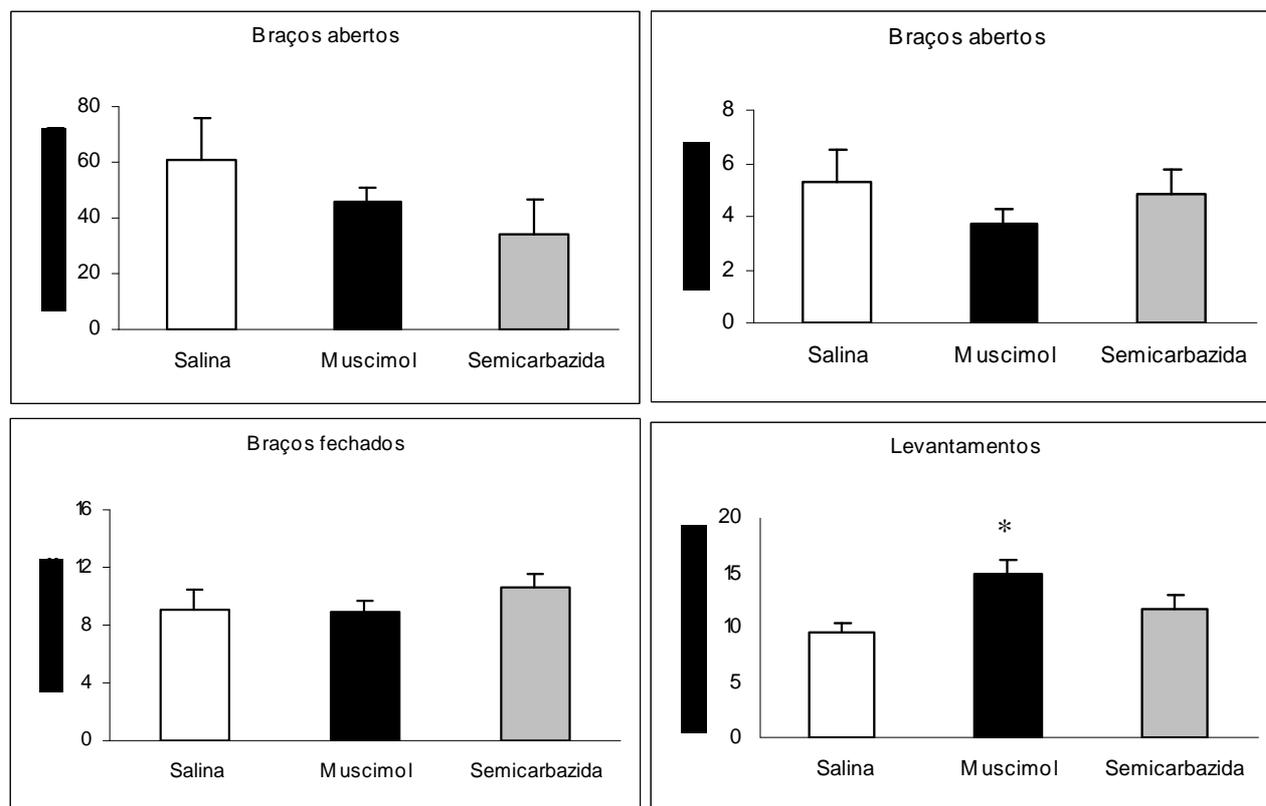


Figura 9: Efeitos de salina, muscimol 1 nmol/0,2 μ l e semicarbazida 6 μ g/0,2 μ l injetados intra-NPtAd caudal de ratos submetidos ao teste do LCE. Os dados são apresentados como média + EPM. n = 7 por grupo. * p < 0,05 quando comparado com o grupo salina (ANOVA de uma via seguida de *post-hoc* de Newman-Keuls)

4.2.6. Núcleo Pré-tectal Anterior dorsal rostral e caudal (NPtAd rostro-caudal)

Para efeito de comparação, os dados obtidos com as porções rostral e caudal do NPtAd foram agrupados. Na Figura 10 estão representados os resultados do tempo de permanência nos braços abertos, número de entradas nos braços abertos e número de entradas nos braços fechados de animais tratados com salina, muscimol ou semicarbazida localmente no NPtAd, nas suas porções rostral e caudal, e submetidos ao LCE. Não foram encontradas alterações significativas no tempo de exploração dos braços abertos [$F(2,39) = 2,13$], número de entradas nos braços abertos [$F(2,39) = 1,62$], número de entradas nos braços fechados [$F(2,39) = 2,15$], número de levantamentos [$F(2,39) = 2,61$], tempo de auto-limpeza [$F(2,39) = 0,18$], mergulhos de cabeça [$F(2,39) = 1,42$], exploração das extremidades dos braços abertos [$F(2,39) = 2,47$] e esticamentos [$F(2,39) = 0,79$].

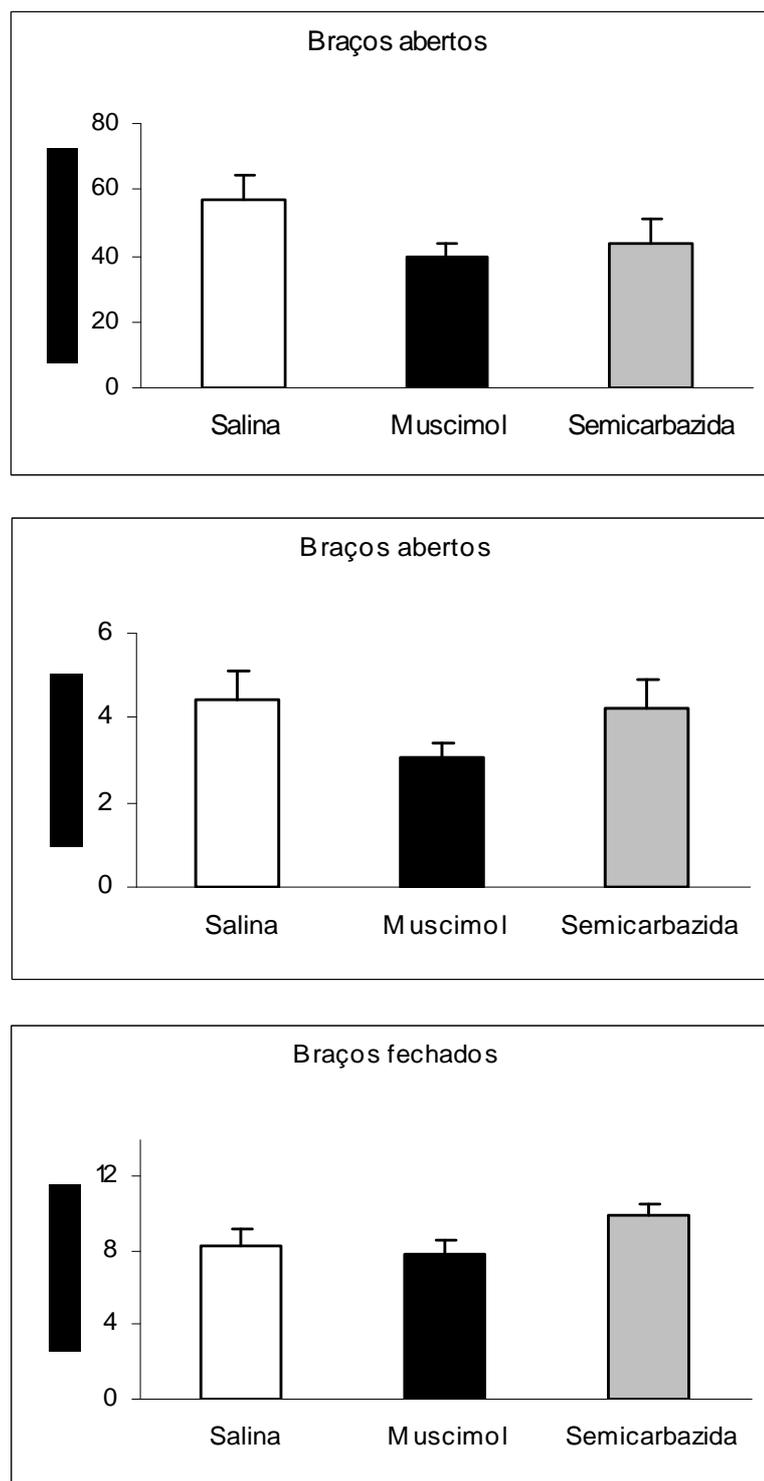


Figura 10: Efeitos de salina, muscimol 1 nmol/0,2 μ l e semicarbazida 6 μ g/0,2 μ l injetados intra-NPtAd rostro-caudal de ratos submetidos ao teste do LCE. Os dados são apresentados como média + EPM. n = 14 por grupo.

4.3. TESTE DE RETIRADA DE CAUDA APÓS EXPOSIÇÃO AO LCE

4.3.1. Núcleo Pré-tectal Anterior ventral rostral (NPtAv rostral)

Na figura 11 são apresentados os resultados obtidos no TRC através de injeções locais de salina, muscimol e semicarbazida na região rostral do NPtAv. A ANOVA de duas vias com medidas repetidas não mostrou diferença significativa no tratamento [$F(2,162) = 3,28$]. Entretanto, foi detectada diferença no tempo [$F(9,162) = 12,31$; $p < 0,05$] e interação entre tempo e tratamento [$F(18,162) = 2,03$; $p < 0,05$]. Uma ANOVA de uma via foi aplicada aos dados da área sob a curva (ASC) IA-tempo, mostrando diferença no tratamento [$F(2,18) = 4,01$; $p < 0,05$]. A análise *post-hoc* de Newman-Keuls mostrou que o tratamento com semicarbazida reduziu os efeitos da estimulação mecânica do NPtAv rostral.

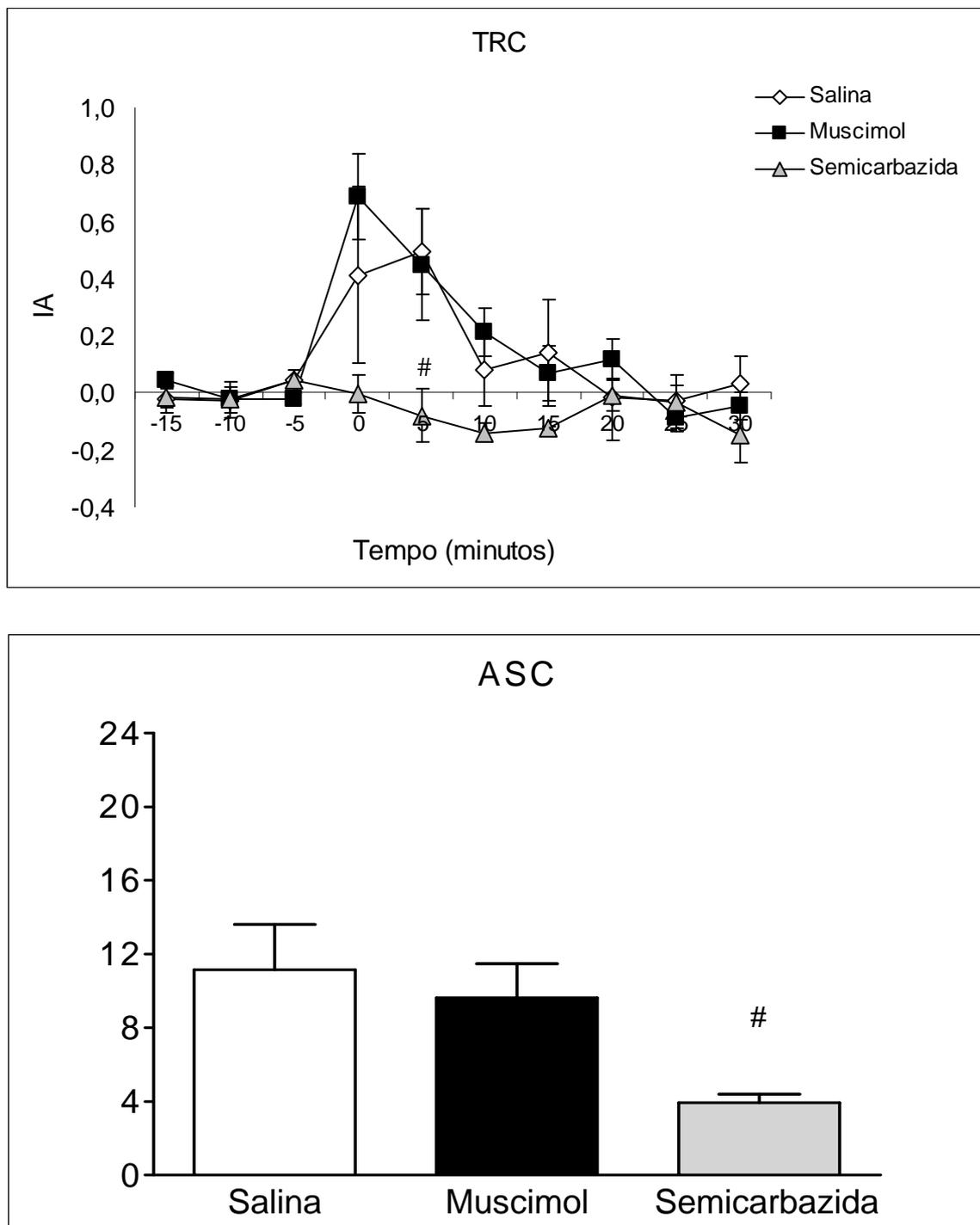


Figura 11: Efeitos de microinjeção de salina, muscimol 1 nmol/0,2 μ l e semicarbazida 6 μ g/0,2 μ l no NPTAv rostral de ratos. O gráfico abaixo do TRC mostra a área sob a curva (ASC) calculada para cada tratamento. Os dados são apresentados como média + EPM. # $p < 0,05$ quando comparado salina vs. semicarbazida. Uma ANOVA de duas vias com medidas repetidas foi utilizada para o TRC e uma ANOVA de uma via para a ASC, seguida de *post-hoc* de Newman-Keuls. $n = 7$ por grupo.

4.3.2. Núcleo Pré-tectal Anterior ventral caudal (NPtAv caudal)

Na figura 12 são apresentados os resultados obtidos no TRC através de injeções locais de salina, muscimol e semicarbazida na região caudal do NPtAv. A ANOVA de duas vias com medidas repetidas mostrou diferença significativa no tratamento [F(2,162) = 9,66; p < 0,05], tempo [F(9,162) = 6,86; p < 0,05] e interação entre tempo e tratamento [F(18,162) = 3,93; p < 0,05]. Uma ANOVA de uma via foi aplicada aos dados da área sob a curva (ASC), mostrando diferença no tratamento [F(2,18) = 7,03; p < 0,05]. A análise *post-hoc* de Newman-Keuls mostrou que o tratamento com injeção local de muscimol aumentou os efeitos da estimulação mecânica do NPtAv caudal.

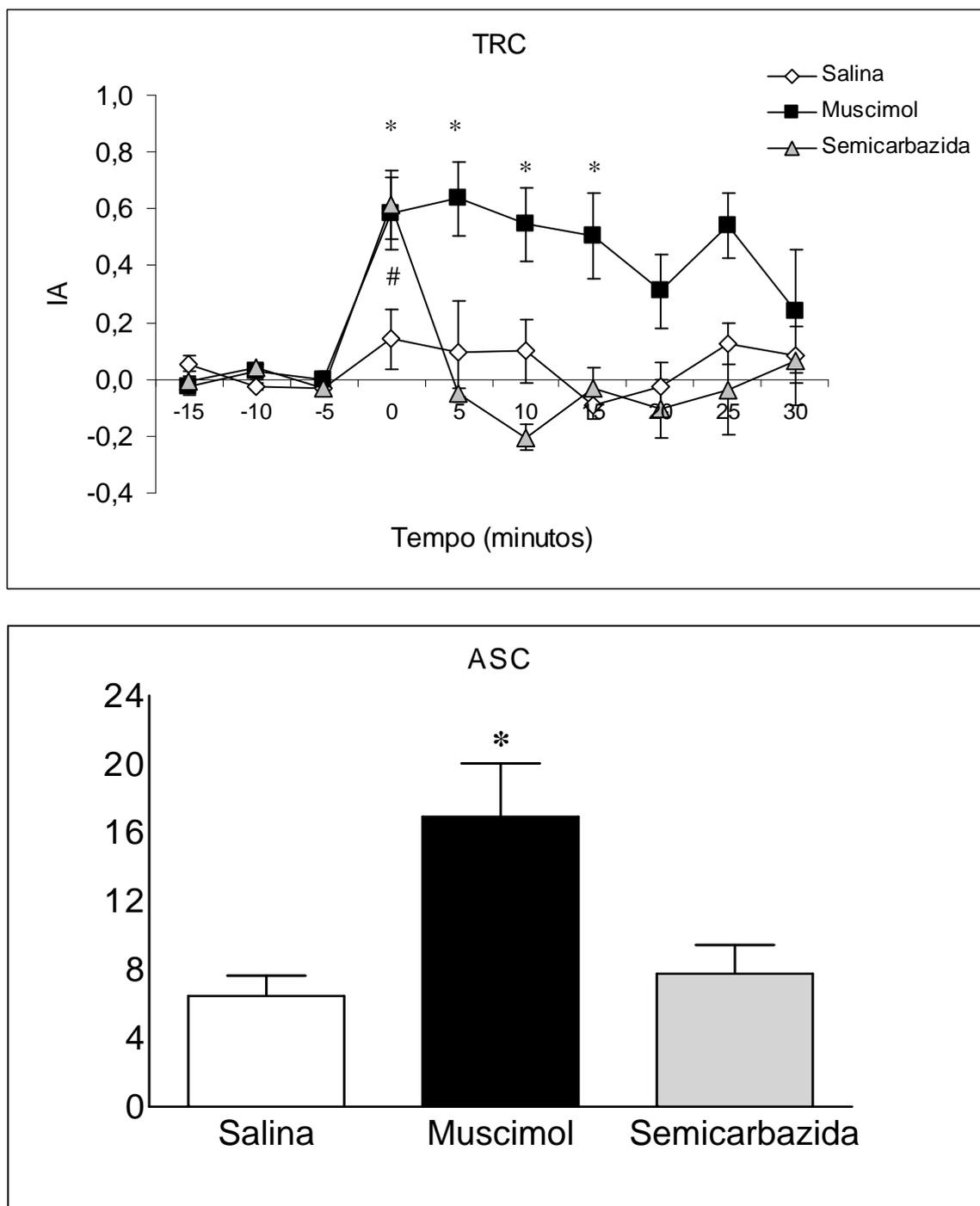


Figura 12: Efeitos da microinjeção de salina, muscimol 1 nmol/0,2 μ l e semicarbazida 6 μ g/0,2 μ l no NPTAv caudal de ratos. O gráfico abaixo do TRC mostra a área sob a curva (ASC) calculada para cada tratamento. Os dados são apresentados como média + EPM. * $p < 0,05$ quando comparado salina vs. muscimol e # $p < 0,05$ quando comparado salina vs. semicarbazida. Uma ANOVA de duas vias com medidas repetidas foi utilizada para o TRC e uma ANOVA de uma via para a ASC, seguida de *post-hoc* de Newman-Keuls. $n = 7$ por grupo.

4.3.3. Núcleo Pré-tectal Anterior ventral rostral e caudal (NPtA rostro-caudal)

Os resultados obtidos através das injeções locais de salina, muscimol e semicarbazida na região rostral e na região caudal do NPtAv foram agrupados. A ANOVA de duas vias com medidas repetidas mostrou diferença significativa no tratamento [$F(2,351) = 12,61; p < 0,05$], tempo [$F(9,351) = 11,38; p < 0,05$] e interação entre tempo e tratamento [$F(18,351) = 3,92; p < 0,05$]. Uma ANOVA de uma via foi aplicada à área sob a curva (ASC) IA-tempo, mostrando diferença no tratamento [$F(2,39) = 5,75; p < 0,05$]. A análise *post-hoc* de Newman-Keuls mostrou que o tratamento com muscimol produziu um aumento dos efeitos da estimulação mecânica do NPtAv dos animais quando comparado com o grupo controle salina (figura 13).

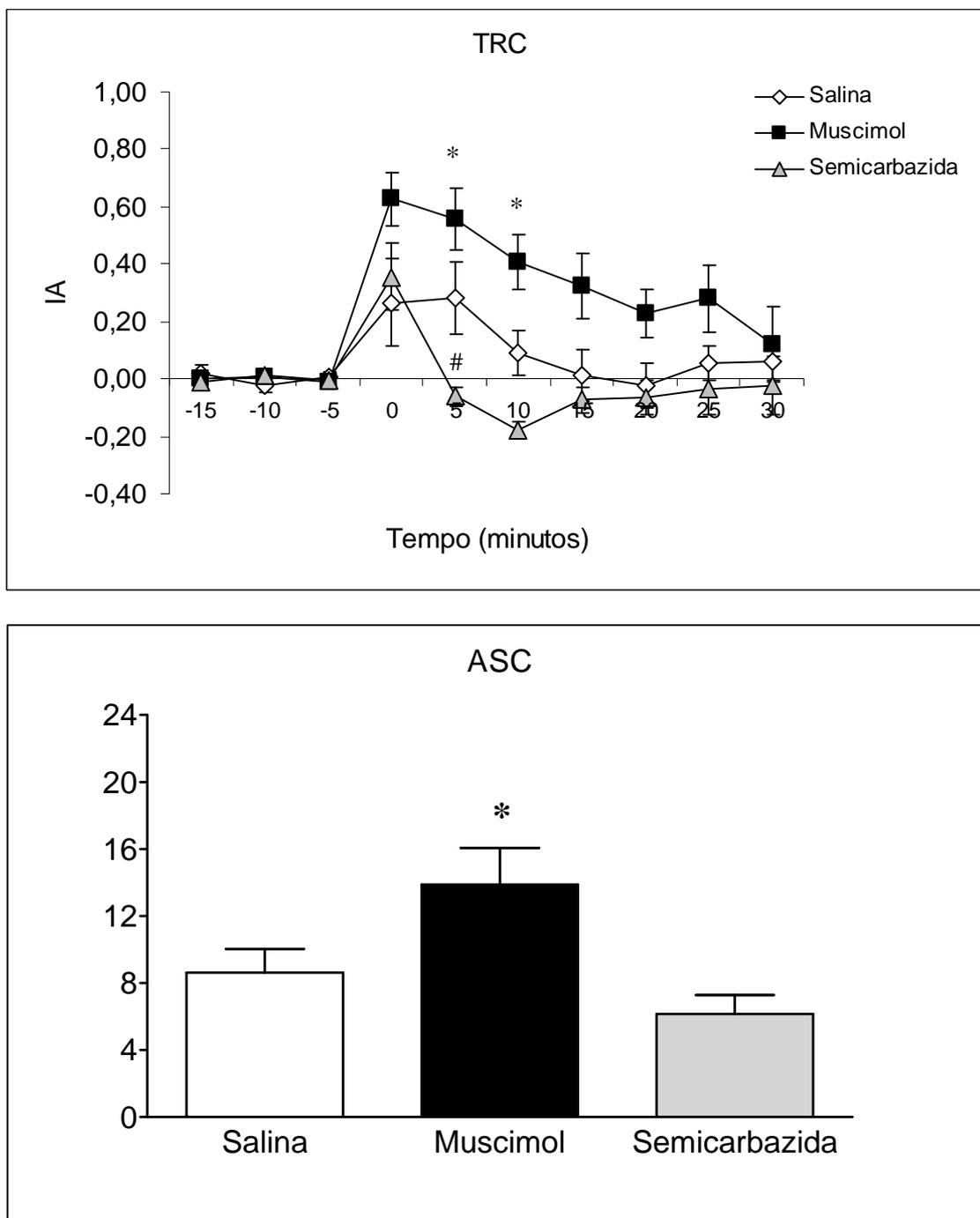


Figura 13: Efeitos da microinjeção de salina, muscimol 1 nmol/0,2 μ l e semicarbazida 6 μ g/0,2 μ l no NPTAv rostro-caudal de ratos. O gráfico abaixo do TRC mostra a área sob a curva (ASC) calculada para cada tratamento. Os dados são apresentados como média + EPM. * $p < 0,05$ quando comparado salina vs. muscimol e # $p < 0,05$ quando comparado salina vs. semicarbazida. Uma ANOVA de duas vias com medidas repetidas foi utilizada para o TRC e uma ANOVA de uma via para a ASC, seguida de *post-hoc* de Newman-Keuls. $n = 14$ por grupo.

4.3.4. Núcleo Pré-tectal Anterior dorsal rostral (NPtAd rostral)

Na figura 14 são apresentados os resultados no TRC após injeções locais de salina, muscimol e semicarbazida na região rostral do NPtA dorsal. A ANOVA de duas vias com medidas repetidas não detectou diferenças significativas no tratamento [$F(2,162) = 1,29$] e interação tratamento e tempo [$F(18,162) = 1,65$]. Entretanto, houve significância estatística no fator tempo [$F(9,162) = 10,09$; $p < 0,05$]. Não foram encontradas diferenças significativas nos tratamentos quando uma ANOVA de uma via foi aplicada aos dados da área sob a curva (ASC) IA-tempo.

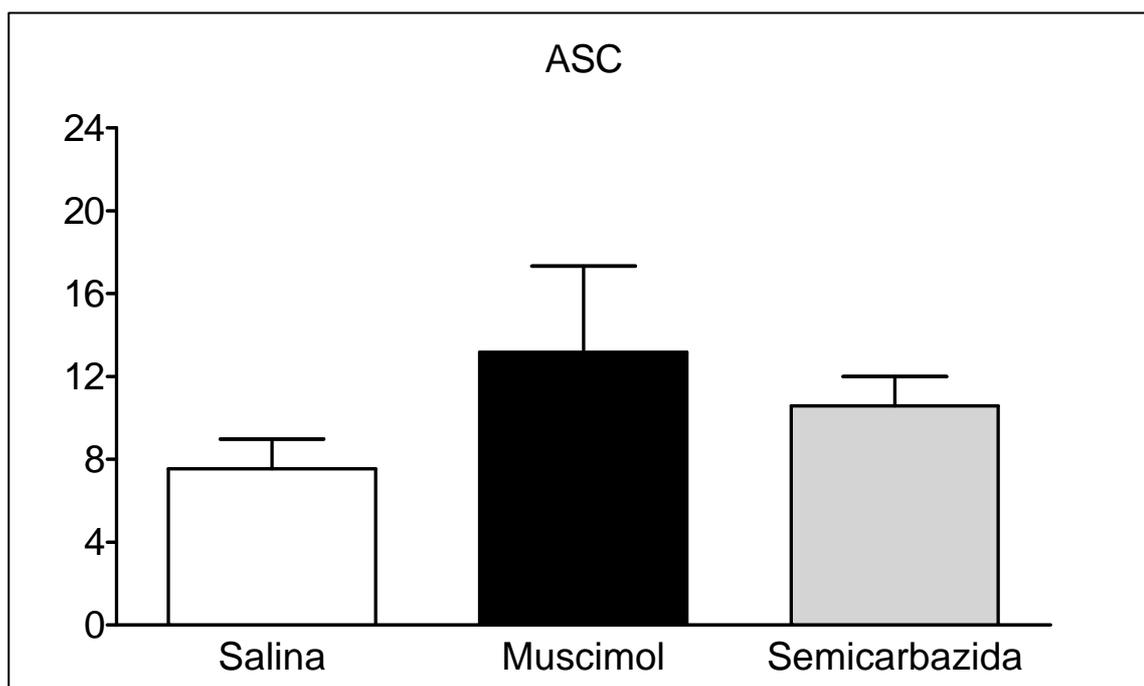
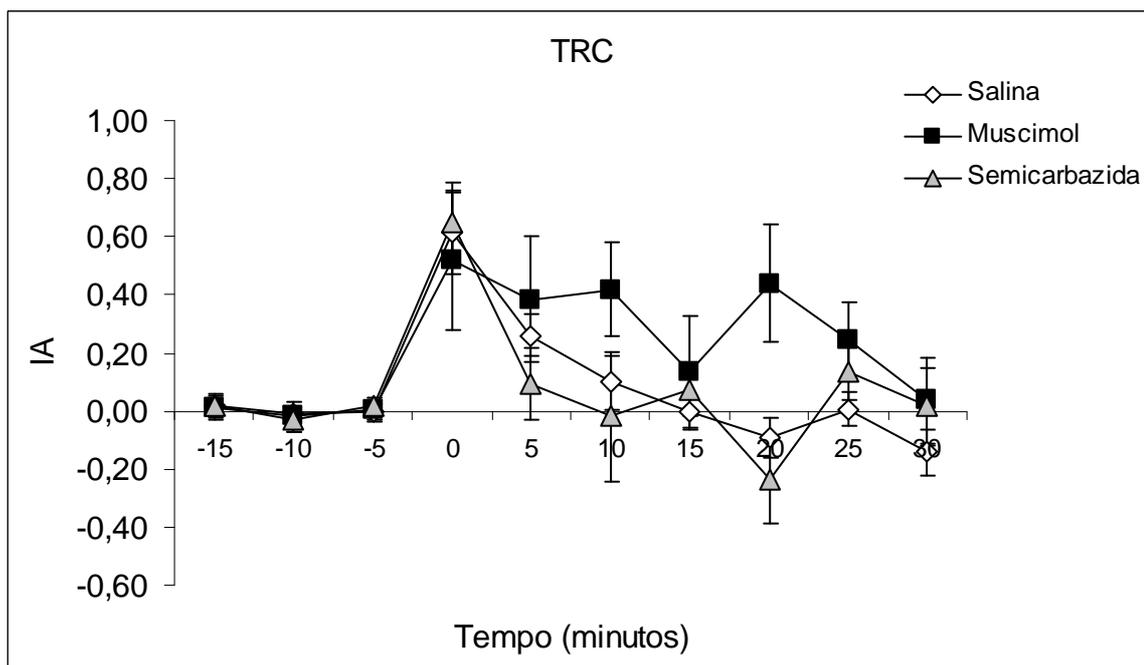


Figura 14: Efeitos da microinjeção de salina, muscimol 1 nmol/0,2 μ l e semicarbazida 6 μ g/0,2 μ l no NPTad rostral de ratos. O gráfico abaixo do TRC mostra a área sob a curva (ASC) calculada para cada tratamento. Os dados são apresentados como média + EPM. Uma ANOVA de duas vias com medidas repetidas foi utilizada para o TRC e uma ANOVA de uma via para a ASC, seguida de *post-hoc* de Newman-Keuls. n = 7 por grupo.

4.3.5. Núcleo Pré-tectal Anterior dorsal caudal (NPtAd caudal)

Na figura 15 estão apresentados os resultados no TRC após injeções locais de salina, muscimol e semicarbazida na região caudal do NPtA dorsal. A ANOVA de duas vias com medidas repetidas não detectou diferenças significativas no tratamento [$F(2,162) = 0,06$] e interação [$F(18,162) = 0,48$]. Entretanto, houve significância estatística no fator tempo [$F(9,162) = 2,38$; $p < 0,05$]. Não foram encontradas diferenças entre os tratamentos quando uma ANOVA de uma via foi aplicada aos dados da área sob a curva (ASC) IA-tempo [$F(2,18) = 0,55$].

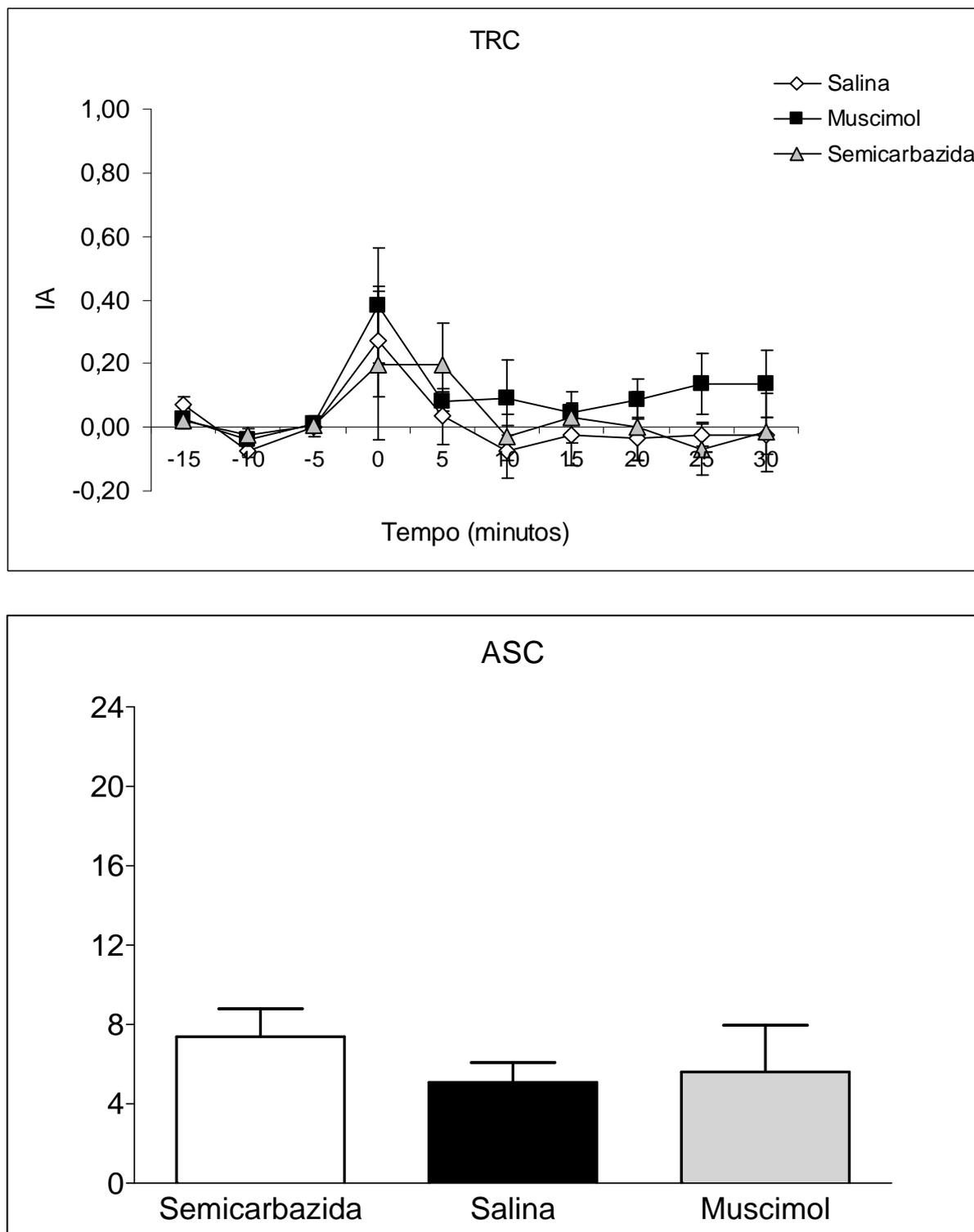


Figura 15: Efeitos da microinjeção de salina, muscimol 1 nmol/0,2 μ l e semicarbazida 6 μ g/0,2 μ l no NPtAd caudal de ratos. O gráfico abaixo do TRC mostra a área sob a curva (ASC) calculada para cada tratamento. Os dados são apresentados como média + EPM. Uma ANOVA de duas vias com medidas repetidas foi utilizada para o TRC e uma ANOVA de uma via para a ASC, seguida de *post-hoc* de Newman-Keuls. n = 7 por grupo.

4.3.6. Núcleo Pré-tectal Anterior dorsal rostral e caudal (NPtAd rostro-caudal)

Os resultados da microinjeção de salina, muscimol e semicarbazida obtidos na região rostral e na região caudal do NPtAd foram agrupados. A ANOVA de duas vias com medidas repetidas não detectou diferenças significativas no tratamento [$F(2,351) = 0,85$] e interação entre tempo e tratamento [$F(18,351) = 0,96$]. Porém, houve significância estatística no fator tempo [$F(9,351) = 10,25$; $p < 0,05$]. Uma ANOVA de uma via aplicada à área sob a curva (ASC) IA-tempo não mostrou diferença no tratamento [$F(2,39) = 1,05$] (figura 16).

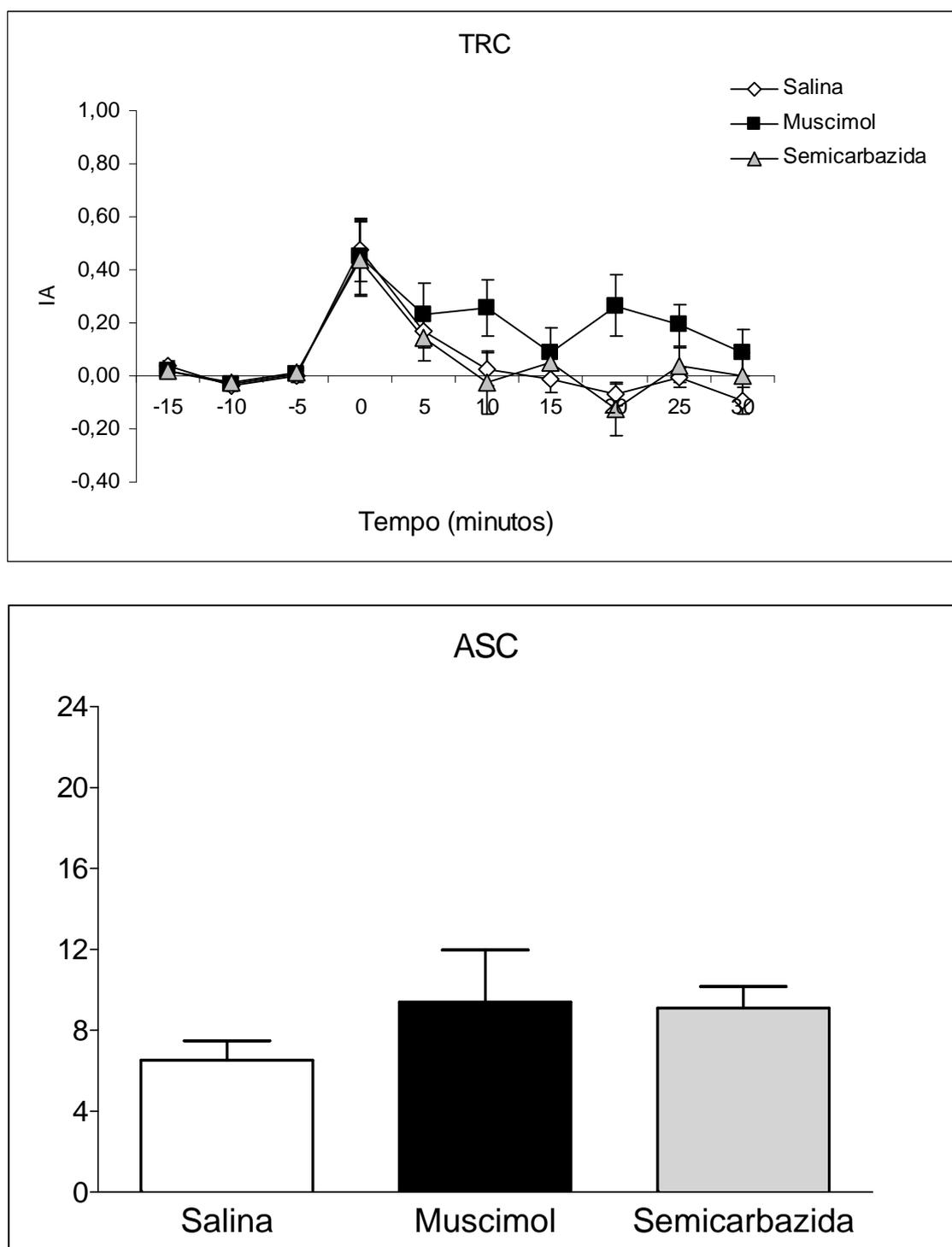


Figura 16: Efeitos da microinjeção de salina, muscimol 1 nmol/0,2 μ l e semicarbazida 6 μ g/0,2 μ l no NPTAd rostro-caudal de ratos. O gráfico abaixo do TRC mostra a área sob a curva (ASC) calculada para cada tratamento. Os dados são apresentados como média + EPM. Uma ANOVA de duas vias com medidas repetidas foi utilizada para o TRC e uma ANOVA de uma via para a ASC, seguida de *post-hoc* de Newman-Keuls. n = 14 por grupo.

DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

O sistema nervoso dos animais, principalmente dos mamíferos, possui sistemas especializados em antinocicepção (BASBAUM, FIELDS, 1984). A antinocicepção que se segue às reações defensivas desencadeadas pela estimulação de substratos neurais capazes de elicitar o medo em estruturas mesencefálicas foi muito discutida por décadas, e enormes avanços foram alcançados na compreensão da neurobiologia do medo e da analgesia induzida pelo medo. Em situações ambientais ameaçadoras extremas, a necessidade do recrutamento de um sistema que suprima a percepção de dor é extremamente vantajosa e necessária para a sobrevivência do animal.

A dor normalmente promove um conjunto de reflexos de retirada, fuga, retraimento e outros comportamentos recuperativos. Seria mais razoável, portanto, que essas reações fossem suprimidas em favor de respostas mais adaptativas. Se a resposta natural do organismo a situações de emergência inclui uma redução na sensibilidade a impulsos nociceptivos, parece plausível que esse sistema de inibição da nocicepção seja recrutado em tais situações (CARVALHO, 2007). Além disso, são frequentes os relatos de soldados feridos em batalha ou de atletas contundidos em competições que experimentaram intensa antinocicepção. É possível que o estresse induza antinocicepção somente em situações extremas ou nas que representam alguma ameaça à vida.

A antinocicepção induzida pelo medo tem sido considerada como parte integrante da reação de defesa dos animais. Sem a existência de um sistema de inibição dos impulsos nociceptivos, os animais, se levados ao confronto com um predador, poderiam apresentar comportamentos recuperativos induzidos pelo sofrimento, em vez de apresentarem postura defensiva induzida pelo medo, manifestando, assim, sua vulnerabilidade a futuras injúrias e sujeição à morte (FANSELOW; BOLLES; 1979).

Estudos realizados com o NPtA têm mostrado a importância da participação desse núcleo no processamento de estímulos dolorosos (ROBERTS; REES, 1986; REES; ROBERTS, 1987; FOSTER e cols., 1989; BRANDÃO e cols., 1991; MAMEDE-ROSA; PRADO, 1997; VILLARREAL e cols., 2004). Em trabalho conduzido por Roberts e Rees (1986), a estimulação elétrica do NPtA produziu um aumento de longa duração no índice de analgesia determinado pelo TRC. Esta antinocicepção foi mais intensa e prolongada do que aquela provocada pela estimulação elétrica da SCP. Prado e Faganello (2000) realizaram experimentos onde a microinjeção de lidocaína no NPtA 10 minutos antes da estimulação do núcleo dorsal da rafe (NDR) reduziu a antinocicepção induzida pela estimulação desse núcleo medida pelo TRC. Com base nisso, esses autores propuseram o NPtA como uma estação intermediária dos impulsos nociceptivos provenientes do NDR. Mamede-Rosa e cols. (1998), discutiram a possibilidade do NPtA não possuir uma atividade tônica no processamento de estímulos nocivos brandos, já que seu bloqueio neural não altera os limiares para a retirada de cauda em resposta a estímulos térmicos nocivos. Por outro lado, lesões bilaterais do NPtA em ratos aumentaram a atividade autonômica desencadeada pela secção da raiz dorsal da medula espinhal, indicando que esse núcleo possa ser ativado tonicamente para o controle da dor persistente (REES e cols., 1995). Villarreal e cols. (2003) verificaram no teste de alodinia mecânica por incisão na pata traseira de ratos e no teste de hiperalgisia induzida por aplicação intraplantar de carragenina na pata traseira de ratos que houve uma redução significativa no limiar nociceptivo quando a atividade neural do lado contralateral do NPtA foi bloqueada por administração prévia de lidocaína.

Em estudo realizado por Brandão e cols. (1991), levantou-se a hipótese da participação do NPtA não somente nos processos relativos à nocicepção, mas também no desencadeamento de reações defensivas. Nesse trabalho, a estimulação elétrica da porção dorsal do NPtA aumentou a latência de esquiva no teste de esquiva ativa, enquanto que a

estimulação do NPtA na sua porção ventral diminuiu esse índice. Além disso, os autores mostraram que a estimulação do NPtA reduziu o comportamento de fuga evocado por estimulação do hipotálamo medial, além de exercer efeitos inibitórios em respostas autonômicas de ratos anestesiados que tiveram o hipotálamo medial estimulado, mostrando, dessa maneira, uma possível participação do NPtA na modulação de estímulos aversivos.

Baseado nos trabalhos já realizados com o NPtA, nosso estudo averiguou a participação desse núcleo em um possível mecanismo de antinocicepção induzida por medo. O tratamento agudo com semicarbazida no NPtAv rostral de ratos diminuiu o índice de analgesia no TRC, enquanto que a microinjeção de muscimol no NPtAv caudal provocou um aumento nesse índice. Essas mesmas drogas não alteraram a percepção da dor quando microinjetadas nas porções rostral e caudal do NPtAd.

Quando os animais foram submetidos ao teste do LCE, a microinjeção de muscimol, um agonista GABA_A, no NPtAv rostral de ratos diminuiu o número de entradas nos braços abertos, enquanto que a microinjeção de semicarbazida no NPtAv caudal aumentou o número de entradas nos braços fechados. Agrupando os dados das duas regiões, verificamos que o tratamento com muscimol diminuiu o número de entradas nos braços abertos e o tratamento com semicarbazida aumentou o número de esticamentos. Nas porções rostral e caudal do NPtA dorsal não foram encontradas diferenças significativas nos comportamentos clássicos do LCE. Nossos resultados contrastam com os apresentados por Prado e Roberts (1985), que não observaram reações defensivas com a estimulação do NPtA. Estes resultados conflitantes podem ser devidos ao teste aplicado para medir a aversão provocada pela estimulação do NPtA, já que no trabalho publicado por esses autores, o teste utilizado baseou-se em uma análise visual do animal, que era gentilmente segurado com mãos enluvadas, durante a estimulação elétrica da estrutura e que assim permaneceriam por mais 30 segundos após o término da estimulação. Uma escala de quatro pontos era aplicada, onde: nenhuma reação

detectável = 0; respostas detectáveis não claramente aversivas como movimentação das vibrissas, movimentação dos olhos e leve torção do corpo = 1; reações de fuga ou luta = 2 e; forte tentativa de luta, vocalização, convulsão ou parada respiratória = 3. Uma outra causa para os resultados discrepantes mencionados anteriormente pode ser atribuída ao fato de que determinados comportamentos de defesa, como por exemplo, congelamento, não são contemplados nos pontos apresentados nessa escala. Portanto, nossos resultados apontam para uma possível participação do NPtA ventral na modulação de comportamentos aversivos.

De particular interesse foi a descoberta em nosso trabalho que a simples exposição dos animais ao LCE produz uma antinocicepção de pequena magnitude. De fato, isso é o que se observa com a microinjeção de salina no NPtA dorsal (tanto da região rostral quanto da região caudal). Esses dados corroboram estudos anteriores realizados nesse laboratório, onde a exposição de animais intactos ao LCE aumentou, embora de maneira branda, o IA no TRC (ALBRECHET-SOUZA, 2005). Por outro lado, já está bem consolidado que o confinamento de roedores em braços abertos do LCE promove antinocicepção significativa (RODGERS e cols., 1992; NUNES-DE-SOUZA e cols., 2000; MENDES-GOMES, NUNES-DE-SOUZA, 2005).

Nosso trabalho aponta para uma dissociação dos substratos neuroanatômicos na modulação da antinocicepção e na modulação de comportamentos defensivos. Os resultados obtidos indicam a participação da porção ventral do NPtA na regulação desses comportamentos, mas a porção dorsal está envolvida somente na antinocicepção. Uma diferenciação morfológica do NPtA foi descrita por Foster e cols. (1989) e confirmada por Terenzi e cols. (1995). Segundo os autores, a porção dorsal do NPtA contém uma população densa e compacta de neurônios, em contraste com a porção ventral, que é composta principalmente de uma densa rede de fibras, dando a essa região uma aparência reticular. Essas divisões do NPtA também são conhecidas como *pars compacta* e *pars reticulata*,

respectivamente. Apoiando essa hipótese, o trabalho realizado por Brandão e cols. (1991) aponta uma possível diferenciação funcional entre as porções dorsal e ventral do NPtA, na medida em que a estimulação elétrica do NPtAd aumentou o tempo de latência de esquiva, enquanto que a porção ventral reduziu essa latência. Em estudo conduzido por Villarreal e cols. (2004), a microinjeção de lidocaína 2% no NPtA ventral aumentou a dor incisional, mas não produziu alterações quando injetada no NPtA dorsal.

Na literatura existem diversos trabalhos relatando a participação de uma mesma estrutura em respostas comportamentais diferentes. Uma revisão sobre a participação da SCP na organização de respostas comportamentais em diferentes tipos de distúrbios de ansiedade foi realizada por Brandão e cols. (2008). Estudos mostraram que a estimulação da SCP produz estados de congelamento, com uma organização anatômica diferenciada dependendo do tipo de ameaça. Quando está envolvida a organização de respostas de medo condicionado, a resposta passiva de congelamento é elaborada pela parte ventral da SCP. Por outro lado, quando o animal é submetido a procedimentos de medo incondicionado, a porção dorsal da SCP é a principal responsável pela organização dessa resposta (VIANNA e cols., 2001). Cunha e cols. (2010) verificaram a modulação GABAérgica da antinocicepção induzida pelo medo nas porções ventral e dorsal da SCP através do uso do teste do campo aberto seguido do TRC. Estes autores notaram que as reações de defesa eliciadas pela estimulação da SCPv são muito mais brandas do que aquelas evocadas pela estimulação da SCPd. No teste nociceptivo, tanto a região ventral quanto a região dorsal foram efetivas em produzir antinocicepção.

Estruturas do teto mesencefálico, como a substância cinzenta periaqueductal dorsal, colículo superior e colículo inferior (CI), exercem uma regulação GABAérgica tônica em substratos neurais envolvidos na geração e expressão de reações defensivas (BRANDÃO, 2005). Uma hipótese da participação do NPtA ventral na regulação de respostas defensivas e na antinocicepção é o possível envolvimento desse núcleo em uma rede neuronal

GABAérgica que se projeta em estruturas do teto mesencefálico, com a finalidade de mantê-la constantemente sob inibição. A participação de outras estruturas agindo em uma regulação inibitória semelhante no teto mesencefálico é encontrada na literatura. Evidências da atuação da substância nigra *pars reticulata* (SNpr) inibindo a expressão das reações defensivas pela estimulação elétrica do teto mesencefálico foram encontradas por Nobre e cols. (2003). Nesse estudo, foi observado que a ativação de receptores GABA_A, através da injeção intra-SNpr de muscimol, inibe fibras GABAérgicas da SNpr que se projetam aos substratos neurais da aversão no teto mesencefálico facilitando o aparecimento de reações defensivas. Reimer e cols. (2008) propuseram uma regulação GABAérgica do teto mesencefálico similar envolvendo o CI. Os autores mostraram que a injeção local de muscimol no CI aumentou a resposta de sobressalto ao som em animais não condicionados, embora não tenha causado modificações nos comportamentos de congelamento e sobressalto potencializado pelo medo. Por outro lado, os autores verificaram que a injeção local de muscimol na SCPd alterou os comportamentos de congelamento e sobressalto potencializado pelo medo, mantendo o sobressalto ao som inalterado. Nosso estudo reforça a hipótese da existência de uma rede neuronal, da qual faz parte o NPtAv, regulando a inibição GABAérgica tônica de estruturas do teto mesencefálico envolvidas na regulação de estados aversivos (Figura 17).

Embora os dados apontem para uma modulação GABAérgica na região ventral do NPtA, não encontramos fortes evidências dessa regulação na porção dorsal desse núcleo. Esse dado fortalece a preposição da dissociação funcional das regiões dorsal e ventral do NPtA descrita anteriormente. Além disso, não existem trabalhos na literatura descrevendo uma modulação GABAérgica do NPtA regulando comportamentos defensivos. Estudos sobre a farmacologia do NPtA apontam para uma variedade de neurotransmissores atuando nos mecanismos de regulação da dor nessa estrutura. Villarreal e cols. (2004; 2007) mostraram o envolvimento de mecanismos opióides, muscarínicos, colinérgicos e serotoninérgicos no

NPtAv para o processamento de saídas e/ou ativação das vias descendentes do controle da dor. Esses autores também mostraram que a microinjeção de baclofen, um agonista GABA_B e bicuculina, um antagonista GABA_A, aumentaram a alodinia causada por incisão cirúrgica na pata traseira de ratos, enquanto que o antagonista GABA_B faclofen reduziu essa alodinia.

Em resumo, o presente trabalho contribui para o melhor esclarecimento do envolvimento do NPtA no processamento de estímulos aversivos provavelmente através da inibição de estruturas do teto mesencefálico, bem como para o entendimento de mecanismos antinociceptivos desencadeados pelo medo. Além disso, nosso estudo reforça a já relatada diferenciação funcional das regiões dorsal e ventral do NPtA.

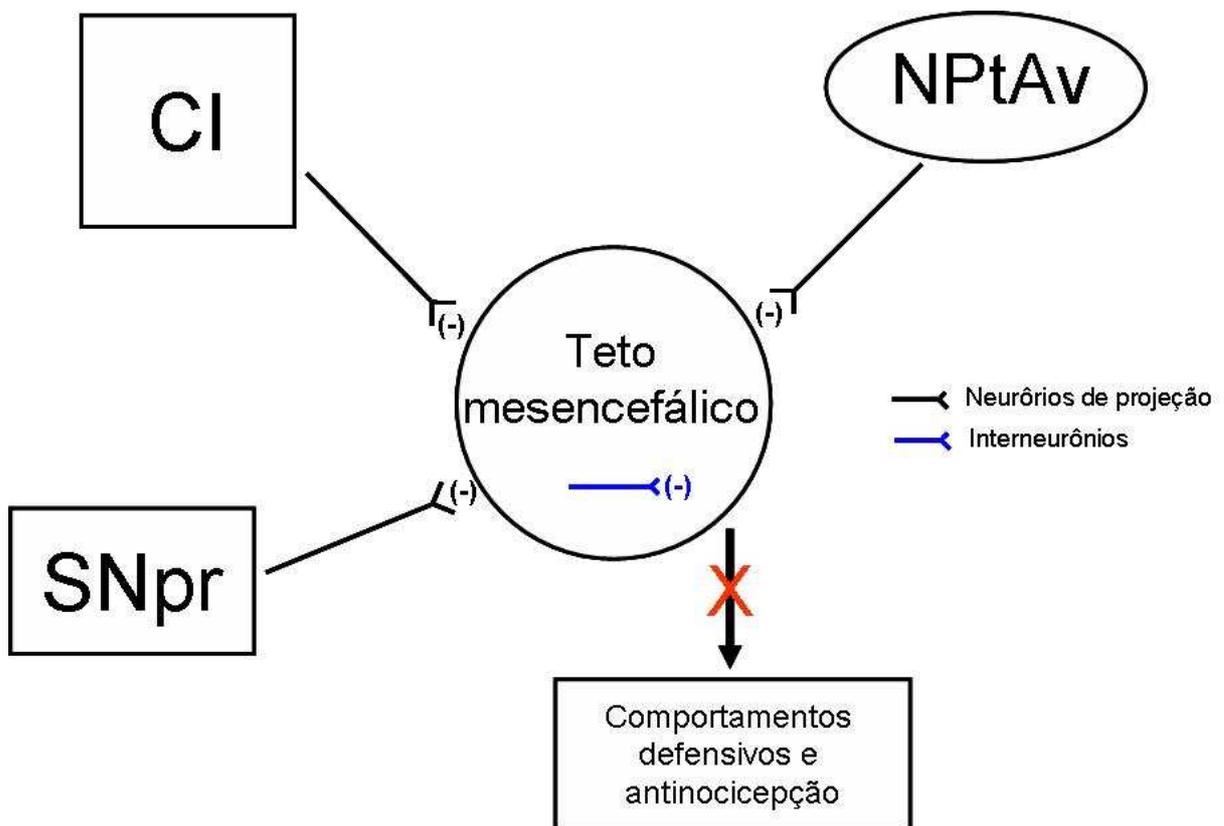


Figura 17: Diagrama ilustrativo de possível regulação GABAérgica do medo e da antinocicepção em estruturas do teto mesencefálico. O esquema mostra neurônios de projeção provenientes do colículo inferior (CI), substância nigra *pars reticulata* (SNpr), núcleo pré-tectal anterior ventral (NPtAv) e interneurônios do teto mesencefálico regulando comportamentos defensivos induzidos por estimulação de estruturas do teto mesencefálico.

CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

1. A estimulação mecânica do NPtA produz antinocicepção corroborando relatos publicados anteriormente na literatura;
2. A antinocicepção está associada principalmente à parte ventral do NPtA. A subdivisão rostral/caudal parece não influenciar esta antinocicepção;
3. Mecanismos GABAérgicos regulam a antinocicepção induzida pela estimulação de NPtA. Provavelmente, a parte ventral do NPtA possui substratos neurais associados ao medo pois o agonista GABAérgico muscimol promoveu claros efeitos aversivos quando injetados localmente nesta área;
4. Mecanismos GABAérgicos do NPtA ventral parecem ter uma influência inibitória sobre os substratos neurais da aversão em áreas que são ativadas por estímulos aversivos como a altura e espaços abertos do LCE.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AAS, H.E.; BRODAL, P. GABA and glycine as putative transmitters in subcortical pathways to the pontine nuclei. A combined immunocytochemical and retrograde tracing study in the cat with some observations in the rat. **Neuroscience**, v. 34, p. 149-162, 1990.

AKIL, H.; MADDEN, J.; PATRICK, R.L.; BARCHAS, J.D. Stress-induced increase in endogenous opiate peptides: concurrent analgesia and its partial reversal by naloxone. In: H.W. KOSTERLITZ (Ed.), **Opiate and Endogenous Opiate Peptides**. Amsterdam: Elsevier, 1976. p. 63-70.

ALBRECHET-SOUZA, L.; OLIVEIRA, A.R.; DE LUCA, M.C; TOMAZINI, F.M.; SANTOS, N.R.; BRANDÃO, M.L. A comparative study with two types of elevated plus-maze (transparent vs. opaque walls) on the anxiolytic effects of midazolam, one-trial tolerance and fear-induced analgesia. **Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry**. v. 29(4), p. 571-579, 2005.

ANDERSEN, E.; DAFNY, N. An ascending serotonergic pain modulation pathway from the dorsal raphe nucleus to the parafascicularis nucleus of the thalamus. **Brain Research**. V. 269(1), p. 57-67, 1983.

ANSELONI, V.C.Z.; BRANDÃO, M. L. Ethopharmacological analysis of behaviour of rats using variations of the elevated plus-maze. **Behavioural Pharmacology**. V. 8, p.533-540, 1997.

ANSELONI, V.C.Z.; MOTTA, V., BRANDÃO, M. L. Behavioral and pharmacological validation of the elevated plus-maze with clear walls. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research.** v.28: p.597-601, 1995.

ANSELONI, V.C.Z.; COIMBRA, N.C.; MORATO, S.; BRANDÃO, M. L. A comparative study of the effects of morphine in the dorsal periaqueductal gray and nucleus accumbens of rats submitted to the elevated plus-maze test. **Experimental Brain Research.** v.129, p.260-268, 1999.

ASHWELL, K. W. S.; PAXINOS, G. The pretecal nuclei in two monotremes: the short-beaked echidna (*Tachyglossus aculeatus*) and the platypus (*Ornithorhynchus anatinus*). **Brain Structure & Function.** v.212, p.359-369, 2007.

BANDLER, R.; FLOYD, N.; KEAY, K.A.; PRICE, J.L. Central circuits mediating patterned autonomic activity during active vs. passive emotional coping. **Brain Research Bulletin.**, v. 53(1), p. 95-104, 2000.

BARLOW, D.H., CHORPITA, B.F., TUROVSKY, J. Review: Fear, panic, anxiety, and disorders of emotion. **Nebraska Symposium on Motivation.** v. 43, p. 251-328, 1996.

BASBAUM, A.I., FIELDS, H.L. Endogenous pain control systems: brainstem spinal pathways and endorphin circuitry. **Annual review Neuroscience,** v.7, p. 309-338, 1984.

BESSON, J.M.; CHAOUCH, A. Peripheral and spinal mechanisms of nociception. **Physiological Research**. 67(1), p. 67-86, 1987

BOLLES, R.C; FANSELOW, M.S. A perceptual-defensive-recuperative model of fear and pain. **The Behavioural and Brain Sciences**. v. 3, p. 291-301, 1980.

BOORMANN, J. The “ABC” of GABA receptors. **Trends in pharmacological Sciences**. v.21, p. 16-19, 2000.

BORELLI, K. G., FERREIRA-NETTO, C., BRANDÃO, M. L. Distribution of Fos immunoreactivity in the rat brain after freezing or escape elicited by inhibition of glutamic acid decarboxylase or antagonism of GABA-A receptors in the inferior colliculus. **Behavioural Brain Research**. v.170(1), p.84-93, 2006.

BOWERY, N.G.; SMART, T.H. GABA and glycine as neurotransmitters: a brief history. **British Journal of Pharmacology**. v. 147, p. 109-119, 2006.

BRANDÃO, M.L., DI SCALA, G., BOUCHET, M.J., & SCHMITT, P. Escape behavior produced by the blockade of glutamic acid decarboxilase (GAD) in mesencephalic central gray or medial hypothalamus. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**. v.24, p.497-502, 1986.

BRANDÃO, M.L.; TOMAZ, C.; COIMBRA, N.C., BAGRI, A. Defensive reaction induced by microinjection of bicuculline into the inferior colliculus. **Physiology & Behavior**, v. 44, 316-365, 1988.

BRANDÃO, M. L.; REES, H.; WITT, S.; ROBERTS, M. H. T. Central antiaversive and antinociceptive effects of anterior pretectal nucleus stimulation: attenuation of autonomic and aversive effects of medial hypothalamic stimulation. **Brain Research**. v.542, p.266-272, 1991.

BRANDÃO, M.L.; CARDOSO, S.H.; MELO, L.L.; MOTTA, V.; COIMBRA, N.C. Neural substrate of defensive behavior in the midbrain tectum. **Neuroscience Biobehavioral Reviews**. v. 18, 339-346, 1994.

BRANDÃO, M.L., ANSELONI, V.Z.; PANDOSSIO, J.E; DE ARAUJO, J.E.; CASTILHO, V.M. Neurochemical mechanisms of the defensive behavior in the dorsal midbrain. **Neuroscience Biobehavioural Reviews**, v. 23(6), 863-875, 1999.

BRANDÃO, M.L. **Psicofisiologia**. As bases fisiológicas do comportamento. São Paulo: Editora Atheneu, 2001.

BRANDÃO, M. L.; VIANNA, D. M.; MASSON, S.; SANTOS, J. Organização neural de diferentes tipos de medo e suas implicações na ansiedade. **Revista Brasileira de Psiquiatria**. v.25 (2), p.36-41, 2003.

BRANDÃO, M.L.; GRAEFF, F.G. **Neurobiology of Mental Disorders**. New York: Editora Nova Biomedical, 2006.

BRANDÃO, M.L.; ZANOVELI, J. M; RUIZ-MARTINEZ, R. C.; OLIVEIRA, L.C.; LANDEIRA-FERNANDEZ, J. Different patterns of freezing behavior organized in the periaqueductal gray of rats: Association with different types of anxiety. **Behavioural Brain Research**. v. 188, p. 1-13, 2008.

CARVALHO, A. D. Estudo neuroanatômico funcional e neurofarmacológico do envolvimento do núcleo pré-tectal anterior em processos antinociceptivos. 2007. **(Tese Doutorado – Ciências)** - Faculdade de medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2007.

CHESHER, G.B.; CHAN, B. Footshock induced analgesia in mice: its reversal by naloxone and cross tolerance with morphine. **Life Sciences** v. 21, p. 1569-1574, 1977.

CLARK, F.M.; PROUDFIT, H.K. Projections of neurons in the ventromedial medulla to pontine catecholamine cell groups involved in the modulation of nociception. **Brain Research**. v. 540, p. 105-115, 1991.

COIMBRA, N.C.; TOMAZ, C.; BRANDÃO, M.L. Evidence for the involvement of serotonin in the antinociception induced by electrical or chemical stimulation of the mesencephalic tectum. **Behavioural Brain Research**. v. 50, p. 77-83, 1992.

COIMBRA, N.C.; BRANDÃO, M.L. GABAergic nigro-collicular pathways modulate the defensive behaviour elicited by midbrain tectum stimulation. **Behavioural Brain Research**. v. 59, p. 131-139, 1993.

COIMBRA, N. C.; DE OLIVEIRA, R.; FREITAS, R.L.; RIBEIRO, S. J.; BORELLI, K. G.; PACAGNELLA, R. C.; MOREIRA, J. E.; DA SILVA, L. A.; MELO, L. L.; LUNARDI, L. O.; BRANDÃO, M. L. Neuroanatomical approaches of the tectum-reticular pathways and immunohistochemical evidence for serotonin-positive perikarya on neuronal substrates of the superior colliculus and periaqueductal gray matter involved in the elaboration of the defensive behavior and fear-induced analgesia. **Experimental Neurology**. v.197, p. 93-112, 2006.

COOPER, J.R; BLOOM, F.E.; ROTH, R.H. Aminoacid transmitters. In: **The Biochemical Basis of Neuropharmacology**. 8ª edição. New York: Oxford University Press, p. 105-150, 2003.

CRUZ-MORALES, S. E., SANTOS, N. R., BRANDÃO, M. L. One-trial tolerance to midazolam is due to enhancement of fear and reduction of anxiolytic-sensitive behaviors in the elevated plus-maze retest in the rat. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**. v. 72, p. 973-978, 2002.

CUNHA, J.M.; ZANOVELI, J.M., LEDVINKA-FILHO, E.; BRANDÃO, M.L. L-Allyglycine dissociates the neural substrates of fear in the periaqueductal gray of rats. **Brain Research Bulletin**. v. 81; p. 416-423, 2010.

DROSTE, C.; GREENLEEVE, M.W.; SCHREK, M.; ROSKAMM, H. Experimental pain thresholds and plasma beta-endorphin levels during exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise**. v. 23, p. 334-342, 1991.

ESPEJO, E.F. Effects of weekly or daily exposure to the elevated plus-maze in male mice. **Behavioural Brain Research**. v. 87, p. 233-238, 1997.

FANSELOW, M.S.; BOLLES, R.C. Naloxone and shock-elicited freezing in the rat. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**. v. 93(4), p. 736-744, 1979.

FANSELOW, M.S.; SIGMUNDI, R.A. Species-specific danger signals, endogenous opioid analgesia and defensive behavior. **Journal of Experimental Psychology. Animal Behavior Processes**. v. 12, p. 9301-9309, 1986.

FANSELOW, M.S.; CALCAGNETTI, D.J.; HELMSTETTER, F.J. Peripheral versus intracerebroventricular administration of quaternary naltrexone and the enhancement of Pavlovian conditioning. **Brain Research**. v. 444, p. 147-152, 1988.

FIELDS, H.L; BESSON, J.M. **Pain Modulation**. Progress in brain research. Amsterdam: Editora Elsevier, v. 77, 1988.

FOO, H.; WESTBROOK, R.F. Naloxone-induced hypoalgesia: effects of noradrenergic antagonists and agonist. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**. v. 39, p. 795-797, 1990.

FOSTER, G. A.; SIZER, A. R.; REES, H. ROBERTS, M. H. T. Afferent projections to the rostral anterior pretectal nucleus of the rat: a possible role in the processing of noxious stimuli. **Neuroscience**. v. 29(3), p.685-694, 1989.

GIRADOT, M.N.; HOLLOWAY, F.A. Intermittent cold water stress-analgesia in rats: crosstolerance to morphine. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**. v. 20, p. 631-633, 1984.

GRAEFF, F.G. **Drogas psicotrópicas e seu modo de ação**. E.P.U: São Paulo. 1990.

GRAEFF, F.G. Ansiedade. In: GRAEFF, F.G.; BRANDÃO, M.L. **Neurobiologia das doenças mentais**. 5ª edição. Lemos editorial e Gráfica Ltda: São Paulo, p. 109-144, 1999.

HANDLEY, S. L.; MITHANI, S. Effects of alphaadrenoceptor agonists in a maze-exploration model of “fear” – motivated behavior. **Nauny-Schmiedeberg’s Archiver of Pharmacology**. v.327, p.1-3, 1984.

HETEM, L.A.B.; VIANA, M.B.; GUIMARÃES, F.S.; GRAEFF, F.G. Papel dual da serotonina na ansiedade. **Revista ABP APAL**. v.18, p. 59-76, 1996.

JOHNSTON, G.A.R; CURTIS, D.R; BEART, P.M.; GAME, C.J.A; McCULLOGH, R.M.; TWITCHIN, B. Cis and trans-4 aminocrotonic acid as GABA agonist of restrict conformation. **Jounal of Neurochemistry**. v. 24, p. 157-160, 1975.

KIEFEL, J.M; COOPER, M.L; BODNAR, R.J. Serotonin receptor subtype antagonists in the medial ventral medulla inhibit mesencephalic opiate analgesia. **Brain Research**. v. 579, p. 331-338, 1992.

KING, T.E., JOYNES, R.L., MEAGHER, M.W., GRAU, J.W. Impact of shock on pain reactivity: Evidence for enhanced pain. **Journal of Experimental Psychology. Animal Behavior Processes**. v. 22(3), p. 265-278, 1996.

LAPO, I.B.; KONARZEWSKI, M.; SADOWSKI, B. Effect of cold acclimation and repeated swimming on opioid and nonopioid swim stress-induced analgesia in selectively bred mice. **Physiology & Behavior**. v. 78, p. 345-350, 2003.

LESTER, L.S.; FANSELOW, M.S. Exposure to act produces opioid analgesia in rats. **Behavioural Neuroscience**. v. 99(4), p. 756-759, 1985.

LIGHT, A.R. **The initial processing of pain and its descending control: spinal and trigeminal systems**. Basel: Harger, 1992.

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 Research**. v. 757, p. 133-138, 1997.

MAMEDE-ROSA, M.L.; OLIVEIRA, M.A.; VALENTE, R.B.; COIMBRA, N.C.; PRADO, W.A. Pharmacological and neuroanatomical evidence for the involvement of the anterior pretectal nucleus in the antinociception induced by stimulation of the dorsal raphe nucleus in rats. **Pain**. v.74(2-3), p.171-179, 1998.

MELZACK, R.; WALL, P.D.; TY, T.C. Acute pain an emergency clinic: latency of onset and descriptor patterns related to different injuries. **Pain**, v. 14, p. 33-43, 1982.

MENDES-GOMES, J.; NUNES-DE-SOUZA, R. Concurrent nociceptive stimulation impairs the anxiolytic effect of midazolam injected into the periaqueductal gray in mice. **Brain Research.** v. 1047, p. 97-104, 2005.

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

MONTGOMERY, K.C. The relation between fear induced by novelty stimulation and exploratory behaviour. **Journal of Comparative and Physiological Psychology.** v. 48, p. 254-260, 1955.

MOTTA, P.G.; VEIGA, A.P.C.; FRANCISCHI, J.N.; TATSUO, M.A.K.F. Evidence for participation of GABA_A receptors in a rat model of secondary hyperalgesia. **European Journal of Pharmacology,** v. 483, p. 233-239, 2004.

NOBRE, M.J.; LOPES, M.G.; BRANDÃO, M.L. Defense reaction mediated by NMDA mechanisms in the inferior colliculus is modulated by GABAergic nigro-collicular pathways. **Brain Research.** v. 999, p. 124-131, 2004.

NUNES-DE-SOUZA, R.L.; CANTO-DE-SOUZA, A.; DA-COSTA, M.; FORNARI, R.V.; GRAEFF, F.G.; PELA, I.R. Anxiety-induced antinociception in mice: effects of systemic and intra-amygdala administration of 8-OH-DPAT and midazolam. **Psychopharmacology.** v. 150, p. 300-310, 2000.

OLIVEIRAS, J.L.; GUILBAUD, G.; BESSON, J.M. A map of serotonergic structures involved in stimulation producing analgesia in unrestrained freely moving cats. **Brain Research**. v. 164, p. 317-322, 1979

PAXINOS, G.; WATSON, G. **The rat brain in stereotaxic coordinates**. New York: Academic Press, 2007.

PELLOW, S., CHOPIN, P., FILE, S. E., BRILEY, M. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**. v.14, p. 149-167, 1985.

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

PRADO, W.A. Antinociceptive effect of agonists microinjected into the anterior pretectal nucleus in rats. **Pain**. v.88(2), p.169-176, 2000.

PRADO, W.A. Medicamentos analgésicos de ação central. In: GRAEFF, F.G. e GUIMARÃES, F.S.; **Fundamentos de Psicofarmacologia**, Editora Atheneu: São Paulo, 2000.

PRADO, W.A.; FAGANELLO, F.A. The anterior pretectal nucleus participates as a relay station in the glutamate-, but not morphine-induced antinociception from the dorsal raphe nucleus in rats. **Pain**. v. 88, p. 169-176, 2000.

QUINTERO, L.; MORENO, M.; ÁVILA, C.; ARCAYA, J.; MAIXNER, W.; SUAREZ-ROCA, H. Longlasting delayed hyperalgesia after subchronic swim stress. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**. v. 67, p. 449-458, 2000.

REES, H.; ROBERTS, M.H.T. Anterior pretectal stimulation alters the response of spinal dorsal horn neurons to cutaneous stimulation in the rat. **The Journal of Physiology**. v. 385, p. 415-436, 1987.

REES, H.; PRADO, W. A.; RAWLINGS, S.; ROBERTS, M. H. T. The effects of intraperitoneal administration of antagonists and development of morphine tolerance on the antinociception induced by stimulating the anterior pretectal nucleus of the rat. **British Journal of Pharmacology**. v. 92, p.769-779, 1987.

REES, H.; ROBERTS, M. H. T. Antinociceptive effects of dorsal column stimulation in the rat: involvement of the anterior pretectal nucleus. **Journal of Physiology**. v. 417, p.375-388, 1989.

REES, H.; TERENCE, M.G.; ROBERTS, M.H.T. Anterior pretectal nucleus facilitation of superficial dorsal horn neurones and modulation of deafferentation pain in the rat. **Journal of Physiology**. v. 489, p. 159-169, 1995.

REIMER, A. E., OLIVEIRA, A.R., BRANDÃO, M. L. Selective involvement of GABAergic mechanisms of the dorsal periaqueductal gray and inferior colliculus on the memory of the contextual fear as assessed by the fear potentiated startle test. **Brain Research Bulletin**. v. 76(5), p.545-550, 2008.

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

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

RODGERS, R.J.; LEE, C.; SHEPHERD, J.K. Effects of diazepam on behavioural and antinociceptive responses to the elevated plus-maze in male mice depend upon treatment regimen and prior maze experience. **Psychopharmacology**. v.106, p. 102-110, 1992.

RODGERS, R.J.; COLE, J.C. The elevated plus-maze: pharmacology, methodology and ethology. In: COOPER, S.J.; HENDRIE, C.A. **Ethology and Psychopharmacology**. Wiley: New York, p. 9-44, 1994.

SCHMITT, P.; DI SCALA, G.; BRANDÃO, M.L.; KARLI, P. Behavioral effects of microinjections of SR 95103, a new GABA_A antagonist, into the medial hypothalamus on the mesencephalic central gray. **European Journal of Pharmacology**, v. 117(2), p. 149-158, 1985.

TEIXEIRA, M.J. Fisiopatologia da dor neuropática, In: ANDRADE-FILHO, A.C.C. **Dor: diagnóstico e tratamento**. Rocca: São Paulo, p. 7-42, 2001.

TERMAN, G.W.; MORGAN, M.J.; LIEBESKIND, J.C. Opioid and nonopioid stress analgesia from cold water swim: importance of stress severity. **Brain Research**. v. 372, p. 167-171, 1986.

TORRES, I.L.S.; CUCCO, S.N.S.; BASSANI, M.; DUARTE, M.S.; SILVEIRA, P.P.; VASCONCELLOS, A.P.; TABAJARA, A.S.; DANTAS, G.; FONTELLA, F.U.; DALMAZ, C.; FERREIRA, M.B.C. Long-lasting delayed hyperalgesia after chronic restraint stress in rats- effect of morphine administration. **Neuroscience Research**. v. 45, p. 277-283, 2003.

VIANNA, D.M., LANDEIRA-FERNANDEZ, J., BRANDÃO, M. L. Dorsolateral and ventral regions of the periaqueductal gray matter are involved in distinct types of fear. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**. v.25(7-8), p.711-719, 2001.

VIDAL, C.; JACOB, J.J.C. Stress hyperalgesia in rats: an experimental animal model of anxiogenic hyperalgesia in humans. **Life Sciences**. v. 31, p. 1241-1244, 1982.

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, p. 163-174, 2003.

VILLARREAL, C. F.; KINA, V. A. V.; PRADO, W. A. Antinociception induced by stimulating the anterior pretectal nucleus in two models of pain in rats. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**. v.31, p. 608-613, 2004.

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

WANG, X.M.; YUAN, B.; HOU, Z.C. Role of the deep mesencephalic nucleus in the antinociception induced by stimulation of the anterior pretectal nucleus in rats. **Brain Research**. v. 577, p. 321-325, 1992.

WANG, Q.P.; NAKAI, Y. The dorsal raphe: An important nucleus in pain modulation. **Brain Research Bulletin**. v. 34(6), p. 575-585, 1994.

WIEDENMAYER, C.P.; BARR, G.A. Mu opioid receptors in the ventrolateral periaqueductal gray mediate stress-induced analgesia. **Behavioural Neuroscience**. v. 114, p. 125-136, 2000.

WILLER, J.C; ERNST, M. Diazepam reduces stress-induced analgesia in humans. **Brain Research**. v. 362(2), p. 398-402, 1986.

WILLIS, W.D. **The pain system**. Basel: Karger, 1985.

YAKSH, T.L. Central pharmacology of nociceptive transmission. In: WALL, B.D.; MELZACK, R.P. **Textbook of Pain**. Eds. Churchill Livingstone: London, p. 253-291, 1999.

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](#)