

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

Laboratório de Neuroanatomia e Neuropsicobiologia

Efeito da Neurotransmissão Noradrenérgica no *Locus Coeruleus* na Antinocicepção Pós-ictal

Tatiana Tocchini Felippotti

Tese apresentada ao Departamento de Neurociências e Ciências do Comportamento da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (USP), como requisito para a obtenção do grau de Doutor em Ciências. Área de Concentração: Neurologia. Opção: Neurociências.

Orientador: Prof. Dr. Norberto Cysne Coimbra

Ribeirão Preto – SP

2010

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

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

Felippotti, Tatiana Tocchini

Efeito da Neurotransmissão Noradrenérgica no *Locus Coeruleus* na Antinocicepção Pós-ictal

96p.: Il: 30 cm

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Área de concentração: Neurologia. Opção: Neurociências.

Orientador: Prof. Dr. Norberto Cysne Coimbra

1. Analgesia; **2.** *locus coeruleus*.; **3.** PTZ; **4.** GABA; **5.** receptores α_2 -noradrenérgicos; **6.** receptores β -noradrenérgicos; **7.** norepinefrina; **8.** dor; **9.** crises convulsivas.

FOLHA DE APROVAÇÃO

TATIANA TOCCHINI FELIPPOTTI

Efeito da Neurotransmissão Noradrenérgica no *Locus Coeruleus* na Antinocicepção Pós-ictal

Tese apresentada ao Departamento de Neurociências e Ciências do Comportamento da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Ciências.
Área de concentração: Neurologia. Opção: Neurociências.

Aprovada em: ____/____/____.

Banca Examinadora:

Prof(a). Dr(a). _____.
Julgamento: _____ Assinatura: _____.

Prof(a). Dr(a). _____.
Julgamento: _____ Assinatura: _____.

Prof(a). Dr(a). _____.
Julgamento: _____ Assinatura: _____.

Prof(a). Dr(a). _____.
Julgamento: _____ Assinatura: _____.

Prof(a). Dr(a). _____.
Julgamento: _____ Assinatura: _____.

Dedico à minha família.

Por ser a minha base e

Por sempre me ajudar a alcançar os meus objetivos.

Meus sinceros Agradecimentos...

...a Deus pelas oportunidades que me concedeu ao longo da vida;

...à minha família por todo o apoio que sempre recebi. Agradeço, em especial, a minha mãe por me mostrar a cada dia o que é superação e a minha irmã por me enveredar à Biologia, por dividir comigo os momentos de alegria e tristeza. Obrigada por serem as minhas grandes amigas;

...ao Bobby por me mostrar todos os dias o amor incondicional;

...ao Prof. Dr. Norberto Cysne Coimbra pela oportunidade em iniciar minha carreira científica ao seu lado e por poder tê-la ter desenvolvido sob sua orientação, amizade e confiança. Obrigada por me deixar fazer parte dessa família chamada LNN. Admiro-te, Mestre!

...aos Profs. da Banca: Guilherme de Araújo Lucas, José Geraldo Speciali, Christie Ramos de Andrade Leite Paníssi, e Wagner Ferreira dos Santos, por terem aceitado participar da banca e pelas sugestões que contribuíram para o aprimoramento deste trabalho;

...ao Prof. Dr. Jose Antonio Thomazini por me aceitar como sua estagiária do PAE (Programa de Aperfeiçoamento do Ensino);

...aos amigos do LNN: Andressa, Daoud, Maria Angélica, Andrés, Elaine, Márcia, Rithiele, André TW, Audrey, Juliana, Renato, Carlos, Ricardo, Tati Paschoalín, Luana, Daniele, Tiago, Célio, Waltão, Isaac e João Marcos, pela amizade, pelas brincadeiras e boas risadas que tornaram o ambiente mais agradável, e pelo auxílio na realização desse trabalho, cada

qual à sua maneira. Em especial, a Rithiele, cuja ajuda foi extremamente importante para a realização deste trabalho;

...ao Depto de Neurociências e Ciências do Comportamento pela contribuição na minha formação acadêmica;

...a Silvana, secretária do Depto de Neurociências e Ciências do Comportamento, pela prontidão em me atender quando necessitei de sua ajuda.

...aos técnicos do Depto de Farmacologia, Eleni e Tadeu, pelo apoio;

...às funcionárias do biotério, Inês e Eliana, pelo cuidado com os animais durante os experimentos.

...aos animais de laboratório, pelo sacrifício.

...a CAPES pelo importante apoio financeiro.

...a todos aqueles que contribuíram com a minha formação profissional, permitindo que eu leve conhecimento àqueles que anseiam por ele.

“Não há diferença fundamental entre o Homem e os animais nas suas faculdades mentais (...). Os animais, como o Homem, demonstram sentir prazer, dor, felicidade e sofrimento”.

Charles Darwin

RESUMO

Sabe-se que o período pós-ictal é seguido por antinocicepção. Muitos neurotransmissores e seus receptores estão envolvidos nas diversas formas de analgesia, como, por exemplo, peptídeos opioides endógenos, acetilcolina e monoaminas. A analgesia pós-ictal é uma das muitas formas de modelo experimental de antinocicepção em que o recrutamento de cada um desses neurotransmissores já foi descrito. Para o efeito do controle descendente da dor, é considerada a participação de estruturas supraespinais, como o núcleo dorsal da rafe (NDR), a substância cinzenta periaquedutal (SCP) e o *locus coeruleus* (LC). Sendo o LC o núcleo noradrenérgico mais importante do tronco encefálico, o objetivo desse trabalho foi estudar o envolvimento do sistema noradrenérgico no LC na organização da analgesia pós-ictal. Ioimbina, propranolol e norepinefrina foram unilateralmente microinjetados no LC de ratos (Wistar). Em seguida, por via intraperitoneal, foi administrado pentilenotetrazol (PTZ; 64mg/kg), um antagonista farmacológico não-competitivo que bloqueia o influxo de cloro mediado pelo GABA. A analgesia que segue as crises convulsivas foi antagonizada pela iombina, propranolol, e também pela microinjeção de norepinefrina no LC. As crises convulsivas, estudadas no presente trabalho, sofreram influência da administração dos fármacos intra-LC, levando a um aumento na duração das convulsões. Desta forma, podemos sugerir o envolvimento do sistema noradrenérgico do LC na modulação da analgesia pós-ictal e dos processos convulsivos tônico-clônicos.

Palavras-chave: Analgesia; *locus coeruleus*; PTZ; GABA; receptores α_2 -noradrenérgicos; receptores β -noradrenérgicos; norepinefrina; dor; crises convulsivas.

ABSTRACT

It has been considered that the post-ictal state is followed by antinociception. Many neurotransmitters and their receptors are involved in several kinds of analgesia, for example, endogenous opioid peptides, acetylcholine and monoamines. The post-ictal analgesia is an impressive kind of antinociception, in which the recruitment of many neural systems has been demonstrated. Considering the descending control of pain the integrated participation of supraspinal structures such as the dorsal raphe nucleus, the periaqueductal grey matter and the *locus coeruleus* (LC), an important noradrenergic brain stem nucleus, can modulate pain. The present work aimed to study if noradrenergic mechanisms in the LC are involved in post-ictal analgesia. Yohimbine (an α_2 -antagonist), propranolol (a β -antagonist) or norepinephrine (a non-specific noradrenergic agonist) was microinjected into the LC of Wistar rats, followed by intraperitoneal administration of pentilenetetrazole (PTZ; 64mg/kg), a pharmacological non-competitive antagonist that blocks GABA-mediated Cl^- influx. Surprisingly, the administration of all three drugs (yohimbine, propranolol and norepinephrine) into the LC resulted in a significant decrease in tonic-clonic seizure-induced antinociception, showing how complex are the LC-mediated modulation of pain during seizures. Moreover, seizures studied in the present work suffer influence by the administration of all drugs into the LC which enhance the seizure duration. Our results suggest the involvement of the LC noradrenergic system in the post-ictal analgesia and in convulsive processes.

Key-words: Analgesia; *locus coeruleus*; PTZ; GABA; α_2 -adrenoceptors; β -adrenoceptors; norepinephrine; pain; seizures.

LISTA DE ABREVIATURAS

µg: microgramas

µL: microlitros

µm: micrometros

AP: Ântero-posterior

CCA: córtex cingulado anterior

CDME: corno dorsal da medula espinal

CI: colículo inferior

cm: centrímetros

CPCS: camadas profundas do colículo superior

CPu: caudado-*putamen*

DV: dorso-ventral

EPM: erro padrão da média

FDL: funículo dorso-lateral

GABA: ácido gama-amino-butírico

h: horas

HE: hematoxilina/eosina

IA: índice de analgesia

IOB: ioimbina

IP: intraperitoneal

Kg: kilograma

LC: *locus coeruleus*

LRC: latência de retirada de cauda

ME: medula espinal

min: minutos

ML: médio-lateral

mg: miligrama

mL: mililitros

mm: milímetros

NDR: núcleo dorsal da rafe

NE: norepinefrina

NENT: núcleo espinal do nervo trigêmeo

NMDA: N-metil-D-aspartato

NMgR: núcleo magno da rafe

NPtA: núcleo pré-tectal anterior

NPtP: núcleo pré-tectal posterior

°C: graus Celsius

PPN: propranolol

PTZ: pentilenotetrazol

s: segundos

SAL: salina

SCP: substância cinzenta periaquedutal

SN: substância negra

TM: teto mesencefálico

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
1.1. Vias de transmissão da dor	14
1.2. Sistema endógeno de inibição de dor	19
1.3. O <i>Locus coeruleus</i> e o sistema noradrenérgico: implicações na analgesia	25
1.4. Crises convulsivas e analgesia	27
2. OBJETIVOS.....	31
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
3.1. Animais.....	32
3.2. Testes nociceptivos.....	32
3.3. Testes comportamentais.....	33
3.4. Procedimentos.....	35
3.4.1. Intervenções cirúrgicas.....	35
3.4.2. Estudo do efeito da modulação noradrenérgica, do LC, sobre a analgesia pós-ictal.....	36
3.5. Drogas.....	37
3.6. Histologia.....	37
3.7. Equipamentos.....	38
3.8. Análise estatística.....	39
4. RESULTADOS.....	40
4.1. Efeito da microinjeção de ioimbina no LC sobre a analgesia pós-ictal.....	42
4.2. Efeito da microinjeção de propranolol no LC sobre a analgesia pós-ictal.....	48
4.3. Efeito da microinjeção de norepinefrina no LC sobre a analgesia pós-ictal.....	55

5. DISCUSSÃO.....	61
6. CONCLUSÕES.....	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72
ANEXOS.....	94

1. INTRODUÇÃO

1.1. Vias de transmissão da dor

A dor é um sinal de alerta para o organismo que indica a ocorrência de uma alteração fisiológica deletéria, inclusive uma possível lesão celular localizada ou lesão tecidual mais abrangente. A dor é definida pela Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP) como uma “experiência sensorial e emocional desagradável associada a uma lesão tecidual real ou potencial, ou descrita nestes termos” (MERSKEY, 1991; FLÓREZ, 1993). A dor, portanto, é uma percepção subjetiva com dimensão psicológica. Por outro lado, a nocicepção constitui a percepção pelos nociceptores de estímulos que codificam sinais para fornecer informação o sistema nervoso central da existência de uma injúria tissular associada a um estímulo nocivo. A dor tem sido considerada como consistindo de dois componentes: perceptivo-discriminativo, que permite ao indivíduo reconhecer o estímulo como doloroso e localizá-lo em regiões do corpo, e o aversivo-cognitivo-motivacional ou reacional, que compreende uma variedade de comportamentos, os quais, por sua vez, envolvem fatores inatos de cada espécie, aprendizagem e memória (BRANDÃO, 1995).

Segundo NOBACK et al. (1996), “dor” seria o termo mais adequado para o homem, enquanto que “nocicepção” seria mais indicado para animais de experimentação. Não obstante, surpreendentemente, subsídios neuromorfológicos funcionais que embasam os aspectos subjetivos da dor foram primeiramente descritos em animais de laboratório (HAMMOND,

1989), o que nos sugere cautela durante qualquer tentativa em restringir os aspectos emocionais da dor exclusivamente a seres humanos.

Os neurotransmissores envolvidos nas aferências nociceptivas primárias são diversos; particularmente, a substância P (HÖKFELT et al., 1975; FURST, 1999), somatostatina, colecistoquinina, L-glutamato (JESSEL e DODD, 1986), neurocinina-A e neurocinina-B. Estes parecem ser transmissores das aferências primárias ou facilitadores da expressão de estímulos nociceptivos (FURST, 1999).

A informação dolorosa é captada por receptores sensoriais especializados, chamados nociceptores, que são sensíveis aos estímulos nocivos. Estes possuem fibras organizadas em projeções periféricas e projeções centrais, que penetram no corno dorsal da medula espinal (CDME) pela raiz dorsal do nervo espinal e no núcleo espinal do nervo trigêmeo (NENT) pelas fibras radiculares do quinto par de nervos cranianos. Pode variar quanto ao grau de mielinização e, em consequência disso, quanto à velocidade de condução dos estímulos.

Os nociceptores distribuem-se por praticamente todos os tecidos do organismo, com exceção do tecido nervoso. Estão presentes na superfície cutânea, na parede das vísceras ocas, no parênquima das vísceras sólidas, nos vasos sanguíneos, nos ossos e nas articulações, na córnea, nas raízes dentárias (MILLAN, 1999). Os nociceptores são terminações livres de neurônios pseudounipolares associados a fibras não mielinizadas (fibras C) ou mielinizadas (fibras A δ). As fibras C respondem a estímulos nocivos de origem térmica, mecânica ou química e, por isso, são chamados de polimodais. Já as fibras A δ respondem mais fortemente a estímulos nocivos térmicos e pressóricos e, com menor intensidade, a estímulos químicos (RANG et al., 1991). Tanto as fibras A δ como as fibras C são amplamente distribuídas na pele e em tecidos profundos (JESSEL e KELLY, 1991). O nível de atividade de tais fibras, envolvidas eminentemente com a transmissão de estímulos álgicos, determina a localização, intensidade,

e qualidade da dor (BASBAUM e JESSEL, 2000). As fibras A δ são responsáveis pela dor de duração rápida, aguda e lancinante, e as fibras C, pela dor de duração lenta e difusa (MILLAN, 1999; JULIUS e BASBAUM, 2001).

A atividade gerada pelo nociceptor é transferida, após processamento complexo e ativo no CDME ou no NENT, diretamente ou via núcleos do tronco encefálico, aos núcleos inespecíficos do tálamo ou ao núcleo talâmico ventral póstero-lateral ou arqueado, e então para o córtex, onde a percepção da dor é gerada. Impulsos paralelos do CDME passam para o corno ventral da ME e ativam neurônios motores reflexos, os quais geram o reflexo flexor de retirada (WOOLF, 1994).

No interior da substância cinzenta do CDME ou no NENT, a projeção aferente do neurônio primário faz sinapse com os neurônios secundários. A substância cinzenta da ME foi dividida citoarquiteticamente por Rexed em dez lâminas ou camadas (REXED, 1952; DUBNER e BENNETT, 1983; BESSON e CHAOUCH, 1987; WILLIS e COGGESHALL, 1991): Lâmina I (marginal), II (substância gelatinosa), III e IV (*nucleus proprius*) e, V e VI (lâminas profundas), que compreendem o CDME; a lâmina VII correspondente à substância cinzenta intermediária, e as lâminas VIII e IX compreendendo o corno ventral medial e lateral, respectivamente, enquanto a lâmina X consiste na região que circunda o canal central. As lâminas I e II (mais superficiais), V, VI, e a lâmina X, constituem regiões espinais predominantemente implicadas na recepção, processamento e transmissão rostral da informação nociceptiva (WILLIS e WESTLUND, 1997; MILLAN, 1999; 2002).

As lâminas I e II recebem fibras C e algumas fibras A δ . Outras fibras A δ penetram mais profundamente no CDME (lâmina V) (MILLAN, 1999), já as fibras mielinizadas grossas A α e A β são responsáveis em transmitir as informações não-nociceptivas (toque leve e pressão) (FIELDS e BASBAUM, 1978; FITZGERALD e WALL, 1980; ALBE-FESSARD et al., 1985; BESSON e CHAOUCH, 1987; BRANDÃO, 1995). Essas fibras

sensoriais de alto limiar ativam um grande número de interneurônios de segunda ordem e neurônios de projeção na ME, alguns deles ativados exclusivamente por estímulos nocivos (denominados de neurônios nociceptivos específicos ou NS – *nociceptive-specific*) e outros são ativados por estímulos de alta ou baixa intensidade (denominados de faixa dinâmica ampla ou WDR – *wide-dynamic-range*). As células presentes nas lâminas I e V dão origem às principais vias de projeção do CDME para o tálamo (MILLAN, 1999). A informação neural se projeta, então, do tálamo para as áreas sensoriais do córtex cerebral, onde as várias submodalidades da sensibilidade nociceptiva, como qualidade, intensidade, localização e o seu aspecto emocional ou afetivo são integrados na experiência da percepção (NOBACK et al., 1996). Essas fibras constituem os tratos espinotalâmicos, espinomesencefálico, espinorreticular (WILLIS, 1985), espinolímbico, espinocervical e coluna dorsal pós-sináptica (WILLIS e WESTLUND, 1997).

Das vias citadas anteriormente, a mais importante é a via espinotalâmica, que se divide filogeneticamente, em duas projeções: a via paleoespinotalâmica (mais antiga) e a via neoespinotalâmica (mais recente). O trato espinotalâmico conduz a informação nociceptiva e outras informações sensoriais da periferia para o tálamo. É constituído primariamente de axônios de células das lâminas I e V, mas também os corpos desses neurônios são encontrados nas lâminas II, IV, VI, VII, VIII e X (ZHANG et al., 2000). Fundamentado na origem e no modelo de projeções das fibras A α e C, alguns autores descreveram três formas de aferências do trato espinotalâmico. Uma é a via neoespinotalâmica monossináptica, ou trato espinotalâmico ventral, que se projeta diretamente para núcleos do complexo lateral do tálamo, envolvendo o componente sensório-discriminativo da dor. Outra é a via paleoespinotalâmica que pode ser dividida em duas: a multissináptica, ou trato espinotalâmico dorsal, que projeta para núcleos do complexo intralaminar e posterior medial do tálamo e a via espinotalâmica

monossináptica projetando-se diretamente para núcleos central e medial do tálamo, envolvidos no componente afetivo-motivacional da dor (TEIXEIRA, 1990; ZHANG et al., 1999).

Além do trato espinotalâmico, a informação nociceptiva pode ascender pelo trato espinorreticular, cujas células de origem se localizam principalmente nas lâminas V, VII e VIII, e também nas lâminas I e X (KEVETTER et al., 1982; WILLIS e WESTLUND, 1997).

Também existem projeções diretas da ME para sítios mesencefálicos. Em primatas, a maioria das células de origem do trato espinomesencefálico está localizada nas lâminas I e IV a VI. As projeções espinomesencefálicas terminam na substância cinzenta periaquedutal (SCP), núcleo cuneiforme, camadas profundas do colículo superior (CPCS), núcleos pré-tectal anterior (NPtA) e posterior (NPtP), núcleo intercolicular e núcleo rubro, entre outros (WIBERG e BLOMQVIST, 1984; WILLIS e WESTLUND, 1997). É muito importante destacar a existência do trato espinolímbico, pois projeções espino-hipotalâmicas e espinoamigdalinas diretas também já foram descritas (WILLIS e WESTLUND, 1997). As células de origem desse trato estão localizadas nas lâminas I, VII e X (para revisão, ver WILLIS e WESTLUND, 1997). Algumas projeções espinais também alcançam o núcleo *accumbens* e os núcleos septais (BURSTEIN e GIESLER, 1989). Essas conexões, diretas ou indiretas com estruturas relacionadas ao controle das emoções, sugerem que tais projeções devem estar ligadas aos aspectos motivacionais da dor.

Além disso, o trato espinocervical origina-se principalmente das lâminas III e IV e, em menor extensão, das lâminas I, II e V (MILLAN, 1999). As funções relatadas para este trato são as características autonômicas, sensório-discriminativas e afetivo-motivacionais da dor, sendo que esse trato também atua como integrador sensorial e modulador das aferências à ME.

A Tabela 1 (a seguir) mostra um resumo das vias ascendentes de

transmissão da informação de dor.

Vias de condução da informação de dor (Trato)	Projeções (Origem → Destino)
Espinotalâmico	Neoespinotalâmico: Lâminas I e V da ME → tálamo Paleoespinotalâmico: Lâmina V da ME → formação reticular → tálamo
Espinomesencefálico	Lâminas I e IV a VI da ME → SCP, núcleo cuneiforme, CPCS, NPtA e NPtP, núcleo intercolicar e núcleo rubro → tálamo
Espinorreticular	Lâminas I, V, VII, VIII e X da ME → formação reticular bulbar e pontina (sendo um dos núcleos o LC e outro o parabraquial) → tálamo
Espinolímbico	Lâminas I, VII e X da ME → núcleo <i>accumbens</i> , amígdala, hipotálamo e os núcleos septais → tálamo
Espinocervical	Lâminas III e IV (principalmente)/ I, II e V (menor extensão) da ME → núcleo cervical lateral e 1º e 2º segmentos cervicais → tálamo
Coluna dorsal pós-sináptica	Lâminas III e X da ME → lemnisco medial → tálamo

Tabela 1. Principais vias ascendentes por onde trafegam as informações de dor em sua trajetória da ME até o tálamo.

1.2. Sistema endógeno de inibição de dor

Um importante componente da resposta do organismo a situações de emergência é a redução da capacidade de perceber a dor (COIMBRA et al., 1992; MENESCAL-DE-OLIVEIRA et al., 1993; COIMBRA e BRANDÃO, 1997). Assim, a antinocicepção pode ser definida como redução na

resposta do sistema sensorial a estímulos nocivos (FANSELOW e BOLLES, 1979).

Existem mecanismos analgésicos endógenos, ou seja, um sistema de regiões neurais conectadas às vias aferentes nociceptivas que modulam ou bloqueiam completamente a passagem das informações da dor em sua trajetória em direção ao córtex cerebral. O primeiro desses mecanismos é muito simples e atua logo na entrada das vias nociceptivas na ME. As sinapses destas com os neurônios de segunda ordem estão localizadas no CDME. Esses neurônios, no entanto, recebem também sinapses inibitórias de interneurônios situados nas redondezas, os quais, por sua vez, são ativados pelas fibras A β , que veiculam as informações táteis quando chegam à ME ao mesmo tempo em que os impulsos dolorosos (cada um através de suas vias aferentes específicas), e podem inibir a transmissão sináptica entre o neurônio primário nociceptivo e o neurônio de segunda ordem (MELZACK e WALL, 1965). Posteriormente, descobriu-se que as sinapses moduladoras da dor não estão presentes apenas na ME, mas nos vários níveis das vias nociceptivas, e que a origem dos circuitos inibitórios não se restringe às fibras A β .

De fato, sabe-se, hoje, que existem vias descendentes moduladoras da dor que se originam no córtex somestésico e no hipotálamo, projetando-se para a SCP e, desta, para diferentes núcleos bulbares, especialmente os núcleos da rafe, como, por exemplo, o núcleo dorsal da rafe (NDR), cuja estimulação elétrica desperta forte analgesia, uma região mesencefálica especializada, situada ventralmente na SCP (OLIVERAS et al., 1979). Eferências do NDR atingem estruturas pontinas e bulbares mais caudais. Do núcleo magno da rafe (NMgR) ou do *locus coeruleus* (LC), dois importantes exemplos dessas estruturas mais caudais, fibras serotoninérgicas ou noradrenérgicas, respectivamente, descem, através do assim chamado funículo dorso-lateral (FDL) da ME, com destino à substância gelatinosa do CDME. Essas vias ainda podem se projetar sobre interneurônios encefalinérgicos ou GABAérgicos que, por sua vez,

hiperpolarizam os neurônios responsáveis pela transmissão da mensagem nociceptiva (BASBAUM e FIELDS, 1978; MELZACK et al., 1982; PERTOVAARA, 2006), provocando o bloqueio da dor.

Como provável base neuroanatômica desse fenômeno antinociceptivo, podemos salientar as conexões, basicamente serotoninérgicas, de núcleos da formação reticular, tais como os núcleos da rafe, núcleo paragigantocelular e gigantocelular parte alfa, com o colículo superior e SCP (BEITZ, 1982; COIMBRA et al., 2006). Esses núcleos bulbares, assim como a SCP, fazem parte do sistema endógeno que modula a percepção de estímulos nociceptivos (WILLIS e WESTLUND, 1997). A SCP, uma estrutura mesencefálica não somente rica em serotonina (COIMBRA et al., 2006) mas também em opioides endógenos (EICHENBERGER et al., 2002; OSAKI et al., 2003), foi uma das primeiras regiões a serem implicadas na modulação da dor (REYNOLDS, 1969; MAYER et al., 1971). Muito embora alguns sítios mais rostrais sejam mais usualmente estimulados, há evidências de que a analgesia eliciada nesses sítios é transmitida através da SCP (RHODES, 1979). Processos antinociceptivos podem ser gerados em todas as regiões da SCP, apesar de haver relatos na literatura apontando a região ventro-lateral como sendo mais efetiva em produzir analgesia (GEBHART e TOLEIKIS, 1978), ao lado de sítios localizados nas colunas dorso-medial e dorso-lateral da SCP (COIMBRA et al., 1992).

As reações comportamentais e autonômicas induzidas pela estimulação do teto mesencefálico (TM) têm sido descritas como sendo similares às aquelas observadas em decorrência da estimulação nociceptiva aguda (SPIEGEL et al., 1954; KEENE e FIGUEROA, 1986). É também conhecido que, em humanos, tais estimulações provocam sensações desagradáveis associadas ao sofrimento causado pela dor (NASHOLD et al., 1969).

A dor normalmente promove um conjunto de reflexos de retirada, fuga, retraimento, entre outros comportamentos recuperativos. Em

algumas situações, seria mais razoável, portanto, que essas reações fossem suprimidas automaticamente em favor de respostas mais adaptativas. Se, dessa forma, a resposta natural do organismo a situações de emergência inclui diminuída sensibilidade a impulsos nociceptivos, parece plausível que o sistema de inibição de dor seja recrutado em tais situações (COIMBRA, 1995; COIMBRA et al., 2006), e possivelmente também em situações patológicas, como aquelas que evocam as crises epiléticas, onde a movimentação vigorosa e rápida pode, não somente extenuar o paciente, mas também ser seguida, durante e após a síndrome de imobilidade pós-ictal, do recrutamento de mecanismos de inibição da dor, por meio da ativação completa ou parcial do sistema endógeno de modulação da dor. A serotonina e a noradrenalina são fortes candidatos a neurotransmissores envolvidos nessa rede neural (DE OLIVEIRA et al., 2006; FREITAS et al., 2005; PERTOVAARA, 2006). Contudo, estudos dos mecanismos neurais e hormonais dos processos de modulação da dor têm apresentado provas do envolvimento de β -endorfina e encefalinas, além de corticotrofinas e corticosterona em algumas formas de antinocicepção (MILLER, 1981; BASBAUM e FIELDS, 1989; JONES et al., 1992, 1994).

Além dos mecanismos inibitórios de controle da dor, estudos apontam para a existência de mecanismos facilitatórios descendentes paralelos, não havendo distinção anatômica entre as estruturas envolvidas, pois várias áreas encefálicas dão origem às vias descendentes que levam tanto à facilitação, quanto à inibição da atividade do segundo neurônio da unidade funcional da via nociceptiva ascendente (FIELDS e BASBAUM, 1999; FIELDS et al., 1991; MCNALLY, 1999). Esses mecanismos de facilitação descendente que se iniciam no bulbo rostral-ventro-medial (incluindo o NMgR) podem ser desencadeados por inflamação dos tecidos periféricos e viscerais e por dano das fibras do neurônio aferente primário. A facilitação descendente contribui, assim, para a hiperalgesia e/ou alodinia que caracterizam essas condições, incluindo a hiperalgesia secundária. A facilitação descendente limita o

risco de o dano tecidual ser agravado (MILLAN, 2002). Além do NMgR, é importante salientar a participação de estruturas mais superiores, como o córtex cingulado anterior (CCA), nesse mecanismo facilitatório da dor através de receptores excitatórios, como o N-metil-D-aspartato (NMDA) (CALEJESAN et al., 2000). Evidências na literatura mostram projeções do CCA para a SCP dorsal e CPCS, duas importantes estruturas que participam do sistema endógeno de inibição de dor (COUTINHO, 2010). Além disso, esse sistema facilitatório parece atuar através de células *ON-OFF* em neurônios GABAérgicos do NMgR, onde as células *OFF* inibem, enquanto, as células *ON* facilitam a transmissão nociceptiva no CDME (FIELDS et al., 1991).

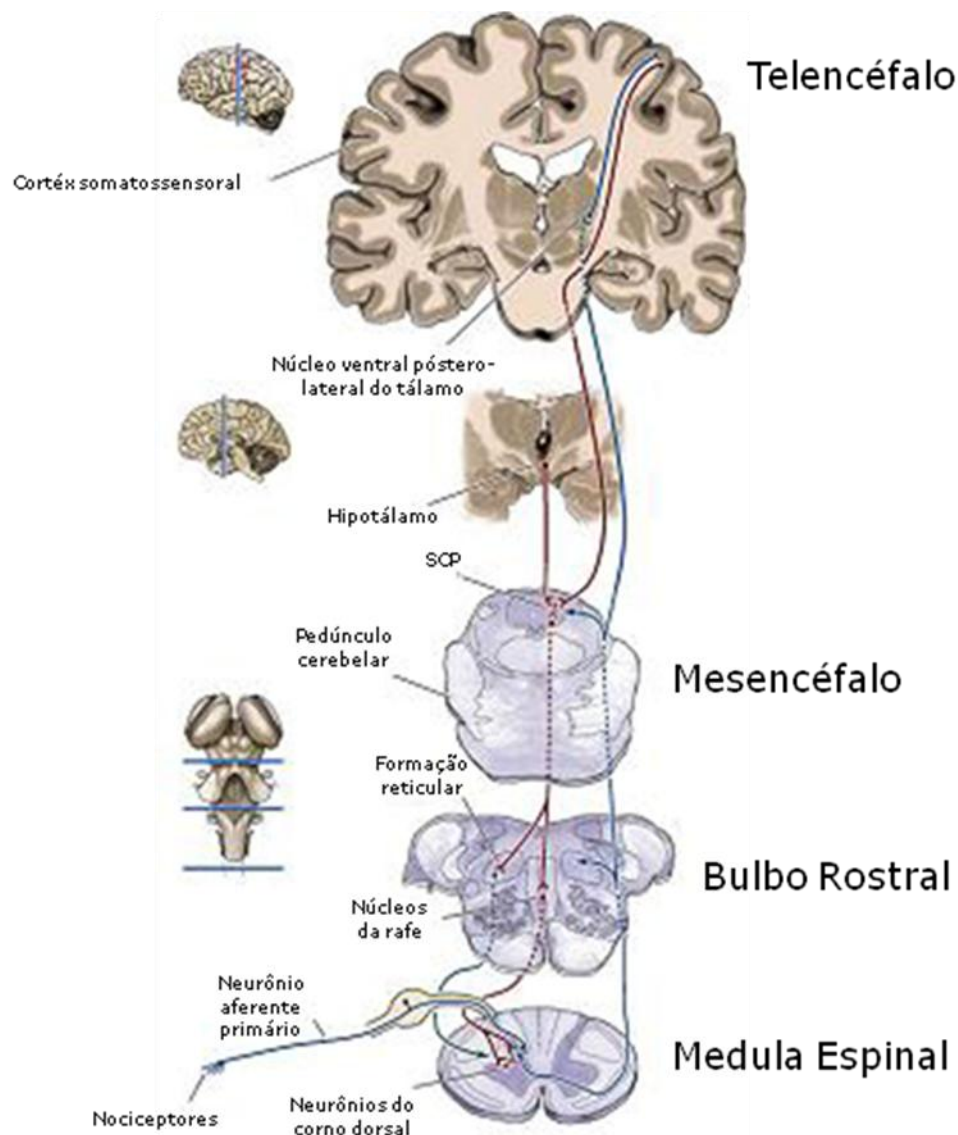


Figura 1. Representação esquemática: 1) sistemas ascendentes (via espinotalâmica) da percepção da dor (**em azul**): o neurônio aferente primário faz conexão com o segundo neurônio no corno posterior da medula espinal que, por sua vez, envia projeções para o núcleo ventral pósterolateral do tálamo, que se conecta com o córtex somatossensorial, região pela qual é processada a dor; 2) ativação dos sistemas descendentes (**em vermelho**) que se originam no córtex somatossensorial e/ou no hipotálamo, e se projeta para substância cinzenta periaquedutal, para os núcleos da rafe, e outros núcleos da medula oblonga rostro-ventral. Os efeitos antinociceptivos ocorrem por meio da interface de cada um desses núcleos com o corno dorsal da medula espinal. PURVES e cols., 2001.

1.3. O LOCUS COERULEUS E O SISTEMA NORADRENÉRGICO: IMPLICAÇÕES NA ANALGESIA

Tem sido demonstrado que as catecolaminas, como a norepinefrina (NE) e a dopamina (DA), possuem um papel no controle da excitabilidade neuronal, via proteína G acoplada ao receptor de sinalização (WEINSHENKER e SZOT, 2002), e na modulação da analgesia através da via descendente noradrenérgica para o CDME (PERTOVAARA, 2006). REDDY e YAKSH (1980) mostraram que injeção intratecal de noradrenalina causa antinocicepção, e este efeito é antagonizado pelo antagonista de receptores noradrenérgicos α_2 , a ioimbina (SAGEN e PROUDFIT, 1984).

Os neurônios noradrenérgicos são encontrados em dois grupos celulares no tronco encefálico: no LC e na área tegmental lateral, sendo que mais da metade destes neurônios localiza-se dentro do LC (WEINSHENKER e SZOT, 2002).

O LC apresenta distintos conjuntos de núcleos noradrenérgicos ventrolateralmente localizados em relação ao eixo mediano e tem relação de proximidade com o IV ventrículo no tegmento pontino (FOOTE et al., 1983), e projeta-se para muitos núcleos encefálicos, modulando, assim, suas funções (AMARAL e SINNAMON, 1977; JOBE et al., 1994, RYU et al., 1999, TSURUOKA et al., 2003; SAJEDIANFARD et al., 2005; VOISIN et al., 2005). Uma das mais importantes funções do LC é a modulação da dor, pois sua estimulação elétrica e química promove liberação espinal de NE (HENTALL et al., 2003) seguida de antinocicepção (JONES e GEBHART, 1986), que é atenuada pela administração espinal de antagonistas de receptores α_2 -noradrenérgicos (JONES, 1991; PERTOVAARA, 2006; PROUDFIT, 1988). Porém, essa modulação pode ser realizada não

somente por uma via descendente, mas também através de uma via ascendente (VOISIN et al., 2005; ZHANG et al., 1997). Assim, a lesão bilateral deste núcleo promove aumento das respostas nociceptivas (TSURUOKA e WILLIS, 1996).

As fibras noradrenérgicas do LC atingem o CDME, e as fibras das áreas A5 e A7 (grupo de células localizadas na parte ventrolateral e na dorsolateral da ponte, respectivamente) alcançam neurônios motores das colunas ventral e ventrolateral da ME (LYONS et al., 1989 e TSURUOKA et al., 2004). Curiosamente, os axônios do LC estão situados primeiramente no funículo ventral ipsilateral e terminam na parte medial das lâminas VII e VIII, fornecendo densa inervação à parte ventral da ME e pouca inervação para o corno dorsal superficial (PROUDFIT e CLARK, 1991; YEOMANS et al., 1992). Os neurônios situados na divisão pontina do tronco encefálico onde se situa o LC atingem o CDME, modulando estímulos nociceptivos através de receptores α_2 -noradrenérgicos (LI e ZHAO, 1993; KING et al., 2005).

Muito embora as conexões noradrenérgicas entre o LC e a ME sejam de crucial importância no controle da atividade das vias ascendentes nociceptivas (BASBAUM e FIELDS, 1989) é possível que parte deste efeito modulador das sensações álgicas se deva ao resultado da ação de outras vias descendentes sobre interneurônios encefalinérgicos da substância gelatinosa, inibindo as aferências primárias A δ e C, através de projeções pré-sinápticas sobre seu primeiro contato neural com células nociceptivas localizadas no núcleo espinal do nervo trigêmeo (NENT) e, muito provavelmente, no CDME (JESSEL e IVERSEN, 1977; BASBAUM e FIELDS, 1984). Esse mecanismo tomaria como base o bloqueio, por meio de neurotransmissores opioides, como a encefalina e endorfinas, do influxo de íons cálcio em terminais axônicos de células do gânglio da raiz dorsal dos nervos espinais (ou do gânglio semilunar de Gasser, no que se refere ao componente trigeminal do sistema ântero-lateral), por onde trafegam

impulsos nociceptivos (MUDGE et al.,1979) estando este sistema sob controle das projeções descendentes monoaminérgicas.

Assim, ao lado das vias serotoninérgicas descendentes de inibição da dor, conexões noradrenérgicas provenientes do LC, que também se projetam ao CDME (KWIAT e BASBAUM, 1992; CLARK e PRODFIT, 1993), desempenham importante papel no controle da dor (JONES e GEBHART, 1986; YEOMANS et al., 1992) ao inibirem, direta ou indiretamente, por meio de interneurônios medulares, o contato sináptico entre o primeiro e o segundo neurônio da via nociceptiva ascendente, também, por meio de interneurônios GABAérgicos ou glicinérgicos (PERTOVAARA, 2006).

1.4. CRISES CONVULSIVAS E ANALGESIA

De uma maneira ampla, as crises convulsivas podem ser classificadas em parciais e generalizadas. Entre as generalizadas, encontramos as formas mais conhecidas, e de maior impacto sobre as pessoas que as presenciam, que são as tônico-clônicas (grande mal) e as crises de ausência (pequeno mal) que levam à perda de consciência (COMISSÃO DA LIGA INTERNACIONAL CONTRA A EPILEPSIA, 1989).

Uma crise epiléptica é caracterizada como uma descarga elétrica cerebral desorganizada que se propaga para todas as regiões do encéfalo e leva a uma alteração de toda a atividade cerebral. A convulsão é uma das tantas formas de manifestação de epilepsia.

Dentre os diversos modelos experimentais de crises convulsivas, destaca-se a administração sistêmica de pentilenotetrazol (PTZ), capaz de induzir crises convulsivas por meio de antagonismo não competitivo de

receptores GABAérgicos, inibindo o influxo de íons cloreto na membrana celular pós-sináptica (SCHOFIELD, 1987; DE LIMA e RAE, 1990), relatado pela primeira vez por PALFAI e ALBALA (1976), que avaliaram a possibilidade da influência da crise convulsiva induzida pela droga na amnésia retrógrada em ratos. Outra forma de indução de crises epiléticas consiste em aplicar um estímulo sonoro de alta intensidade, o que desperta convulsões tônico-clônicas em animais sensíveis (TSUTSUI et al., 1992; RIBAK E MORIN, 1995; RIBAK et al., 1997), um fenômeno que também pode estar sob controle de vias ricas em GABA (GARCIA-CAIRASCO e SABBATINI, 1991).

A diminuição da neurotransmissão do GABA tem sido envolvida na etiologia de várias doenças neurológicas, tais como a epilepsia. Alguns investigadores têm avaliado a concentração de GABA no líquido encéfalo-raquidiano de epiléticos, como uma forma de aferir a atividade neuronal GABAérgica. Encontrou-se redução da concentração desse neurotransmissor no *liquor* de indivíduos epiléticos (MANYAM et al., 1980), embora um estudo anterior não tenha relatado essa diferença em pacientes epiléticos (ENNA et al., 1977). Portanto, não há dúvida de que a manipulação do sistema GABAérgico possa influenciar grandemente a excitabilidade do cérebro e promover crises convulsivas, tanto em animais como no homem.

O aminoácido ácido gama-aminobutírico (GABA) é o neurotransmissor mais amplamente distribuído no sistema nervoso central dos vertebrados (BORMANN, 2000) e está presente em 30-50% das terminações nervosas (ROBERTS e FRANKEL, 1950). No sistema nervoso, o GABA atua, eminentemente, em duas famílias de receptores: os do tipo A ($GABA_A$) e os do tipo B ($GABA_B$), além do receptor $GABA_C$. Os dois receptores têm sido classificados de acordo com critérios farmacológicos e segundo a natureza dos mecanismos efetores. O receptor $GABA_A$ está diretamente acoplado a um canal de íons de cloro, enquanto que o receptor $GABA_B$ está diretamente acoplado a canais de íons de potássio e

de cálcio por meio de uma proteína G (SCHOFIELD, 1987; BOWERY, 1989; BOWERY e PRATT, 1992). As estruturas localizadas no TM possuem altas concentrações desse neurotransmissor (OKADA, 1974; SANDNER et al., 1981), particularmente o CI (SHIRAISHI et al., 2001).

Alguns estudos sugerem a presença de GABA nos interneurônios corticais e hipocampais, assim como em algumas células da retina, no núcleo *accumbens*, no núcleo reticular do tálamo e nos neurônios de Purkinje. Evidências indicam, ainda, que neurônios GABAérgicos estejam presentes também no complexo estriado-palidal, estriado-nigral e em projeções coliculares (OKADA et al., 1971; DE PAULIS et al., 1990; FLOREY, 1991). Existem, também, interneurônios GABAérgicos nos núcleos da rafe, interagindo com neurônios serotoninérgicos e encefalinérgicos do prosencéfalo, e também com neurônios colinérgicos (NISHIKAWA e SCATTON, 1983; GRIDITTI et al., 1993; WANG e NAKAI, 1993).

De acordo com alguns achados, mecanismos GABAérgicos da substância negra (SN) estão envolvidos no controle de crises convulsivas generalizadas (DINGLELINE et al., 1978; GARCIA-CAIRASCO et al., 1996a), o que comprovam outros estudos neurais e hormonais, segundo os quais injeções bilaterais de agonistas GABA dentro do sistema nervoso central (prosencéfalo e cerebelo), deprimem crises convulsivas (DINGLELINE et al., 1978). Na literatura, descreve-se um duplo elo estriadonigral-nigrotectal que consiste em duas sucessivas vias inibitórias GABAérgicas. Está bem estabelecido que os neurônios GABAérgicos do neostriado que enviam conexões à SN (CROSSMAN et al., 1973; RINVIC et al., 1976; BROWNSTEIN et al., 1977; OERTEL et al., 1981) exercem influência inibitória sobre a parte reticulada dessa estrutura (FELTZ, 1971; PRESCHT e YOSHIDA, 1971; CROSSMAN et al., 1973; DRAY et al., 1976). A parte reticulada da SN envia projeções também GABAérgicas aos corpos quadrigêmeos (CASTELLAN-BALDAN et al., 2006; EINCENBERGER et al., 2002; COIMBRA e BRANDÃO, 1993). Essas regiões induzem crises

convulsivas quando estimuladas (DE PAULIS et al., 1990; CARDOSO et al., 1994; GARCIA-CAIRASCO et al., 1996a). Esses dados sustentam a hipótese de que a saída nigral deve funcionar como um mecanismo de barreira para as crises generalizadas (DINGLELINE et al., 1978). Repetidas estimulações acústicas em ratos suscetíveis geneticamente à epilepsia evocam alterações neuroquímicas e límbicas, as quais são abolidas por microinjeção de agonistas GABA (GARCIA-CAIRASCO et al., 1996b). Além disso, a neurotransmissão noradrenérgica desempenha papel importante na modulação de crises convulsivas, pois a lesão do LC acelera o processo de *kindling* na amígdala (MCINTYRE, 1980; CORCORAN, 1988).

Além disso, as crises convulsivas podem ser geradas pela estimulação de algumas estruturas que parecem estar implicadas com processos antinociceptivos, onde os corpos quadrigêmeos e a SCP podem se apresentar como importantes substratos neurais (CARDOSO et al., 1994; GARCIA-CAIRASCO et al., 1996a; FREITAS et al., 2005; FREITAS, 2010), assim como o LC (FREITAS et al., 2005). A analgesia que segue as crises convulsivas é denominada analgesia pós-ictal.

Apesar de mecanismos colinérgicos, serotoninérgicos, opioides e noradrenérgicos já terem sido implicados na elaboração da analgesia pós-ictal (COIMBRA et al., 2001a, b; DE FREITAS et al., 2004; FREITAS et al., 2005), encontra-se, na literatura, grande escassez de trabalhos que tratem da analgesia induzida por convulsão. Desta maneira, a analgesia que segue as crises convulsivas induzidas experimentalmente ou por processos naturais ainda necessita ser mais bem elucidada, assim como o substrato neural desse processo de inibição de dor. O presente trabalho parte da hipótese de que mecanismos noradrenérgicos do locus coeruleus desempenham um relevante papel na organização dos processos antinociceptivos pós-ictais.

2. OBJETIVOS

2.1. *Objetivos gerais*

- Este trabalho foi realizado com o objetivo de investigar se as crises convulsivas induzidas por drogas, como o pentilenotetrazol, são seguidas de antinocicepção, reversível pelo antagonismo central de receptores noradrenérgicos.

2.2. *Objetivos específicos*

- Investigar a participação do substrato neural responsável pela organização da analgesia pós-ictal, avaliando o envolvimento do *locus coeruleus* (LC) na analgesia que segue crises convulsivas induzidas pelo bloqueio ionóforo de canais de cloro ligados ao GABA. Com esse intuito, microinjeções centrais de propranolol, ioimbina e norepinefrina (NE), em diferentes doses, foram realizadas no LC, seguindo-se a administração por via intraperitoneal de pentilenotetrazol.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Animais

Foram utilizados ratos albinos (*Rattus norvegicus*, *Rodentia*, *Muridae*), da linhagem Wistar, pesando entre 200-250g, provenientes do biotério geral do *Campus Universitarius* de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Esses animais foram colocados em caixas de polipropileno, com 1394cm² de piso (41 X 34 X 16 cm), com quatro exemplares, os quais tiveram acesso à comida e água, durante todo o experimento, e foram mantidos em ambiente com ciclo claro-escuro de 12/12h (luzes ligadas das 7h às 19h), e temperatura constante de 25°C±1°C. Os experimentos foram realizados em harmonia com os princípios elaborados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da FMRP-USP (protocolo nº 14142/2005).

3.2. Testes nociceptivos

Todos os ratos tiveram seus limiares nociceptivos aferidos, utilizando-se para o isso o teste de retirada de cauda. Cada animal foi colocado em uma cela de contenção com paredes de acrílico, e teve sua cauda colocada sobre o sensor de uma fonte de calor (*Tail-Flick Analgesia Instrument*; Ugo Basile), cuja elevação progressiva de calorimetria (proporção de 9°C/s; PRADO e ROBERTS, 1985) foi automaticamente

interrompida, tão logo o animal retirava a cauda do dispositivo. Um pequeno ajuste da intensidade e corrente foi realizado, quando necessário, no início do experimento, com o propósito de se obterem três latências consecutivas de retirada de cauda, entre 2,5 e 3,5 s. Caso o animal não removesse a cauda da fonte de calor dentro de 6 s, o dispositivo era desligado para prevenir danos teciduais. Toda a latência de retirada de cauda (LRC) foi normalizada pelo índice de analgesia (IA) usando-se para isso a seguinte fórmula:

$$IA = \frac{(LRC_{\text{teste}}) - (\overline{LRC_{\text{controle}}})}{6 - (\overline{LRC_{\text{controle}}})}$$

A linha de base foi formada pela média de três LRC, tomadas em intervalos de 5 min. O limiar nociceptivo foi igualmente aferido em sequência às crises convulsivas, induzidas pelo PTZ.

3.3. Testes comportamentais

Os testes comportamentais foram realizados no interior de uma arena circular (*open-field*), cujas paredes, de acrílico transparente, medem 60 cm de diâmetro e 50 cm de altura, e cujo assoalho é dividido em 12 secções iguais. Essa arena é situada em um compartimento experimental e iluminada por lâmpada fluorescente. O efeito das drogas administradas (efeito do PTZ, dos bloqueadores farmacológicos, agonista noradrenérgico e salina), foi estudado no interior desse aparato.

As crises convulsivas induzidas pelo PTZ (64mg/Kg, IP) foram o parâmetro motor usado para avaliar o efeito do bloqueio de íons de Cl⁻

mediado pelo GABA. A latência das crises foi definida como o tempo entre a injeção do PTZ até a primeira evidência de mioclonia de mandíbula, tempo considerado como o primeiro sinal de início das crises. A severidade das crises foi avaliada de acordo com o índice de gravidade estabelecida para os experimentos em nosso laboratório (Tabela 2). As crises convulsivas induzidas pelo PTZ foram registradas por uma videocâmara (Sony, HDD) direcionada à arena circular, e os vídeos foram subsequentemente avaliados para qualificar e quantificar as crises convulsivas de cada animal.

GRAVIDADE	COMPORTAMENTO: CRISE CONVULSIVA
0	Comportamento exploratório;
1	Mioclonia de mandíbula e da musculatura facial; mioclonia de pata anterior com curto tempo de duração;
2	Mioclonia de cabeça; moderada mioclonia de pata anterior com duração de pelo menos 5 segundos;
3	Hipertonia da musculatura das patas anteriores e/ou posteriores; severa mioclonia de pata anterior com duração de pelo menos 10 segundos;
4	Hipertonia da musculatura das patas anteriores e/ou posteriores; Elevação, além de mioclonia severa de pata anterior;
5	Hipertonia da musculatura das patas anteriores e/ou posteriores; Elevação e queda, além de mioclonia severa de patas anteriores e posteriores.

Tabela 2. Índice de gravidade das crises convulsivas tônico-clônicas generalizadas produzidas pela administração de PTZ (64mg/kg; IP), estabelecida para os experimentos que avaliam a analgesia pós-ictal no Laboratório de Neuroanatomia e Neuropsicobiologia (LNN) da FMRP-USP. Esse índice foi baseado na modificação da escala de RACINE (1972) feita por MAGGIO e GALE (1989) com o intuito de adequar esse índice às crises convulsivas observadas no LNN.

3.4. Procedimentos

3.4.1. Intervenções cirúrgicas

Os animais foram anestesiados (IP), com uma solução na proporção de 0,1 mL cetamina a 10% (Agener, na dose de 25mg/kg) para 0,2 mL de xilasina a 2% (Dopaser, na dose de 10mg/kg), colocados no aparelho estereotáxico (David Kopf, EUA), onde suas cabeças foram fixadas pelo rochedo temporal e incisivos superiores. Antes da exposição da calota craniana, a pele e o tecido subcutâneo foram anestesiados com solução de lidocaína a 2% (0,1 mL, s.c.). O periósteo foi retirado, e a calota craniana tratada com H₂O₂ a 10%. Foram feitas duas trepanações no crânio, para a introdução de um parafuso de ancoragem de uma prótese de fixação (feita de resina autopolimerizável) e de uma cânula-guia, a qual foi direcionada para o LC, segundo as seguintes coordenadas: AP: -9,68mm; ML: 1,4mm; DV: 6mm, de acordo com o Atlas de PAXINOS e WATSON (1997). Tomando-se a o bregma como referência, e estando a sutura lambdóide e bregmática em um mesmo plano horizontal. A cânula-guia foi confeccionada com agulha de injeção intradérmica (25X6mm), de aço inoxidável, com 15mm de comprimento. Um fio de aço foi introduzido na luz da cânula, para protegê-la de impurezas.

Para a microinjeção das drogas, uma microagulha (Mizzi), conectada a uma microsseringa (Hamilton, 10µL) foi introduzida na cânula, e ultrapassou a sua extremidade final em 1 mm. Um catéter de polietileno foi acoplado a microagulha para monitorização das microinjeções, que eram feitas através de uma bomba de infusão de drogas (Stoelting).

3.4.2. Estudo do efeito da modulação noradrenérgica do LC sobre a analgesia pós-ictal

Inicialmente, após o período de recuperação pós-operatória da cirurgia estereotáxica (3 a 5 dias), foi feita uma linha de base para o teste de retirada de cauda com todos os animais de cada grupo. Os animais dos grupos controles receberam microinjeções de salina (NaCl a 0,9%), direcionadas ao LC e, após 10 min, receberam administrações de PTZ por via intraperitoneal (IP). Após haver recebido o PTZ, os animais foram colocados na arena, onde permaneceram até o término da crise convulsiva e tiveram seus limiares nociceptivos aferidos pelo teste de retirada de cauda, tão logo a ativação comportamental chegasse ao seu fim; portanto, imediatamente após as crises (tempo considerado 0), 10, 20, 30, 40, 60, 90, 120, 150 e 180 min após as convulsões.

Grupos independentes de animais receberam microinjeções de propranolol, ioimbina e norepinefrina, nas doses de 1µg/0,2µl, 3µg/0,2µL e 5µg/0,2µL seguindo-se, após 10 min, a aplicação de PTZ (IP). O limiar nociceptivo foi aferido imediatamente após o término da crise convulsiva, e nos tempos descritos anteriormente. As crises convulsivas foram registradas e analisadas como descrito no item 3.3.

3.5. Drogas

Foram utilizados o pentilenotetrazol (PTZ, 64 mg/kg, Sigma), a ioimbina e o propranolol (antagonistas de receptores α_2 e β noradrenérgicos, respectivamente, Sigma), e a norepinefrina (agonista não seletivo noradrenérgico, Sigma), dissolvidos em solução salina (NaCl a 0,9 %); esta foi igualmente utilizada como controle do veículo das drogas injetadas.

O agonista e os antagonistas de receptores noradrenérgicos foram microinjetados no LC nas seguintes doses: 1 μ g/0,2 μ l, 3 μ g/0,2 μ L e 5 μ g/0,2 μ l, utilizadas no presente trabalho a partir de estudos prévios, com o intuito de estabelecer a curva dose-resposta dessas drogas (FERREIRA, 2004).

3.6. Histologia

Após a finalização dos experimentos, os animais foram anestesiados com hidrato de cloral (1 mL a 5% para 100g de animal) até atingir depressão respiratória letal, imediatamente seguida de uma incisão no tórax, com exposição do mediastino e ruptura do diafragma. O próximo passo foi clampar a aorta descendente torácica libertando o coração do envoltório pericárdico, para o puncionamento do ventrículo esquerdo. Em seguida, foi feita uma incisão no átrio direito, quando então os encéfalos foram perfundidos com solução salina a 0,9% em volume suficiente para retirar todo o sangue do animal, seguido por solução tamponada de

paraformaldeído a 4%. Em seguida, os encéfalos foram removidos, seccionados em cortes coronais, para separação do tecido pontino do restante do tecido nervoso. O bloco assim obtido, após ser deixado em imersão no fixador por mais 4h, a 4°C, foi congelado em isopentana resfriada em gelo carbônico, levado ao criostato, onde secções seriadas de 40µm foram realizadas e adequadamente montadas em lâminas gelatinizadas; posteriormente desidratadas, diafanizadas e coradas com hematoxilina/eosina (HE). Em seguida, foram analisadas ao microscópio de luz (AxioImager Z1, Alemanha), e os sítios de microinjeção de drogas puderam ser assinalados em diagramas do Atlas de PAXINOS e WATSON (1997).

3.7. Equipamentos

As cirurgias estereotáxicas foram realizadas por meio de um estereotáxico desenvolvido para pequenos animais (David Kopf, 902, EUA).

Os testes antinociceptivos foram realizados através de um analgesímetro para realização do teste de retirada da cauda (Ugo Basile, 21025, Itália).

A análise histológica foi feita através de um micrótomo de congelamento (HM 505 E, Zeiss, Alemanha), e os resultados foram avaliados através de um microscópio de luz (Axioplan Z1, Zeiss, Alemanha).

3.8. Análise estatística

Os dados foram avaliados pelo teste de análise de variância de medidas repetidas (MANOVA), seguido, quando apropriado, pelo teste *post-hoc* de Duncan. Resultados estatisticamente significantes foram considerados quando “p” foi menor do que 0,05.

4. RESULTADOS

Neste trabalho foi investigado o efeito do pré-tratamento do *locus coeruleus* com um bloqueador de receptores noradrenérgicos α_2 , a ioimbina, com um bloqueador de receptores β , o propranolol, ou com um agonista de receptores noradrenérgicos, a norepinefrina, na elaboração da analgesia induzida por ataques convulsivos, evocados por um bloqueio sistêmico de canais de Cl^- ligados a sinapses GABAérgicas no sistema nervoso central. Nos presentes resultados, as convulsões não foram precedidas por corridas selvagens. O PTZ evocou, em média, de 3 a 4 crises convulsivas com duração entre 7 e 19 minutos. Geralmente, nos animais que o PTZ evoca crises por um período superior a este não resistem às reações convulsivas e morrem (aproximadamente 26% de 174 animais).

A Figura 2 apresenta uma fotomicrografia de corte transversal da ponte, de rato Wistar, representativa dos sítios de microinjeção localizados no LC neste estudo.

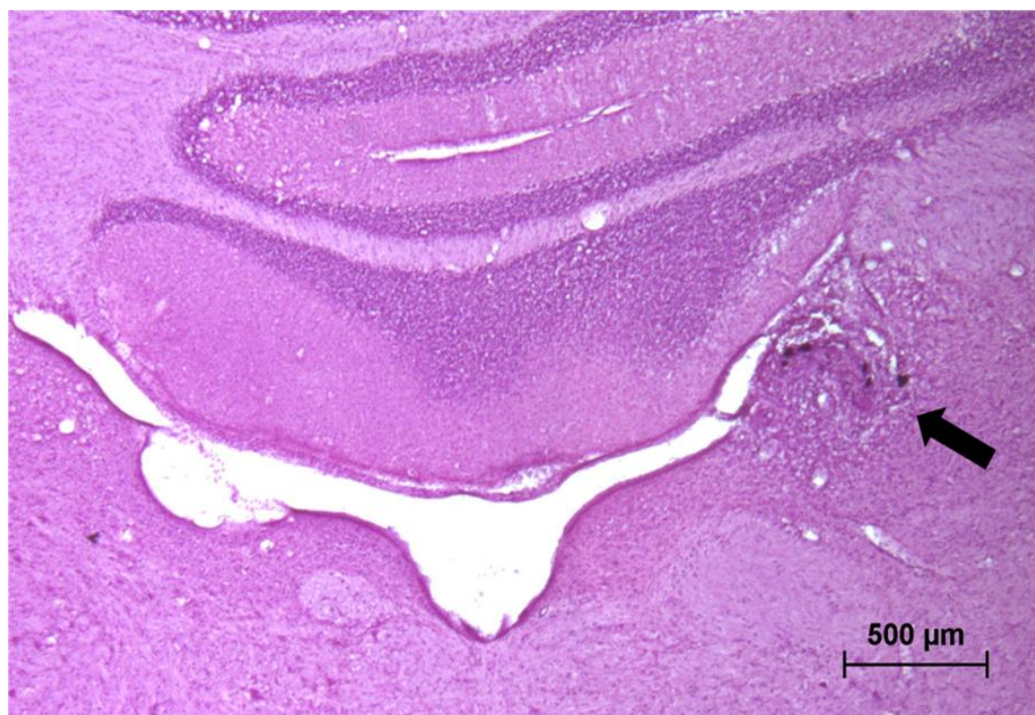


Figura 2. Fotomicrografia de corte transversal da ponte de rato Wistar representativa de nossos grupos experimentais. Os cortes foram corados com HE. A seta indica um local representativo da microinjeção das drogas estudadas no *locus coeruleus*.

4.1. Efeito da microinjeção de ioimbina no LC sobre a analgesia pós-ictal

Em todas as doses estudadas (1µg/0,2µL; 3 µg/0,2µL; 5µg/0,2µL), a administração de ioimbina no LC, apresentou efeitos significativos em relação ao grupo controle (salina) causando diminuição da antinocicepção pós-ictal aferida pelo teste de retirada de cauda. Houve efeito estatisticamente significativo do tratamento farmacológico com ioimbina [$F(3,23) = 14,02$; $p < 0,0001$], do tempo [$F(9,15) = 22,55$; $p < 0,0001$] e interação tratamento *versus* tempo [$F(27,41) = 4,13$; $p < 0,0001$]. A análise *post-hoc* mostrou que o bloqueio de receptores noradrenérgicos α_2 no LC causou redução da analgesia aferida de 0 a 120 min do período pós-ictal [$F(3,23)$ variando de 9,83 a 14,99; $p < 0,0002$]. O teste *post-hoc* mostrou, ainda, que a dose de 3µg/0,2µL de ioimbina antagonizou a analgesia pós-ictal de 0 a 60 min e 120 min após as convulsões, enquanto que, as outras doses somente reduziram a analgesia 40 min após as convulsões; assim, houve diferenças entre os grupos de animais que receberam ioimbina a 3µg/0,2µL e os que receberam ioimbina a 1µg/0,2µL e a 5µg/0,2µL [Duncan; $p < 0,0002$]. Dados mostrados na Figura 3.

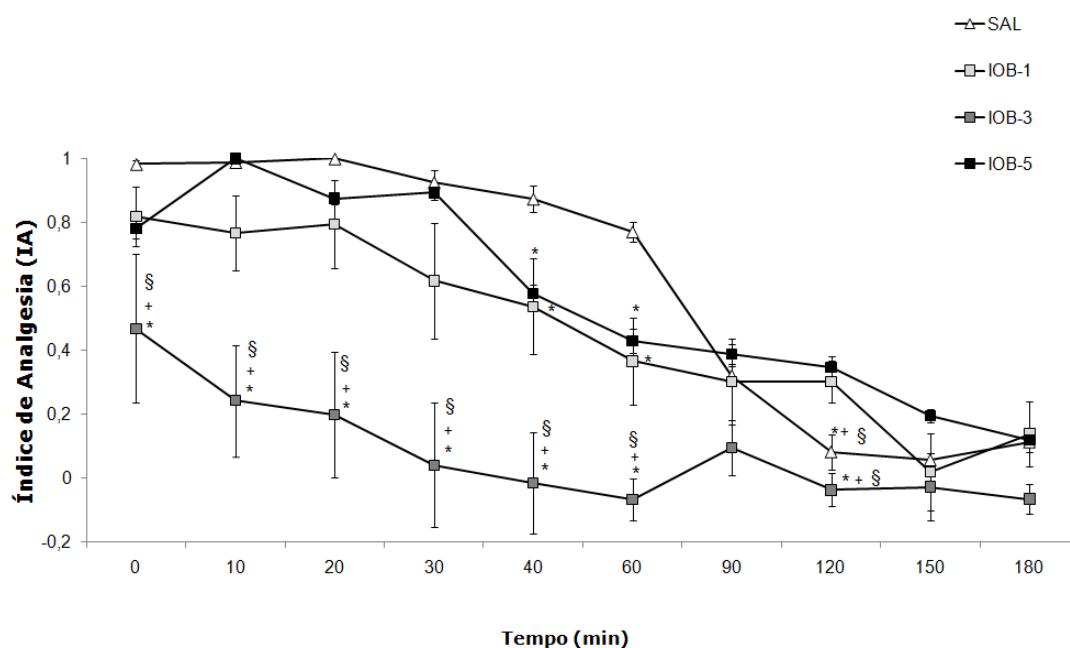


Figura 3. Efeito do pré-tratamento com ioimbina intra-LC sobre a analgesia pós-ictal. Os pontos representam as médias dos índices de analgesia, e as barras representam o EPM. (*) Efeito estatisticamente significativo ($p < 0,05$) em relação ao grupo controle (SAL), (+) efeito estatisticamente significativo ($p < 0,05$) com o grupo IOB-1, (§) efeito estatisticamente significativo ($p < 0,05$) com o grupo IOB-5, segundo MANOVA seguida pelo teste *post hoc* de Duncan. SAL= salina (N=6); IOB-1= ioimbina a $1\mu\text{g}/0,2\mu\text{L}$ (N=7); IOB-3= ioimbina a $3\mu\text{g}/0,2\mu\text{L}$ (N=5) e IOB-5= ioimbina a $5\mu\text{g}/0,2\mu\text{L}$ (N=9).

Com relação aos resultados obtidos pela análise das crises convulsivas, o pré-tratamento com ioimbina na dose de 1µg/0,2µL apresentou efeito estatisticamente significativo em relação ao grupo controle (salina) e ao grupo de animais que receberam ioimbina a 5µg/0,2µL, causando aumento na duração do processo convulsivo avaliado após a administração de PTZ (IP), observado nos registros dos comportamentos convulsivos. Houve efeito estatisticamente significativo do tratamento farmacológico com ioimbina [$F(3,24) = 6,27$; $p < 0,003$]. A análise *post-hoc* mostrou que o bloqueio dos receptores α_2 -noradrenérgicos no LC causou aumento da duração do processo convulsivo após a administração de PTZ (IP) observado no intervalo entre o primeiro comportamento (mioclonia de mandíbula) e o fim do processo convulsivo (comportamento exploratório do animal na arena circular) [Duncan; $p < 0,003$] (Figura 4).

Porém, a análise *post-hoc* não mostrou efeito estatisticamente significativo no número de crises, nem do índice de gravidade das crises convulsivas evocadas pelo PTZ (IP) [Duncan; $p > 0,05$] (Figura 5).

Uma representação esquemática da localização dos sítios de microinjeção de ioimbina, em diferentes doses, no LC, é mostrada na Figura 6.

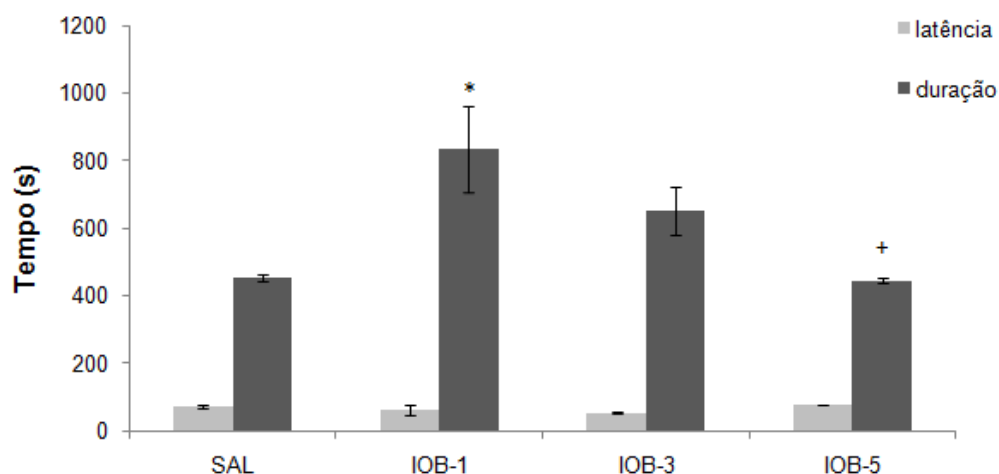


Figura 4. Efeito do pré-tratamento com ioimbina intra-LC sobre a latência e a duração do processo convulsivo. As colunas representam as médias, e as barras representam o EPM. (*) Efeito estatisticamente significativo ($p < 0,05$) em relação ao grupo controle (SAL), (+) efeito estatisticamente significativo ($p < 0,05$) com o grupo IOB-1, segundo ANOVA seguida pelo teste *post hoc* de Duncan. SAL= salina (N=6); IOB-1= ioimbina a $1\mu\text{g}/0,2\mu\text{L}$ (N=7); IOB-3= ioimbina a $3\mu\text{g}/0,2\mu\text{L}$ (N=5) e IOB-5= ioimbina a $5\mu\text{g}/0,2\mu\text{L}$ (N=9).

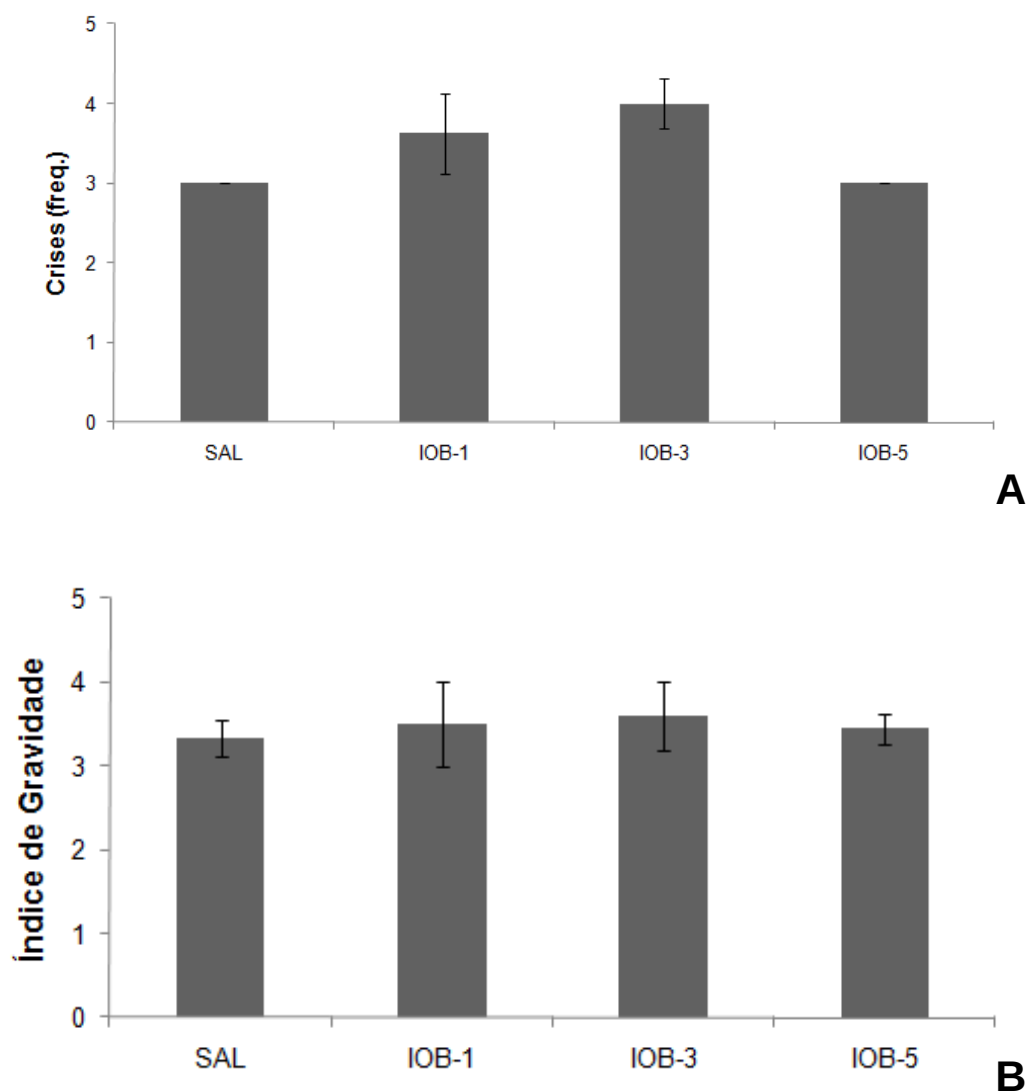


Figura 5. Ausência de efeito do pré-tratamento com ioimbina intra-LC sobre a as crises convulsivas, segundo o número (A) e o índice de gravidade (B). As colunas representam as médias, e as barras representam o EPM. SAL= salina (N=6); IOB-1= ioimbina a 1µg/0,2µL (N=7); IOB-3= ioimbina a 3µg/0,2µL (N=5) e IOB-5= ioimbina a 5µg/0,2µL (N=9).

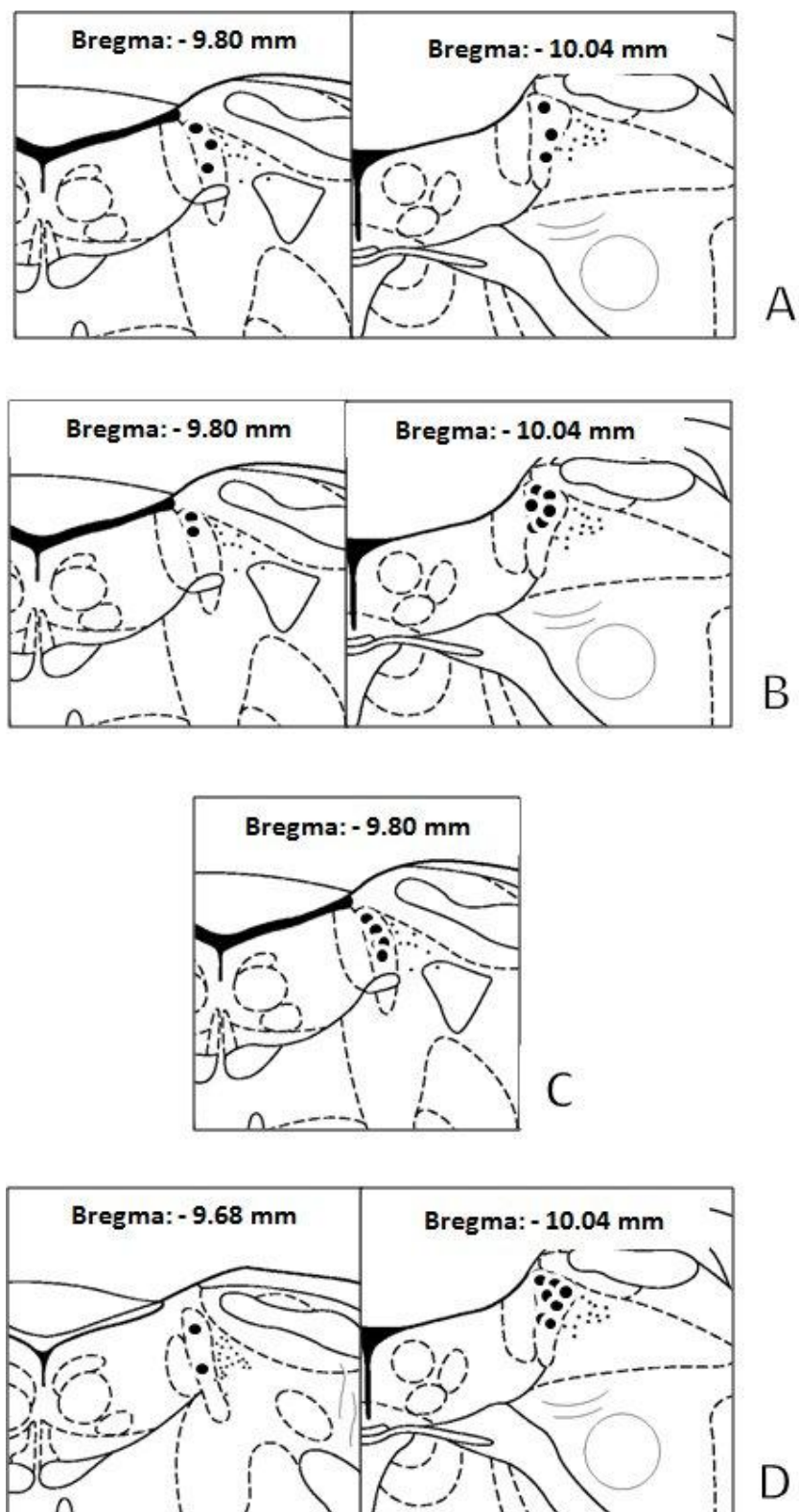


Figura 6. Representação esquemática dos sítios de microinjeção de salina fisiológica (A), ioimbina a 1µg/0,2µL (B), ioimbina a 3µg/0,2µL (C) e ioimbina a 5µg/0,2µL (D), no LC, dispostos em anagramas do Atlas de Paxinos e Watson (1997).

4.2. Efeito da microinjeção de propranolol no LC sobre a analgesia pós-ictal

O pré-tratamento com propranolol (antagonista de receptores noradrenérgicos β) administrado unilateralmente no LC, em todas as doses estudadas (1 μ g/0,2 μ L; 3 μ g/0,2 μ L; 5 μ g/0,2 μ L), apresentou efeito estatisticamente significativo em relação ao grupo controle (salina) causando diminuição da antinocicepção pós-ictal. Houve efeito estatisticamente significativo do tratamento farmacológico com propranolol [F (3,27) = 7,50; $p < 0,001$], do tempo [F (9,19) = 139,39; $p < 0,0001$] e interação tratamento *versus* tempo [F (27,53) = 4,06; $p < 0,0001$]. A análise *post-hoc* mostrou que o bloqueio de receptores β -noradrenérgicos no LC causou redução da analgesia aferida de 0 a 60 min do período pós-ictal [F (3,27) variando de 3,61 a 7,19; $p < 0,05$]. O teste *post-hoc* mostrou, ainda, que, de 0 a 10 min após as convulsões, houve diferenças entre os grupos de animais que receberam propranolol a 3 μ g/0,2 μ L e os que receberam propranolol a 1 μ g/0,2 μ L e a 5 μ g/0,2 μ L [Duncan; $p < 0,05$]. Dados mostrados na Figura 7.

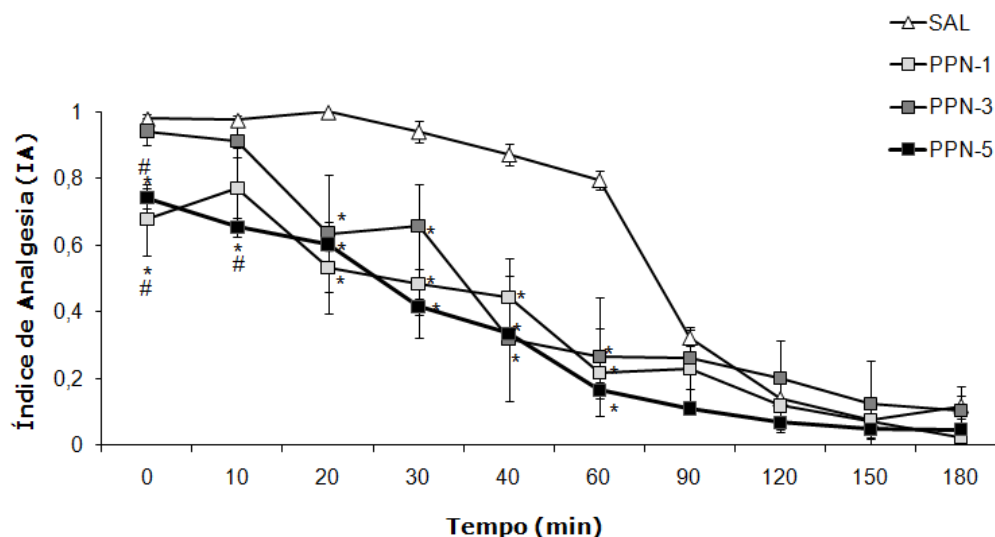


Figura 7. Efeito do pré-tratamento com propranolol intra-LC sobre a analgesia pós-ictal. Os pontos representam as médias dos índices de analgesia nos diferentes tempos, e as barras representam o EPM. (*) Efeito estatisticamente significativo ($p < 0,05$) em relação ao grupo controle (SAL), (+) efeito estatisticamente significativo ($p < 0,05$) com o grupo PPN-1, (#) efeito estatisticamente significativo ($p < 0,05$) com o grupo PPN-3, segundo MANOVA seguida pelo teste *post hoc* de Duncan. SAL= salina (N=7); PPN-1= propranolol a $1\mu\text{g}/0,2\mu\text{L}$ (N=8); PPN-3= propranolol a $3\mu\text{g}/0,2\mu\text{L}$ (N=7) e PPN-5= propranolol a $5\mu\text{g}/0,2\mu\text{L}$ (N=9).

Com relação aos resultados obtidos pela análise das crises convulsivas, o pré-tratamento com propranolol nas doses de 1µg/0,2µL e 3µg/0,2µL apresentou efeito estatisticamente significativo em relação ao grupo controle (salina) e ao grupo de animais que receberam propranolol a 5µg/0,2µL, causando aumento na duração do processo convulsivo avaliado após a administração de PTZ (IP) (Figura 8). Além disso, o pré-tratamento com propranolol na dose de 1µg/0,2µL aumentou o número de crises evocadas pelo PTZ, apresentando efeito estatisticamente significativo em relação aos outros grupos estudados (salina e propranolol a 3µg/0,2µL e a 5µg/0,2µL) (Figura 9). A análise *post-hoc* mostrou que o bloqueio dos receptores β-noradrenérgicos no LC causou aumento da duração do processo convulsivo [$F(3,27) = 10,42$; $p < 0,001$] e no número de crises [$F(3,27) = 5,40$; $p > 0,005$] aferidos após a administração de PTZ (IP) no intervalo entre o primeiro comportamento (mioclonia de mandíbula) e o fim do processo convulsivo (comportamento exploratório do animal na arena circular) [Duncan; $p < 0,05$].

Entretanto, a análise *post-hoc* não mostrou efeito estatisticamente significativo no índice de gravidade das crises convulsivas evocadas pelo PTZ IP [Duncan; $p > 0,05$]. Dados mostrados na Figura 10.

Uma representação da localização dos sítios de microinjeção de propranolol, em diferentes doses, no LC, é mostrada na Figura 11.

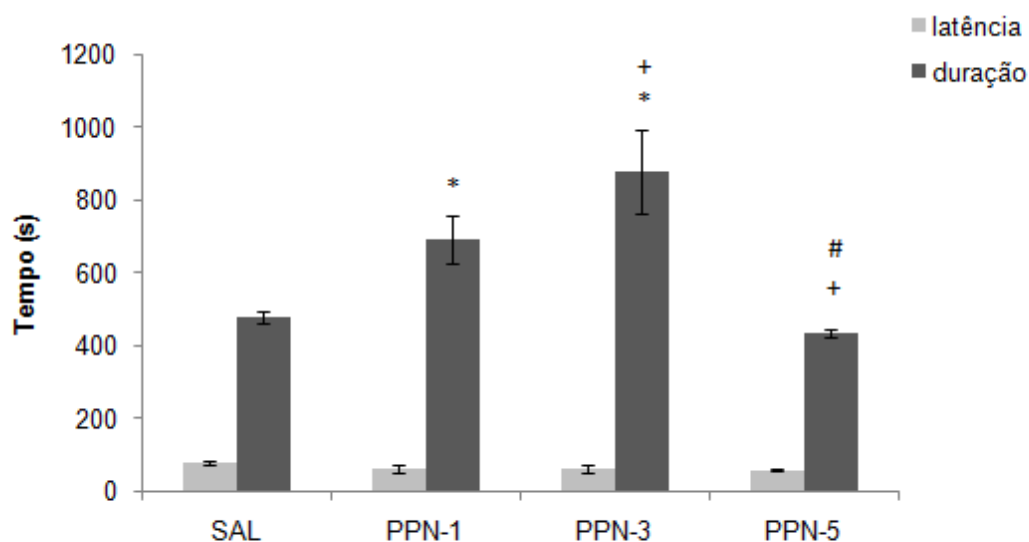


Figura 8. Efeito do pré-tratamento com propranolol intra-LC sobre a latência e a duração do processo convulsivo. As colunas representam as médias, e as barras representam o EPM. (*) Efeito estatisticamente significativo ($p < 0,05$) em relação ao grupo controle (SAL), (+) efeito estatisticamente significativo ($p < 0,05$) com o grupo PPN-1, (#) efeito estatisticamente significativo ($p < 0,05$) com o grupo PPN-3, segundo ANOVA seguida pelo teste *post hoc* de Duncan. SAL= salina (N=7); PPN-1= propranolol a $1\mu\text{g}/0,2\mu\text{L}$ (N=8); PPN-3= propranolol a $3\mu\text{g}/0,2\mu\text{L}$ (N=7) e PPN-5= propranolol a $5\mu\text{g}/0,2\mu\text{L}$ (N=9).

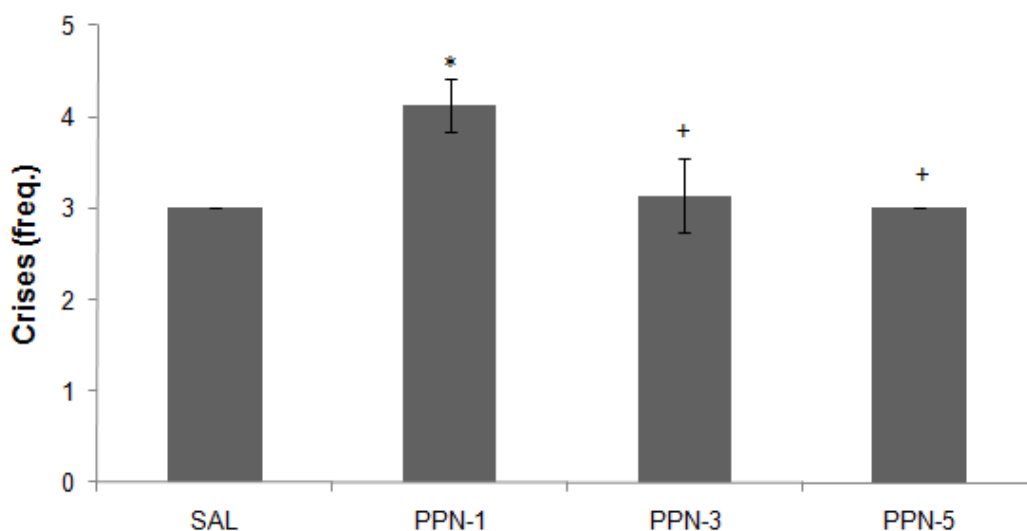


Figura 9. Efeito do pré-tratamento com propranolol intra-LC sobre o número de crises convulsivas. As colunas representam as médias, e as barras representam o EPM. (*) Efeito estatisticamente significativo ($p < 0,05$) em relação ao grupo controle (SAL), (+) efeito estatisticamente significativo ($p < 0,05$) em relação ao grupo PPN-1, segundo ANOVA seguida pelo teste *post hoc* de Duncan. SAL= salina (N=7); PPN-1= propranolol a $1\mu\text{g}/0,2\mu\text{L}$ (N=8); PPN-3= propranolol a $3\mu\text{g}/0,2\mu\text{L}$ (N=7) e PPN-5= propranolol a $5\mu\text{g}/0,2\mu\text{L}$ (N=9).

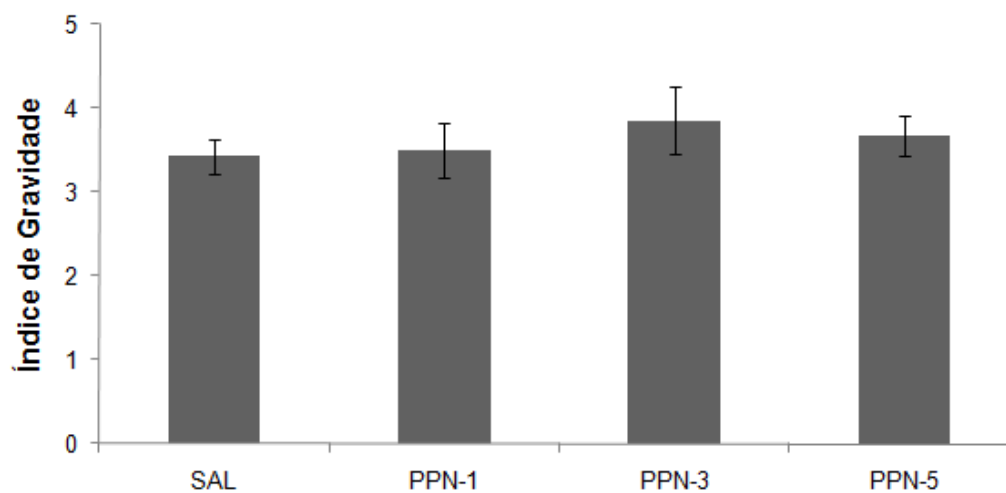


Figura 10. Ausência de efeito do pré-tratamento com propranolol intra-LC sobre o índice de gravidade das crises convulsivas. As colunas representam as médias, e as barras representam o EPM. SAL= salina (N=7); PPN-1= propranolol a 1µg/0,2µL (N=8); PPN-3= propranolol a 3µg/0,2µL (N=7) e PPN-5= propranolol a 5µg/0,2µL (N=9).

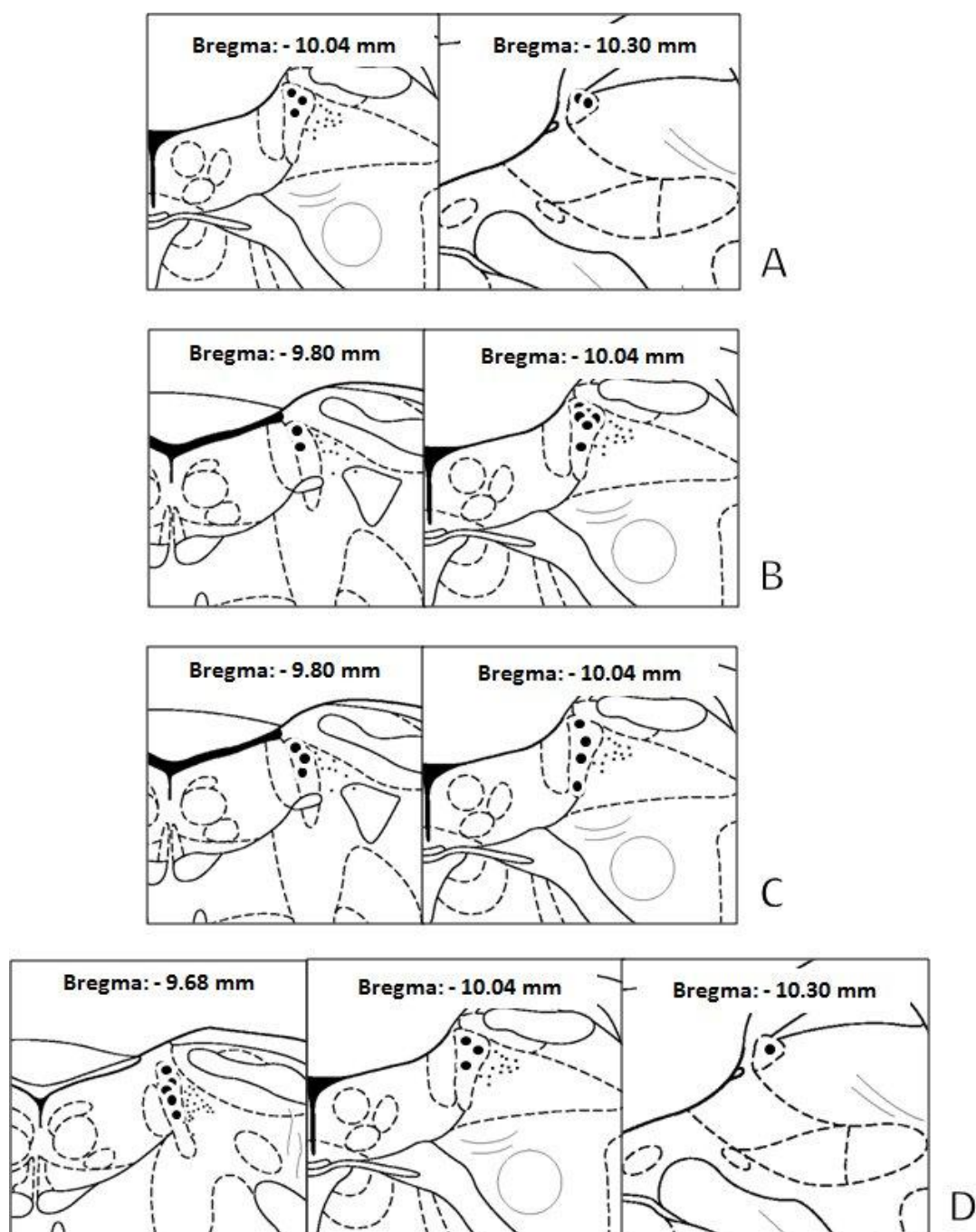


Figura 11. Representação esquemática dos sítios de microinjeção de salina fisiológica (A), propranolol a $1\mu\text{g}/0,2\mu\text{L}$ (B), propranolol a $3\mu\text{g}/0,2\mu\text{L}$ (C) e propranolol a $5\mu\text{g}/0,2\mu\text{L}$ (D), no LC, dispostos em anagramas do Atlas de Paxinos e Watson (1997).

4.3. Efeito da microinjeção de norepinefrina no LC sobre a analgesia pós-ictal

A administração de norepinefrina, em doses crescentes (1µg/0,2µL; 3 µg/0,2µL; 5µg/0,2µL), apresentou efeito estatisticamente significativo em relação ao grupo controle (salina; NaCl a 0,9%) causando diminuição da antinocicepção pós-ictal. Houve efeito estatisticamente significativo do tratamento farmacológico com norepinefrina [$F(3,23) = 6,48$; $p < 0,005$], do tempo [$F(9,15) = 24,11$; $p < 0,0001$] e interação tratamento *versus* tempo [$F(27,41) = 4,51$; $p < 0,0001$]. A análise *post-hoc* mostrou que o efeito do agonista de receptores noradrenérgicos no LC causou redução da analgesia aferida de 0 a 60 min do período pós-ictal [$F(3,23)$ variando de 3,33 a 6,67; $p < 0,05$]. O teste *post-hoc* mostrou, ainda, que, no tempo 0 (zero) após as convulsões, houve diferença entre os grupos de animais que receberam norepinefrina a 3 µg/0,2µL e os que receberam norepinefrina a 1µg/0,2µL [Duncan; $p < 0,05$]. Dados mostrados na Figura 12.

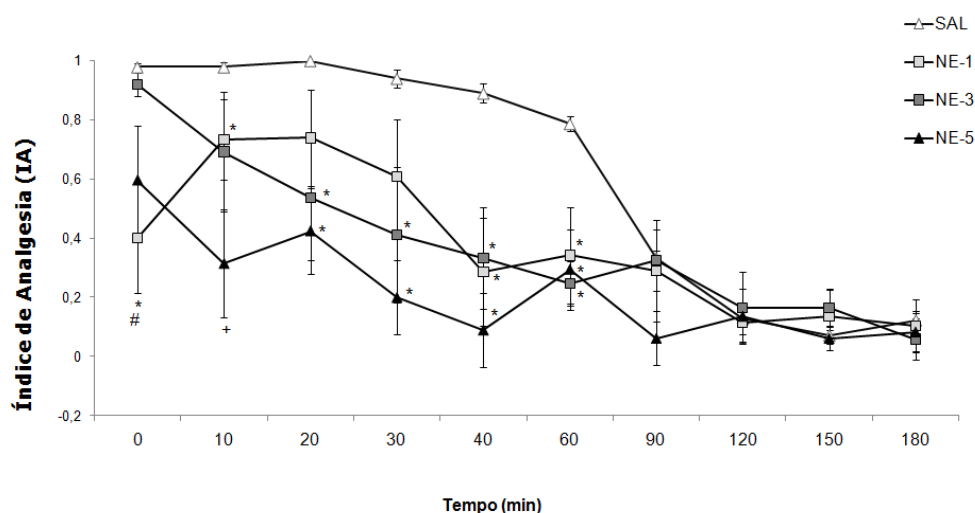


Figura 12. Efeito do pré-tratamento com norepinefrina intra-LC sobre a analgesia pós-ictal. Os pontos representam as médias dos índices de analgesia nos diferentes tempos, e as barras representam o EPM. (*) Efeito estatisticamente significativo ($p < 0,05$) em relação ao grupo controle (SAL), (+) efeito estatisticamente significativo ($p < 0,05$) com o grupo NE-1, (#) efeito estatisticamente significativo ($p < 0,05$) com o grupo NE-3, segundo a MANOVA seguida pelo teste *post hoc* de Duncan. SAL= salina (N=8); NE-1= norepinefrina a 1µg/0,2µL (N=8); NE-3= norepinefrina a 3µg/0,2µL (N=5) e NE-5= norepinefrina a 5µg/0,2µL (N=6).

Com relação aos resultados obtidos pela análise das crises convulsivas, o pré-tratamento com norepinefrina nas doses de 3µg/0,2µL e 5µg/0,2µL apresentou efeito estatisticamente significativo em relação ao grupo controle (NaCl a 0,9%) e ao grupo que recebeu norepinefrina a 1µg/0,2µL, causando aumento na duração do processo convulsivo avaliado após a administração de PTZ (IP). Houve efeito estatisticamente significativo do tratamento farmacológico com norepinefrina [$F(3,23) = 12,02$; $p < 0,0001$]. A análise *post-hoc* mostrou que a norepinefrina administrada no LC causou aumento da duração do processo convulsivo aferido após a administração de PTZ (IP) aferido no intervalo entre o primeiro comportamento (mioclonia de mandíbula) e o fim do processo convulsivo (comportamento exploratório do animal na arena circular) [Duncan; $p < 0,0001$] (Figura 13).

Porém, a análise *post-hoc* não mostrou efeito estatisticamente significativo no número de crise, nem no índice de gravidade de crises convulsivas, evocadas pelo PTZ (IP) [Duncan; $p > 0,05$]. Dados mostrados na Figura 14.

Uma representação da localização dos sítios de microinjeção de norepinefrina, em diferentes doses, no LC, é mostrada na Figura 15.

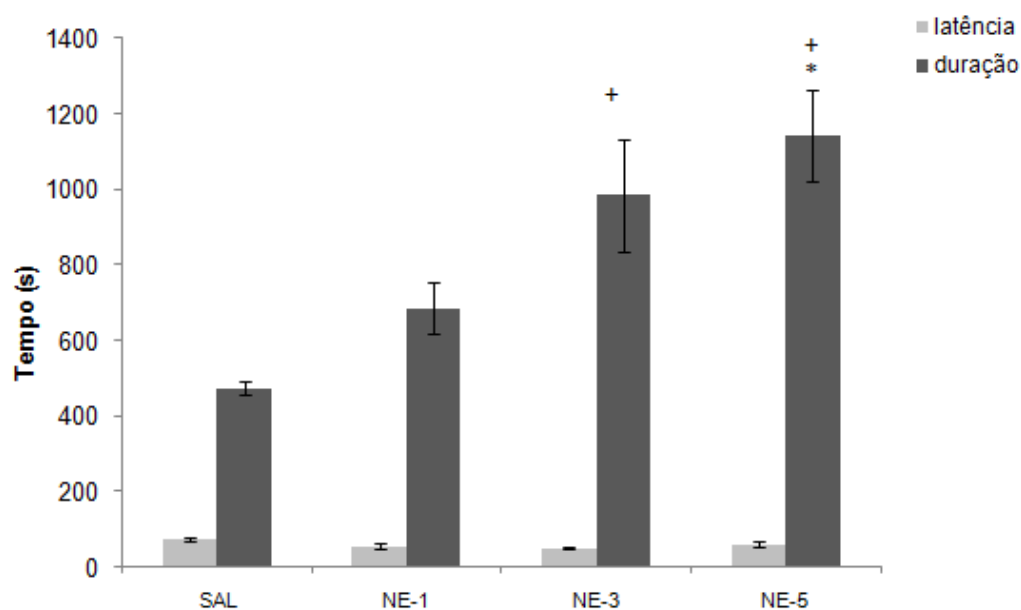


Figura13. Efeito do pré-tratamento com norepinefrina intra-LC sobre a latência e duração do processo convulsivo. As colunas representam as médias e as barras representam o EPM. (*) Efeito estatisticamente significativo ($p < 0,05$) em relação ao grupo controle (SAL), (+) efeito estatisticamente significativo ($p < 0,05$) em relação ao grupo NE-1, segundo ANOVA, seguida pelo teste *post hoc* de Duncan. SAL= salina (N=8); NE-1= norepinefrina a $1\mu\text{g}/0,2\mu\text{L}$ (N=8); NE-3= norepinefrina a $3\mu\text{g}/0,2\mu\text{L}$ (N=5) e NE-5= norepinefrina a $5\mu\text{g}/0,2\mu\text{L}$ (N=6).

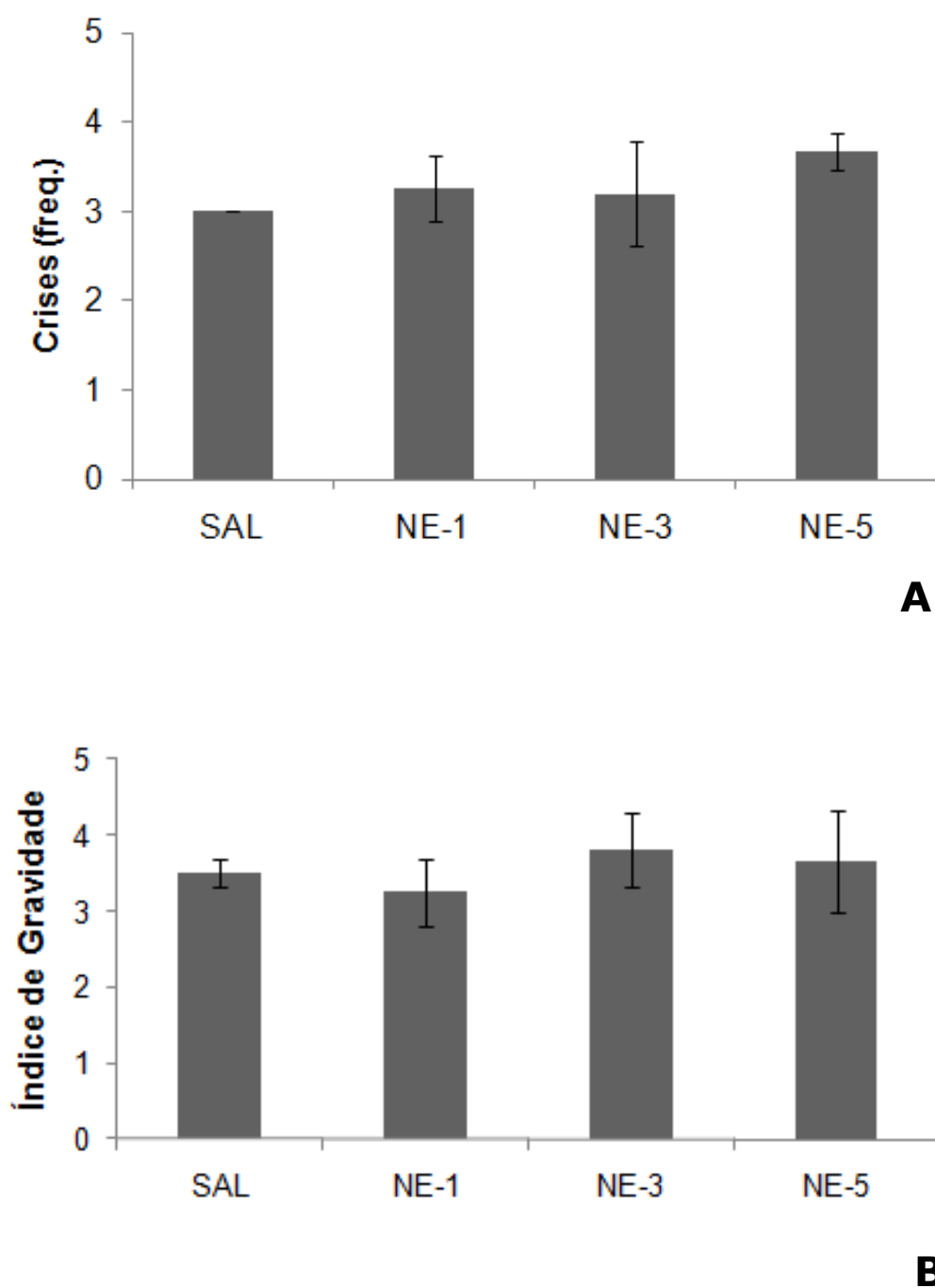


Figura 14. Ausência de efeito do pré-tratamento com norepinefrina intra-LC sobre as crises convulsivas, segundo o número (A) e o índice de gravidade (B). As colunas representam as médias e as barras representam o EPM. SAL= salina (N=8); NE-1= norepinefrina a 1µg/0,2µL (N=8); NE-3= norepinefrina a 3µg/0,2µL (N=5) e NE-5= norepinefrina a 5µg/0,2µL (N=6).

5. DISCUSSÃO

Os presentes resultados sugerem o envolvimento do sistema noradrenérgico do LC nos processos antinociceptivos induzidos por reações convulsivas. Sugerem, também, a participação desse sistema na modulação das próprias crises convulsivas. O PTZ causou crises convulsivas tônico-clônicas generalizadas em todos os animais que foram seguidas por aumento no índice de analgesia. As microinjeções dos antagonistas noradrenérgicos, ioimbina (α_2) e propranolol (β), e também, do agonista, norepinefrina, no LC, diminuíram a analgesia pós-ictal e foram capazes de aumentar a duração das crises convulsivas induzidas pelo PTZ sem causar alterações no índice de gravidade das crises.

A analgesia pós-ictal foi estudada através do teste de retirada de cauda, que utiliza reflexos medulares, em detrimento de outros clássicos testes de analgesia, como o teste da placa quente ou de formalina, que requerem a participação de mecanismos supraespinais (DINCKENSON et al., 1979; LE BARS et al., 2001). Além disso, este teste nos permite avaliar a influência de vias descendentes modulatórias da nocicepção já, que os reflexos medulares são sensíveis à manipulação de estruturas supraespinais (LE BARS et al., 2001).

Os receptores noradrenérgicos são classificados em duas categorias, α e β . Esses receptores são classificados em subtipos α_1 (α_{1A} , α_{1B} e α_{1D}), α_2 (α_{2A} , α_{2B} e α_{2C}) e β (β_1 , β_2 e β_3). A expressão de RNAm para receptores α_{2A} -noradrenérgicos é maior no LC que em qualquer outra área no encéfalo, porém não há relatos sobre os demais subtipos de receptores α_2 no LC (SCHEININ et al., 1994). Em adição, o LC também apresenta ligantes e RNAm para receptores α_1 - (CHAMBA et al., 1991; DAY et al., 1997). Um estudo de imuncitoquímica evidenciou também a presença de receptores β -noradrenérgicos no LC (WANAKA et al., 1989).

Em geral, os receptores noradrenérgicos estão acoplados a proteínas G. Os receptores α_2 diminuem a atividade da adenilato ciclase intracelular através da proteína G_i ou diretamente, modificando a atividade de canais iônicos, como Na^+ , Ca^{2+} ou K^+ . Os receptores β -noradrenérgicos aumentam a atividade da adenilato ciclase via proteína G_s . Já os receptores α_1 estão acoplados à fosfolipase C através da proteína G_q ou eles estão acoplados diretamente ao influxo de Ca^{2+} (RANG et al., 2004). Os receptores α_1 e β -noradrenérgicos são pós-sinápticos enquanto que os receptores α_2 -noradrenérgicos são encontrados tanto pré- quanto pós-sinapticamente.

Tem sido difícil estudar o papel funcional dos variados subtipos de receptores noradrenérgicos devido à falta de drogas seletivas para esses subtipos de receptores. Além disso, encontra-se na literatura uma escassez de trabalhos que estudam a analgesia que segue as crises convulsivas. A maioria dos relatos sobre a participação dos receptores noradrenérgicos, assim como do LC, tanto em processos antinociceptivos, quanto em processos convulsivos, evidencia tais fenômenos isoladamente (PERTOVAARA, 2006; WEINSHENKER e SZOT, 2002).

Crises convulsivas são capazes de ativar o sistema endógeno de inibição da dor (COIMBRA et al., 2001a, b; DE FREITAS et al., 2004, Freitas et al., 2005, FELIPPOTTI, 2005, DE OLIVEIRA et al., 2006), que tem a SCP como a primeira estrutura descrita exercendo participação relevante neste sistema (REYNOLDS, 1969), além do LC.

No presente trabalho, surpreendentemente, observou-se que tanto a ioimbina, o propranolol como a norepinefrina reverteram a analgesia que segue as crises convulsivas e que, em algumas concentrações, essas drogas foram capazes de aumentar a duração do processo convulsivo, porém sem alterar a gravidade das crises convulsivas. O LC, núcleo rico em NE, tem um papel importante na modulação da dor. Este fato foi demonstrado em vários estudos, nos quais sua estimulação química ou

elétrica produz antinocicepção que é revertida pela administração de antagonistas α_2 - e β -noradrenérgicos (JONES, 1991; PROUDFIT, 1988; FREITAS et al., 2005).

Em adição, a lesão do LC, com neurotoxina (ácido ibotênico), também foi capaz de reverter a analgesia que segue as crises convulsivas (FREITAS et al., 2005), assim como a analgesia induzida por substâncias doces (KISHI et al., 2006). Esses achados corroboram os resultados do presente trabalho, que também evidenciou a antagonização da analgesia pós-ictal através de administrações, em doses crescentes, de ioimbina (antagonista de receptores α_2 -noradrenérgicos) e de propranolol (antagonista de receptores β -noradrenérgicos).

A antinocicepção espinal induzida pela estimulação do LC é bloqueada pela lesão da coluna ventrolateral da ME, mas não da coluna dorsolateral, indicando que as vias ventrolaterais modulam o efeito antinociceptivo descendente proveniente do LC (MOKHA et al., 1985; TSURUOKA et al., 2004). O LC pode modular a nocicepção não somente pela via descendente, mas também através de uma via ascendente para o tálamo somatossensorial e para o núcleo parafascicular do tálamo (VOISIN et al., 2005; ZHANG et al., 1998). As projeções ascendentes do LC exibem um papel dual, facilitatório e inibitório, ao nível do tálamo medial (núcleo parafascicular) através de receptores α_1 - e α_2 -noradrenérgicos, respectivamente (ZHANG et al., 1998).

Há evidências de que o LC recebe e envia projeções para SCP, CPCS, CI (FREITAS et al., 2005) e para o núcleo LC contralateral (COUTO et al., 2006) e que também envia projeções para diversas estruturas, como o córtex, hipocampo, amígdala e o bulbo ventral rostro-lateral e medial (ENNIS e ASTON-JONNES, 1986; ASTIER et al., 1990). Além disso, também foi evidenciado que o núcleo reticular paragigantocelular envia projeções noradrenérgicas e não-noradrenérgicas ao LC (ASTIER et al., 1990). Assim, também é possível que o LC através de suas projeções aos núcleos bulbares (VANEGAS e SCHAIBLE, 2004) ative a via descendente

bulbo-espinhal de facilitação da dor, que trafega pelo funículo dorsolateral. Efetivamente, dados na literatura mostram que as vias descendentes de inibição e facilitação da dor podem derivar da mesma estrutura supramedular (ALMEIDA, 1996 *apud* MARTINS, 2009; SILVA et al., 2010). De acordo com relatos da literatura, o NMgR possui três classes distintas de neurônios (células *ON*, *OFF* e neutras) baseados na correlação temporal entre as alterações na taxa de disparos e a execução de reflexos nociceptivos gerados pela estimulação nociva (FIELDS et al., 1983a, *apud* SILVA, 2006). É possível que as células *ON* tenham papel facilitatório da dor, enquanto que as células *OFF* parecem ter um papel inibitório da dor (FIELDS et al., 2006 *apud* MARTINS, 2009), assim, sugere-se que esse mecanismo seja mediado pela ação de neurônios opioidérgicos sobre interneurônios GABAérgicos (SILVA et al., 2010).

Nossos resultados mostraram que a NE diminuiu a analgesia pós-ictal, evidenciando um efeito inesperado. Não obstante, ZHANG et al. (2010) mostraram que, dependendo da dose administrada de NE, sobre limiares nociceptivos basais no núcleo caudado-*putamen* (CPu), pode ocorrer antinocicepção (em doses menores) ou pró-nocicepção (em doses maiores). Outra explicação possível para esse resultado seria o mecanismo de retroalimentação inibitório exercido sobre os receptores α_2 -noradrenérgicos pré-sinápticos, ou, ainda, é possível que a NE esteja atuando sobre receptores α_1 -noradrenérgicos, que têm sido envolvidos em mecanismos facilitatórios da dor (HOLDEN et al., 1999).

A interação da NE com os receptores noradrenérgicos podem tanto facilitar quanto inibir os reflexos antinociceptivos. Uma série de estudos comportamentais *in vivo* mostraram que a microinjeção de um agonista α_2 -noradrenérgico ou um antagonista α_1 -noradrenérgico no NMgR produz efeitos antinociceptivos espinais, enquanto que a injeção de um agonista tanto α_1 quanto α_2 produzem efeitos hiperalgésicos (SAGEN e PROUDFIT, 1985). A liberação de NE atua nos receptores pré-sinápticos α_2 -

noradrenérgicos e inibe a liberação continuada de até cerca de 90 % de NE (mecanismo autoinibitório de *feedback*) (RANG et al., 2004).

A clonidina, um agonista de receptores α_2 -noradrenérgicos, em doses maiores, inibe a liberação de NE através do mecanismo de *feedback* inibitório no CDME (LI et al., 2000). Além disso, de acordo com GREEN et al. (1998), sob condições normais, o sistema noradrenérgico de *feedback* inibitório está “dormente”, enquanto que em condições fisiopatológicas pode estar ativado. Em um modelo de neurite periférica, a injeção de NE agravou a hiperalgesia mecânica, que foi atenuada não somente por um antagonista de receptores α_2 -noradrenérgicos, mas também, por um antagonista de receptores α_1 -noradrenérgicos (BAIK et al., 2003; PERTOVAARA, 2006). Em adição, numerosos estudos indicam que o LC é recrutado por estímulos nocivos lesivos, inflamação ou lesão de nervo por promover o mecanismo de retroalimentação inibitório da dor (WESTLUND e COUTLER, 1980; KWIAT e BASBAUM, 1992). Entretanto, embora haja estudos que mostram a participação dos receptores α_2 -noradrenérgicos na resposta à dor induzida pela NE, há várias evidências comportamentais e neurofisiológicas apontando para a participação dos receptores α_1 -noradrenérgicos na facilitação da dor (PERTOVAARA, 2006). Essas evidências nos sugerem a participação do LC (direta ou indiretamente via outras estruturas) na facilitação da dor em processos fisiopatológicos distintos, como na dor neuropática (BRIGHTWELL e TAYLOR, 2009) ou na dor crônica pós-isquêmica (XANTHOS et al., 2008). Em humanos, foi encontrado que a NE, injetada na pele, induz hiperalgesia ao calor (SCHATTSCHNEIDER et al., 2008).

Esses efeitos contraditórios também podem ocorrer em outros mecanismos. A glicina, um neurotransmissor inibitório, quando injetada na SCP dorsal tanto aumentou (concentrações maiores) quanto diminuiu (concentrações menores) os limiares de dor em ratos submetidos ao teste da formalina (MARTINS, 2009). A transmissão nociceptiva via projeções ascendentes do CDME pode ser inibida através de uma ação direta

(eferentes serotoninérgicos ou catecolaminérgicos) ou através de uma ação indireta pela inibição de interneurônios excitatórios (NMDA) ou excitação de interneurônios inibitórios (GABA, glicina e encefalina) (TODD et al., 1996 *apud* MARTINS, 2009; BASBAUM e FIELDS, 1984). Somando-se a este fato, a morfina, também produz efeitos antinociceptivos e pró-nociceptivos dependendo da dose (SAKURADA et al., 2005).

Em sítios supraespinais, a ação da NE nos receptores noradrenérgicos pode tanto facilitar quanto inibir a dor, dependendo dos sítios supraespinais de liberação, do tipo de receptor ativado, da intensidade e duração do estímulo doloroso (PERTOVAARA, 2006). Fundamentado nas evidências apresentadas até o momento, é provável que os receptores α_2 -noradrenérgicos em neurônios noradrenérgicos (autorreceptores) promovam a pró-nocicepção, enquanto que esses mesmos receptores em neurônios não-noradrenérgicos (heterorreceptores) promovam a antinocicepção (PERTOVAARA, 2006).

Entretanto, é prudente considerar a possibilidade do envolvimento de outros mecanismos na elaboração da analgesia pós-ictal. Além de mecanismos opioides, sistemas colinérgicos, serotoninérgicos e noradrenérgicos têm sido implicados na elaboração da analgesia pós-ictal (COIMBRA et al., 2001a, b; DE OLIVEIRA et al., 2006; FREITAS et al., 2005).

Além da NE participar dos mecanismos antinociceptivos ou pró-nociceptivos (dependendo do caso), esse neurotransmissor também participa da modulação de crises convulsivas, através do LC. A bicuculina (antagonista de receptores GABA-A) quando microinjetada no córtex piriforme causa crises esporádicas que podem ser convertidas em *status epilepticus* pela lesão do LC (GIORGI et al., 2004).

A ioimbina, estudada no presente trabalho, aumentou a duração do processo convulsivo na sua menor dose, entretanto, não alterou o índice de gravidade das crises convulsivas. Em adição, o pré-tratamento com

propranolol neste estudo, também foi capaz de aumentar a duração do processo convulsivo, nas menores doses; porém, como ocorreu com a ioimbina, esse bloqueio sobre os receptores β -noradrenérgicos não alterou o índice de gravidade das crises. Evidências na literatura mostram que tanto a ioimbina quanto o propranolol participam da atividade convulsiva (GIORGI et al., 2004). GELLMAN et al (1987) evidenciaram que o *kindling* é acelerado pela administração sistêmica de antagonistas α_2 -noradrenérgicos (indazoxan, ioimbina e rauwolscina). Some-se a isso o fato de que, conforme relatado por LAZAROVA e SAMANIN (1983), a ioimbina tem efeito pró-convulsivante quando administrada em ratos submetidos ao tratamento com PTZ. Apesar disso, a ioimbina parece ter um efeito anticonvulsivante e pró-convulsivante (LLOYD e WORMS, 1982) em camundongos. Dessa mesma forma ocorre com o propranolol, que parece possuir atividade anticonvulsivante em ratos (LOUIS et al., 1982) e pró-convulsivante em camundongos (GROSS e FERRENDELLI, 1982). Entretanto, há relatos de casos na literatura evidenciando intoxicação por propranolol (WEINSTEIN et al., 1985; LOVE e HANDLER, 1995) onde os pacientes demonstram colapso cardiovascular profundo e crises convulsivas generalizadas tônico-clônicas. Além disso, também é possível induzir crises convulsivas em camundongos pelo uso de propranolol sistêmico evidenciando o envolvimento dos receptores β -noradrenérgicos desse fenômeno (AMABEOKU e SYCE, 1997).

Além disso, a NE, administrada em doses crescentes no LC, aumentou a duração dos processos convulsivos, como também evidenciado com os antagonistas noradrenérgicos presentemente estudados, a ioimbina e o propranolol.

A NE também tem um papel dual sobre as crises convulsivas, que pode modular ou participar da elaboração de tais fenômenos (GIORGI et al., 2004). Lesões bilaterais do LC facilitam crises audiogênicas (JERLICZ et al., 1978). Também é possível que, assim como no fenômeno nociceptivo, a NE atue sobre receptores α_1 -noradrenérgicos quando seu

efeito for a elaboração das crises convulsivas. Camundongos transgênicos que possuem uma super-expressão de receptor α_{1b} -noradrenérgico exibem crises convulsivas espontâneas e essas crises podem ser parcialmente revertidas, neste modelo, pela administração de tetrazocina, um antagonista de receptores α_1 , indicando, assim, que esse subtipo de receptor sustenta a atividade convulsiva (ZUSICK et al., 2000; KUNIEDA et al., 2002). Os receptores α_1 têm sido implicados nos efeitos pró-convulsivantes de altas doses de clonidina em crises induzidas pelo PTZ em ratos, que podem ser bloqueados pelo antagonista seletivo de receptores α_1 (PAPANICOLAOU et al., 1982a).

Além disso, os receptores α_2 -noradrenérgicos são os receptores anticonvulsivantes mais comuns em termos de eficácia através das espécies, cepas e modelo de crise convulsiva, embora efeitos pró-convulsivos também têm sido descritos (OISHI et al., 1979; LÖSCHER e CZUCZWAR, 1987; WU et al., 1987).

Como descrito anteriormente, a ativação de autorreceptores α_2 pré-sinápticos diminui a ativação noradrenérgica e a liberação de NE (L'HEUREUX et al., 1986; JORM e STAMFORD, 1993), enquanto que a ativação de receptores α_2 pós-sinápticos inibe a ativação das células pós-sinápticas (células-alvo) (GOBERT et al., 1998). Infelizmente, os agonistas e antagonistas não podem distinguir entre os subtipos de receptores α_2 ou mesmo dentre aqueles localizados em situação pré *versus* pós-sináptica. Portanto, em muitos casos, é difícil dizer se os efeitos do agonista ou do antagonista são devido às mudanças na liberação de NE ou a efeitos diretos sobre a excitabilidade das células-alvos (WEINSHENKER e SZOT, 2002).

O estudo dos mecanismos noradrenérgicos pode oferecer dados elucidativos sobre a neuroquímica da analgesia pós-ictal. Na realidade, a NE parece estar envolvida criticamente em processos antinociceptivos (PERTOVAARA, 2006) e pró-nociceptivos (ZHANG et al., 2010) induzidos

pelo recrutamento de estruturas de onde também é possível induzir ataques convulsivos (CARDOSO et al., 1994; GARCIA-CAIRASCO et al., 1996a, b; TSUTSUI et al., 1992).

As bases neurais da analgesia (BASBAUM e FIELDS, 1984; 1989) e os substratos neurais envolvidos na gênese e propagação da atividade epileptogênica no sistema nervoso central (RIBAK et al., 1997; TSUTSUI et al., 1992) são o foco de muitas investigações na área de neurociências e neurologia experimental (MARGERISON e CORSELLIS, 1966; SAGAR e OXBURY, 1987). Estudos pioneiros demonstraram a correlação entre epilepsia do lobo temporal em adultos e a ocorrência de crise convulsiva isolada e *status epilepticus* (MARGERISON e CORSELLIS, 1966; SAGAR e OXBURY, 1987). Limiares nociceptivos parecem ser espontaneamente altos em pacientes com epilepsia do lobo temporal (GUIEU et al., 1992). Por outro lado, há ainda relatos de dor de cabeça pós-ictal em pacientes epiléticos (ITO et al., 2000; KARAALI-SAVRUN et al., 2002).

A completa elucidação da neuroquímica do processo antinociceptivo evocado pelas crises convulsivas pode representar importante passo para o entendimento das bases neurais do controle e facilitação da dor e dos mecanismos da epilepsia. É provável que o substrato neural discutido no presente trabalho esteja envolvido em processos de inibição e facilitação da dor, assim como na elaboração de processos convulsivos. Através dos presentes resultados, pode ser sugerido que os receptores noradrenérgicos α_2 e β -noradrenérgicos desempenham um papel relevante na citoarquitetura neural que organiza a analgesia pós-ictal.

Portanto, o estudo dos mecanismos subjacentes à elaboração da analgesia pós-ictal pode oferecer nova compreensão dos mecanismos endógenos de inibição e facilitação de dor e pode estabelecer as bases neurais e psicofarmacológicas envolvidas nessa rede neural endógena tanto inibitória quanto facilitatória da dor, esclarecendo quais mediadores neurais são recrutados nestes fenômenos antinociceptivos. Assim, esta investigação poderá ser capaz de gerar dados elucidativos para o

desenvolvimento de drogas efetivas para o tratamento da dor crônica e melhor controle dos mecanismos que geram a epilepsia, além de oferecer novos subsídios para a compreensão e tratamento de alguns relatos de pró-nocicepção ictal ou mesmo oscilações do limiar nociceptivo no período pós-ictal.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos em nosso presente trabalho sugerem que:

- As crises convulsivas evocadas pelo PTZ (64 mg/kg) são capazes de gerar uma clara e persistente analgesia pós-ictal;
- Há envolvimento do sistema noradrenérgico do LC na antinocicepção pós-ictal, pois a administração de ioimbina, propranolol e norepinefrina, em doses crescentes no LC diminuiu a magnitude dos processos antinociceptivos induzidos pelo bloqueio sistêmico de canais de cloreto ligados ao receptor GABA-A, com PTZ;
- Há envolvimento do sistema noradrenérgico do LC na modulação de crises convulsivas tônico-clônicas, pois a administração de ioimbina, propranolol e norepinefrina, em diferentes doses, aumentou a duração das crises convulsivas induzidas pelo PTZ, muito embora não tenha alterado a gravidade das crises convulsivas evocadas no presente trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Segundo as normas da ABNT

ALBE-FESSARD, D.; BERKLEY, K.J.; KRUGER, L.; RALSTON, H.J.; WILLIS JR, W.D. Diencephalic mechanisms of pain sensation. **Brain Res.**, 356:217-96, 1985.

ALMEIDA, A.; TJOLSEN, A.; LIMA, D.; COIMBRA, A.; HOLE, K. The medullary dorsal reticular nucleus facilitates acute nociception in the rat. **Brain Res. Bull.**, 39: 7-15, 1996.

AMABEOKU, G.J.; SYCE, J.A. Propranolol-induced seizures in mice: the role of noradrenaline. **CMLS Cell. Mol.Life Sci.**, 53: 646-651, 1997.

AMARAL, D.G.; SINNAMON, H.M. The locus coeruleus: neurobiology of a central nucleus. **Prog. Neurobiol.**, 9 (3): 147-196, 1977.

ASTIER, B.; VAN BOCKSTAELE, E.J.; ASTON-JONES, G.; PIERIBONE, V.A. Anatomical evidence for multiple pathways leading from the rostral ventrolateral medulla (nucleus paragigantocellularis) to the locus coeruleus in rat. **Neurosci. Lett.**, 118 (2): 141-146, 1990.

BAIK, E.; CHUNG, J.M.; CHUNG, K. Peripheral norepinephrine exacerbates neuritis-induced hyperalgesia. **J. Pain**, 4: 212-221, 2003.

BASBAUM, A.I.; FIELDS, H.L. Endogenous pain control mechanisms: review and hypothesis. **Ann. Neurol.**, 4: 451-462, 1978.

BASBAUM, A.I.; FIELDS, H.L. Endogenous pain control systems: Brainstem spinal pathways and endorphin circuitry. **Ann. Rev. Neurosci.**, 7: 309-338, 1984.

BASBAUM, A.I.; FIELDS, H.L. Endogenous pain control mechanisms. Em: **Textbook of Pain**, P. D. Wall e R. Melzack (eds.), Churchill Livingstone, Edinburg, 2nd ed., pp. 206-217, 1989.

BASBAUM, A.I.; JESSEL, T.M. The perception of pain. In: KANDEL, E.R.; SCHWARTZ, J.H.; JESSEL, T.M. **The Principles of Neural Science**, 4 New York: McGraw-Hill, p. 472-791, 2000.

BEITZ, A.J. The sites of origin of brainstem neurotensin and serotonin projections to the rodent nucleus raphe magnus. **J. Neurosci.**, 2: 829-924, 1982.

BESSON, J.M.; CHAOUCH, A. Peripheral and spinal mechanisms of nociception. **Physiol. Rev.**, 67 (1): 67-186, 1987.

BORMANN, J. The 'ABC' of GABA receptors. **Trends Pharmacol. Sci.**, 21(1):16-9, 2000.

BOWERY, N.G.; PRATT, G.D. GABAB receptors as targets for drug action. **Arzneimittelforschung**, 42(2A):215-23, 1992.

BOWERY, N.G. GABAB receptors and their significance in mammalian pharmacology. **Trends Pharmacol. Sci.**, 10 (10):401-407, 1989.

BRANDÃO, M.L. **Psicofisiologia**. 2ª ed., Editora Atheneu, São Paulo, pp. 197, 1995.

BRIGHTWELL, J.J.; TAYLOR, B.K. Noradrenergic neurons in the locus coeruleus contribute to neuropathic pain. **Neuroscience**, 174-185, 2009.

BROWNSTEIN, M.J.; MROZ, E.A.; TAPPAZ, M.L.; LEEMAN, S.E. On the origin of substance P and glutamic acid decarboxylase (GAD) in the substantia nigra. **Brain. Res.**, 135: 315-323, 1977.

BURSTEIN, R.; GIESLER, G.J. JR. Retrograde labeling of neurons in spinal cord that project directly to nucleus accumbens or the septal nuclei in the rat. **Brain Res.**, 497 (1):149-54, 1989.

CALEJESAN, A.A; KIM, S.J.; ZHUO, M. Descending facilitatory modulation of a behavioral nociceptive response by stimulation in the adult rat anterior cingulate. **Eur. J. Pain**, 4:83-96, 2000.

CARDOSO, S.H.; COIMBRA, N.C.; BRANDÃO, M.L. Defensive reactions evoked by activation of NMDA receptors in distinct sites of the inferior colliculus. *Behav. Brain Res.*, 63: 17-24, 1994.

CASTELLAN-BALDAN, L.; KAWASAKI, M.C.; RIBEIRO, S.J.; CALVO, F.; CORRÊA, V.M.; COIMBRA, N.C. Topographic and functional neuroanatomical study of GABAergic disinhibitory striatum-nigral inputs and inhibitory nigrocollicular pathways: neural hodology recruiting the substantia nigra, pars reticulata, for the modulation of the neural activity in the inferior colliculus involved with panic-like emotions. **J. Chem. Neuroanat.**, 32 (1): 1-27, 2006.

CHAMBA, G.; WEISMANN, D.; ROUSSET, C.; RENAUD, B.; PUJOL, J.F. Distribution of alpha-1 and alpha-2 binding sites in the rat locus coeruleus. **Brain Res. Bull.**, 26: 185-193, 1991.

CLARK, F.M.; PROUDFIT, H.K. The projections of noradrenergic neurons in the A5 catecholamine cell group to the spinal cord in the rat: anatomical evidence that A5 neurons modulate nociception. **Brain Res.**, 616: 200-210, 1993.

COIMBRA, N.C. Identificação de neurônios opioides e serotoninérgicos do teto mesencefálico e seu papel na analgesia induzida por estimulação intracerebral aversiva. **Tese de Doutorado**. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto (SP), 1995.

COIMBRA, N.C.; BRANDÃO, M.L. GABAergic nigro-collicular pathways modulate the defensive behavior elicited by midbrain tectum stimulation. **Behav. Brain Res.**, 59: 131-139, 1993.

COIMBRA, N.C.; BRANDÃO, M.L. Effects of 5-HT₂ receptors blockade on fear-induced analgesia elicited by electrical stimulation of the deep layers of the superior colliculus and dorsal periaqueductal gray. **Behav. Brain Res.**, 87: 97-103, 1997.

COIMBRA, N.C.; CASTRO-SOUZA, C.; SEGATO, E.N.; NORA, J.E.P.; HERRERO, C.F.P.S.; TEDESCHI-FILHO, W.; GARCIA-CAIRASCO, N. Post-ictal analgesia: involvement of opioid, serotonergic and cholinergic mechanisms. **Brain Res.**, 888: 314-320, 2001a.

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. **Exp. Neurol.**, 197: 93-112, 2006.

COIMBRA, N.C.; FREITAS, R.L.; SAVOLDI, M.; CASTRO-SOUZA, C.; SEGATO, E.N.; KISHI, R.; WELTSON, A.; RESENDE, G.C.C. Opioid neurotransmission in the post-ictal analgesia: Involvement of μ 1-opioid receptor. **Brain Res.**, 903: 216-221, 2001b.

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. **Behav. Brain Res.**, 50: 77-83, 1992.

COMMISSION ON CLASSIFICATION AND TERMINOLOGY OF THE INTERNATIONAL LEAGUE AGAINST EPILEPSY. Proposal for revised classification of epileptic syndromes. **Epilepsia**, 30: 389-399, 1989.

CORCORAN, M.E. Characteristics of accelerated kindling after depletion of noradrenaline in adult rats. **Neuropharmacology**, 27: 1081-1084, 1988.

COUTINHO, M.R. Efeito da microinjeção de aminoácidos excitatórios no córtex cingulado anterior e avaliação das suas conexões com a substância cinzenta periaquedutal sobre a modulação da imobilidade tônica e da nocicepção em cobaias. **Tese de Doutorado**. Faculdade de

Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto (SP), 2010.

COUTO, L.B.; MORONI, C.R.; FERREIRA, C.M.R.; ELIAS-FILHO, D.H.; PARADA, C.A.; PELÁ, I.R.; COIMBRA, N.C. Descriptive and functional neuroanatomy of locus coeruleus-noradrenaline-containing neurons involvement in bradykinin-induced antinociception on principal sensory trigeminal nucleus. **J. Chem. Neuroanat.**, 32: 28-45, 2006.

CROSSMAN, A.R.; WALKER, R.J.; WOODRUFF, G.N. Picrotoxic antagonism of gamma-aminobutyric acid inhibitory responses and synaptic inhibition in the rat substantia nigra. **Brit. J. Pharmacol.**, 49: 696-968, 1973.

DAY, H.E.W.; CAMPEAU, S.; WATSON Jr, S.J.; AKIL, H. Distribution of α_{1a} -, α_{1b} - and α_{1d} -adrenergic receptor mRNA in the rat brain and spinal cord. **J. Chem. Neuroanat.**, 13: 115-139, 1997.

DE FREITAS, R.L.; DE OLIVEIRA, R.C.; DE CARVALHO, A.D.; FELIPPOTTI, T.T.; BASSI, G.B.; ELIAS-FILHO, D.H.; COIMBRA, N.C. Role of muscarinic and nicotinic cholinergic receptors in an experimental model of epilepsy-induced analgesia. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 79(2): 367-376, 2004.

DE LIMA, T. C.; RAE, G. A. Effects of cold-restraint and swim stress on convulsions induced by pentylenetetrazol and electroshock: Influence of naloxone pretreatment. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 40: 297-300, 1991.

DE PAULIS, A.; MARESCAUX, C.; LIU, Z.; VERGNES, M. The GABAergic nigro-collicular pathway is not involved in the inhibitory control of audiogenic seizures in the rat. **Neurosci. Lett.**, 111: 269-274, 1990.

DE OLIVEIRA, R.C.; OLIVEIRA, R.; FERREIRA, C.M.R.; COIMBRA, N.C. Involvement of 5-HT₂ serotonergic receptors of the nucleus raphe magnus and nucleus reticularis gigantocellularis/paragigantocellularis complex neural networks in the antinociceptive phenomenon that follows the post-ictal immobility syndrome. **Exp. Neurol.**, 201: 144-153, 2006.

DINCKENSON, A.H.; OLIVERAS, J.L.; BESSON, J.M. Role of the nucleus raphe magnus in opiate analgesia as studied by the microinjection technique in the rat. **Brain Res.**, 170: 95-111, 1979.

DINGLELINE, R.; IVERSEN, L. L.; BREUKER, E. Naloxone as GABA antagonist: Evidence from iontophoretic, receptor binding and convulsant studies. **Brit. J. Pharmacol.**, 47: 19-27, 1978.

DRAY, A.; GONYE, T.J.; OAKLEY, M.R. Caudate stimulation and substantia nigra activity in the rat. **J. Psychol.**, 259 825-849, 1976.

DUBNER, R.; BENNETT, G.J. Spinal and trigeminal mechanisms of nociception. **Annu. Rev. Neurosci.**, 6: 381-418, 1983.

EICHENBERGER, G.C.; RIBEIRO, S.J.; OSAKI, M.Y.; MARUOKA, R.Y.; RESENDE, G.C.; CASTELLAN-BALDAN, L.; CORRÊA, V.M.; DA SILVA, L.A.; COIMBRA, N.C. Neuroanatomical and psychopharmacological evidence for interaction between opioid and GABAergic neural pathways in the modulation of fear and defense elicited by electrical and chemical stimulation of the deep layers of the superior colliculus and dorsal periaqueductal gray matter. **Neuropharmacol.**, 42 (1): 48-59, 2002.

ENNA, S.J.; STERN, L.Z.; WASTEK, G.J.; YAMAMURA, H.I. Cerebrospinal fluid gamma-aminobutyric acid variations in neurological disorders. **Arch. Neurol.**, 34(11):683-5, 1977.

ENNIS, M.; ASTON-JONES, G. A potent excitatory input to the nucleus locus coeruleus from the ventrolateral medulla. **Neurosci. Lett.**, 71 (3): 299-305, 1986.

FANSELOW, M.S.; BOLLES, R.C. Naloxone and shock-elicited freezing in the rat. **J. Comp. Physiol. Psychol.**, 93 (4): 736-744, 1979.

FELTZ, P. Gamma aminobutyric acid and caudate-nigral inhibition. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, 49: 1113-1115, 1971.

FELIPPOTTI, T.T. Envolvimento de receptores opioides μ_1 e das redes neurais do colículo inferior na analgesia pós-ictal. **Dissertação de Mestrado**. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP),

Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto (SP), 2005.

FERREIRA, C.M.R. Estudo do envolvimento de vias noradrenérgicas, e de receptores α e β das redes neurais do *locus coeruleus* na analgesia pós-ictal. **Dissertação de Mestrado**, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto (FFCLRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto (SP), 2004.

FIELDS, H.L.; BASBAUM, A.I. Brainstem control of spinal pain-transmission neurons. **Annu. Rev. Physiol.**, 40: 217-248, 1978.

FIELDS, H.L.; BASBAUM, A.I. Central nervous system mechanisms of pain modulation. In: Wall, P.D.; Melzack, R. **Textbook of pain**. 4th ed. Edinburg: Churchill Livingstone, 309-329, 1999.

FIELDS, H.L.; BRY, J.; HENTALL, I.; ZORMAN, G. The activity of neurons in the rostral medulla of the rat during withdrawal from noxious heat. **J. Neurosci.**, 3: 2545-2552, 1983.

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

FIELDS, H.L.; BASBAUM, A.I.; HEINRICHER, M.M. Central nervous system mechanisms of pain modulation. In MCMAHON, S.B.; KOLTZENBURG, M. WALL AND MELZACK'S, **Textbook of Pain**. 5th ed., China: Elsevier, 125-142, 2006.

FITZGERALD, M.; WALL, P.D. The laminar organization of dorsal horn cells responding to peripheral C fibre stimulation. **Exp. Brain Res.**, 41(1): 36-44, 1980.

FLOREY, E. GABA: History and perspectives. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, 69, 1049-1056, 1991.

FLÓREZ, J. Dolor: mecanismos de transmisión y control, In: **Terapêutica Farmacológica del dolor**. Madrid, p: 19-39, 1993.

FOOTE, S.L.; BLOOM, F.E.; ASTON-JONES, G. Nucleus locus coeruleus: new evidence of anatomical and physiological specificity. **Physiol. Ver.**, 63 (3): 844-914, 1983.

FREITAS, R.L. Envolvimento de circuitos colinérgicos do hipocampo dorsal e de vias opíoides e serotoninérgicas do sistema endógeno de inibição de dor na analgesia pós-ictal. **Tese de Doutorado**. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto (SP), 2010.

FREITAS, R.L.; FERREIRA, C.M.; RIBEIRO, S.J.; CARVALHO, A.D.; ELIAS-FILHO, D.H.; GARCIA-CAIRASCO, N.; COIMBRA, N.C. Intrinsic neural circuits between dorsal midbrain neurons that control fear-induced responses and seizure activity and nuclei of the pain inhibitory system elaborating postictal antinociceptive processes: a functional neuroanatomical and neuropharmacological study. **Exp. Neurol.**, 191 (2): 225-242, 2005.

FURST, S. Transmitters involved in antinociception in the spinal cord. **Brain Res. Bull.**, 48(2): 129-41, 1999.

GARCIA-CAIRASCO, N.; DORETTO, M. C.; RAMALHO, M. J.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; NONAKA, K. O. Audiogenic and audiogenic-like seizures: Locus of induction and seizure severity determine postictal prolactin patterns. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 53 (3): 503-510, 1996a.

GARCIA-CAIRASCO, N.; SABBATINI, R.M.E. Possible interaction between the inferior colliculus and the substantia nigra in audiogenic seizures in rats. **Physiol. Behav.**, 50: 421-427, 1991.

GARCIA-CAIRASCO, N.; WAKAMATSU, H.; OLIVEIRA, J. A. C.; GOMES, E. L. T.; DEL BEL, E.A.; MELLO, L. E. A. M. Neuroethological and morphological (neo-Timm staining) correlates of limbic recruitment during the development of audiogenic kindling in seizures susceptible Wistar rats. **Epilepsy Res.**, 26: 177-192, 1996b.

GEBHART, G.F.; TOLEIKIS, J.R. An evaluation of stimulation produced analgesia in the cat. **Exp. Neurol.**, 62: 570-579, 1978.

GELLMAN, R.L.; KALLIANOS, J.A.; MCNAMARA, J.O. Alpha-2 receptors mediate an endogenous noradrenergic suppression of kindling development. **Epilepsy Res.**, 17: 23-29, 1987.

GIORGI, F.S.; PIZZANELLI, C.; BIAGIONI, F.; MURRI, L.; FORNAI, F. The role of norepinephrine in epilepsy: from the bench to the bedside. **Neurosc. Biobehav. Rev.**, 28: 507-524, 2004.

GOBERT, A.; RIVET, J.K.; AUDINOT, V.; NEWMAN-TANCREDI, A.; CISTARELLI, L.; MILLAN, M.J. Simultaneous quantification of serotonin, dopamine and noradrenaline levels in single frontal cortex dialysates of free-moving rats reveals a complex pattern of reciprocal auto- and heteroreceptor-mediated control release. **Neuroscience**, 84: 413-429, 1998.

GREEN, G.M.; LYONS, L. ; DICKENSON, A.H. Alpha2-adrenoceptor antagonists enhance responses of dorsal horn neurons to formalin induced inflammation. **Eur. J. Pharmacol.**, 347: 201-204, 1998.

GRIDITTI, I.; MAINVILLE, J.; JONES, B.E. Codistribution of GABA with acetylcholine-synthesizing neurons in the basal forebrain of the rat. **J. Comp. Neurol.**, 329,438-457, 1993.

GROSS, R.A.; FERRENDELLI, J.A. Relationships between norepinephrine and cyclic nucleotides in brain and seizure activity. **Neuropharmacol.**, 21: 655-661, 1982.

GUIEU, R.; MESDJIAN, E.; ROGER, J.; DANO, P.; POUGET, J.; SERRATICE, G. Nociceptive threshold in patients with epilepsy. **Epilepsy Res.**, 12: 57-61, 1992.

HAMMOND, D.L, New Insights Regarding Organization of Spinal Cord Pain Pathways. **News Physiol. Sci.**, 4: 98-101, 1989.

HENTALL, I.D.; MESIGIL, R.; PINZON, A.; NOGA, B.R. Temporal and spatial profiles of pontine-evoked monoamine release in the rat's spinal cord. **J. Neurophysiol.**, 89: 2943-2951, 2003.

HÖKFELT, T., KELLERTH, J.O., NILSSON, G.; PERNOW, B. Substance p: localization in the central nervous system and in some primary sensory neurons. **Science**, 190:889-90, 1975.

HOLDEN, J.E.; SHWARTZ, E.J.; PROUDFIT, H.K. Microinjection of morphine in the A7 catecholamine cell group produces opposing effects on nociception that are mediated by alpha1- and alpha2-adrenoceptors. **Neuroscience**, 83: 979-990, 1999.

ITO, M.; NAKAMURA, F.; HONMA, H.; KOBAYASHIM R.; MIYAMOTO, T.; KOYAMA, T. Clinical factors associated with post-ictal headache in patients with epilepsy. **Acta Neurol. Scand.**, 102: 129-131, 2000.

JERLICZ, M.; KOSTOWSKI, W.; BIDZINSKI, A.; HAUPTMAN, M.; DYMECKI, J. Audiogenic seizures in rats: relation to noradrenergic neurons of the locus coeruleus. **Acta Physiol. Pol.**, 29: 409-412, 1978.

JESSEL, T.M.; DODD, J. Neurotransmitters and differentiation antigens in subsets of sensory neurons projecting to the spinal dorsal horn. In: **Neuropeptides in Neurologic and Psychiatric Disease**, J.B. Marin and J.D. Barches (eds.), 1986.

JESSEL, T.M.; IVERSEN, L.L. Opiate analgesics inhibit substance P release from rat trigeminal nucleus. **Nature**, 268: 549-551, 1977.

JESSEL, T.M.; KELLY, D.D. Somatic sensory system IV: Central representation of pain and analgesia. In: **Principles of Neural Science**, Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM (eds) 3rd ed., New York, Elsevier Science Publishing Co Inc, 1991.

JOBE, P.C.; MISHRA, P.K.; BROWNING, R.A.; WANG, C.; ADAMS-CURTIS, L.E.; KO, K.H.; DAILEY, J.W. Noradrenergic abnormalities in the genetically epilepsy-prone rats. **Brain Res. Bull.**, 35: 493-504, 1994.

JONES, S.L.; GEBHART, G.F. Quantitative characterization of ceruleospinal inhibition of nociceptive transmission in the rat. **J. Neurophysiol.**, 56: 1397-1410, 1986.

JONES, R.B.; SATTERLEE, D.G.; RYDER, F.H. Fear of humans in Japanese quail selected for low or high adrenocortical response. **Physiol. Behav.**, 56:379-383, 1994.

JONES, R.B.; SATTERLEE, D.G.; RYDER, F.H. Fear and distress in Japanese quail chicks of two lines genetically for low or high adrenocortical response to immobilization stress. **Horm. Behav.**, 26: 385-393, 1992.

JONES, S.L. Descending noradrenergic influences on pain. **Prog. Brain Res.**, 88: 381-394, 1991.

JORM, C.M.; STAMFORD, J.A. Actions of the hypnotic anaesthetic, dexmedetomidine, on noradrenaline release and cell firing in rat locus coeruleus slices. **Br. J. Anaesth.**, 71: 447-449, 1993.

JULIUS, D.; BASBAUM, A.I. Molecular mechanisms of nociception. **Nature**, 413: 203-210, 2001.

KARAALI-SAVRUN, F.; GÖKSAN, B.; UENI, S.N.; ERTAN, S.; UZUN, N. Seizure-related headache in patients with epilepsy. **Seizure**, 11: 67-69, 2002.

KEENE, J.J.; FIGUEROA, A.L. Motivating, arousing and analgesic effects of central gray stimulation. **Behav. Biol.**, 37:274-282, 1986.

KEVETTER, G.A.; HABER, L.H.; YEZIERSKI, R.P.; CHUNG, J.M.; MARTIN, R.F.; WILLIS, W.D. Cells of origin of the spinoreticular tract in the monkey. **J. Comp. Neurol.**, 207(1):61-74, 1982.

KING, E.W.; AUDETTE, K.; ATHMAN, G.A.; NGUYEN, H.O.; SLUKA, K.A.; FAIRBANKS, C.A. Transcutaneous electrical nerve stimulation activates peripherally located alpha-2A adrenergic receptors. **Pain**, 115: 364-373, 2005.

KISHI, R.; BONGIOVANNI, R.; DE NADAI, T.R.; FREITAS, R.L.; DE OLIVEIRA, R.; FERREIRA, C.M.R.; COIMBRA, N.C. Dorsal raphe nucleus and locus coeruleus neural networks and the elaboration of the sweet

substance-induced antinociception. **Neurosci. Lett.**, 395 (1): 12-17, 2006.

KUNIEDA, T.; ZUSCICK, M.J.; BOONGIRD, A.; PEREZ, D.M.; LUDERS, H.O.; NAJM, I.M. Systemic overexpression of the $\alpha 1B$ adrenergic receptor in mice: an animal model of epilepsy. **Epilepsia**, 43 (11): 1324-1329, 2002.

KWIAT, G.C.; BASBAUM, A.I. The origin of brainstem noradrenergic and serotonergic projections to the spinal cord dorsal horn in the rat. **Somatosens. Mot. Res.**, 9: 157-173, 1992.

LAZAROVA, M.; SAMANIN, R. Potentiation by yohimbine of pentylenetetrazole-induced seizures in rats: role of alpha 2 adrenergic receptors. **Pharmacol. Res. Commun.**, 15: 419-425, 1983.

L'HEUREUX, R.; DENNIS, T. CURET, O.; SCATTON, B. Measurement of endogenous noradrenaline release in the rat cerebral cortex in vivo by transcortical dialysis: effects of drugs affecting noradrenergic transmission. **J. Neurochem.**, 46: 1794-1801, 1986.

LE BARS, D.; GOZARIU, M.; CADDEN, S.W. Animal models of nociception. **Pharmacol. Rev.**, 53 (4): 597-652, 2001.

LI, W.; ZHAO, Z.Q. Yohimbine reduce inhibition of lamina X neurons by stimulation of the locus coeruleus. **Neuroreport**, 4: 751-753, 1993.

LI, X.; ZHAO, Z.; PAN, H.L.; EISENACH, J.C.; PAQUERON, X. Norepinephrine release from spinal synaptosomes: auto- $\alpha 2$ -adrenergic receptor modulation. **Anesthesiology**, 93: 393-402, 2000.

LLOYD, K.G.; WORMS, P. Differential effect of yohimbine in several chemical models of convulsions in mice. **Br. J. Pharmacol.**, 77: 340, 1982.

LÖSHER, W.; CZUCZWAR, S.J. Comparison of drugs with different selectivity for central alpha 1- and alpha 2-adrenoceptors in animal models of epilepsy. **Epilepsy Res.**, 1: 165-172, 1987.

LOUIS, W.J.; PAPANICOLAOU, J.; SUMMERS, R.J.; VAJDA, F.J. Role of central beta-adrenoceptors in the control of pentylenetetrazole-induced convulsions in rats. **Br. J. Pharmacol.**, 75: 441-446, 1982.

LOVE, J.N.; HANDLER, J.A. Toxic Psychosis: An unusual presentation of propranolol intoxication. **Am. J. Emerg. Med.**, 13: 536-537, 1995.

LYONS, W.E.; FRITSCHY, J.M.; GRZANNA, R. The noradrenergic neurotoxin DSP-4 eliminates the ceruleospinal projection but spares projections of the A5 and A7 groups to the ventral horn of the rat spinal cord. **J. Neurosci.**, 9: 1481-1489, 1989.

MAGGIO, R.; GALE, K. Seizures evoked from areas tempestas are subject to control by GABA and glutamate receptors in substantia nigra. **Exp. Neurol.**, 105: 184-188, 1989.

MANYAM, N.V.; KATZ, L.; HARE, T.A.; GERBER, J.C.; GROSSMAN, M.H. Levels of gamma-aminobutyric acid in cerebrospinal fluid in various neurologic disorders. **Arch. Neurol.**, 37(6):352-5, 1980.

MARGERISON, J.H.; CORSELLIS, J.A. Epilepsy and the temporal lobes. A clinical, electroencephalographic and neuropathological study of the brain in epilepsy with particular reference to the temporal lobes. **Brain**, 89(3):499-530, 1966.

MARTINS, M.A. Injeção de glicina na substância periaquedutal dorsal facilita ou inibe a nocicepção dependendo do contexto nociceptivo. **Tese de Doutorado**. Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis (SC), 2009.

MAYER, D.J.; WOLFE, T.L.; AKIL, H.; CARDER, B.; LIEBESKIND, J.C. Analgesia from electrical stimulation in the brain of the rat. **Science**, 174: 1351-1354, 1971.

MCINTYRE, D.C. Amygdala kindling in rats: facilitation after local amygdale norepinephrine depletion with 6-hydroxydopamine. **Exp. Neurol.**, 69: 395-407, 1980.

MCNALLY, G.P. Pain facilitatory circuits in the mammalian central nervous system: their behavioral significance and role in morphine analgesic tolerance. **Neurosc. Biobehav. Rev.**, 23: 1059-1078, 1999.

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

MELZACK, R.; WALL, P.D., Pain mechanisms: a new theory. **Science**, 150 (699): 971-979, 1965.

MENESCAL-DE-OLIVEIRA, L.; BRENTAGANI, M.R.; PEREIRA, A.F.; HOFFMANN, A. The parabrachial regions a possible region modulating simultaneously pain and tonic immobility. **Behav. Brain Res.**, 56: 127-132, 1993.

MERSKEY, H. The definition of pain. **Eur. Psychiatry**, 6: 153-159, 1991.

MILLAN, M.J. The induction of pain: an integrative review. **Prog. Neurobiol.**, 57: 1-164, 1999.

MILLAN, M.J. Descending control of pain. **Prog. Neurobiol.**, 66 (6): 355-474, 2002.

MILLER, R.J. Peptides as neurotransmitters: focus on the enkephalins and endorphins. **Pharm. Ther.**, 12: 73-108, 1981.

MOKHA, S.S.; MCMILLAN, J.A.; IGGO, A. Descending control of spinal nociceptive transmission. Actions produced on spinal multireceptive neurons from the nuclei locus coeruleus and raphe magnus. **Exp. Brain Res.**, 58: 213-226, 1985.

MUDGE, A.W.; LECMAN, S.F.; FISCHBACH, G.D. Enkephalin inhibits release of substance P from sensory neurons in culture and decreases action potential duration. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 76: 526-530, 1979.

NASHOLD, B.S.; WILSON, W.P.; SLAUGHTER, D.E. Sensations evoked by stimulation in the midbrain of man. **J. Neurosurg.**, 30: 14-24, 1969.

NISHIKAWA, T.; SCATTON, B. Evidence for a GABAergic inhibitory influence on serotonergic neurons originating from the dorsal raphe. **Brain Res.**, 279: 325-329, 1983.

NOBACK, C.R.; STROMINGER, N.L.; DEMAREST, R.J. The human nervous system: structure and function. In: **Pain and temperature**, Williams; Wilkins (eds), 1996.

OERTEL, W.H.; SCHMECHEL, D.E.; BROWNSTEIN, M.J.; TAPPAZ, M.L.; RANSON, D.H.; KOPIN, J.J. Decrease of glutamate decarboxylase (GAD) immunoreactive nerve terminals in the substantia nigra after kainic acid lesion of the striatum. **J. Histochem. Cytochem.**, 29: 977-980, 1981.

OISHI, R.; SUENAGA, N.; HIDAKA, T.; FUKUDA, T. The role of alpha-adrenoceptors in the regulation of pentylentetrazol convulsions in mice. **J. Pharm. Pharmacol.**, 31: 709-710, 1979.

OKADA, Y. Distribution of gamma-aminobutyric acid (GABA) in the deep layers of the superior colliculus of the rabbit. **Brain Res.**, 75: 362-366, 1974.

OKADA, Y.; NITSCH-HASLER, C.; KIM, J.S.; BACK, U.; HASLER, R. Role of g-aminobutyric acid (GABA) in the extra pyramidal motor system. 1. Regional distribution of GABA in rabbit, rat, guinea pig and baboon CNS. **Exp. Brain Res.**, 13: 514-518, 1971.

OLIVEIRA, M.A.; PRADO, W.A. Antinociception and behavioral manifestations induced by intracerebroventricular or intra-amygdaloid administration of cholinergic agonists in the rat. **Pain**, 57: 383-391, 1994.

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

OSAKI, M.Y.; CASTELLAN-BALDAN, L.; CALVO, F.; CARVALHO, A.D.; FELIPPOTTI, T.T.; DE OLIVEIRA, R.; UBIALI, W.; PASCHOALIN-MAURIN, T.; ELIAS-FILHO, D.H.; MOTTA, V.; DA SILVA, L.A.; COIMBRA, N.C. Neuroanatomical and neuropharmacological study of opioid pathways in the mesencephalic tectum: effect of mu1-and-kappa-opioid receptor blockade on escape behavior induced by electrical stimulation of the inferior colliculus. **Brain Res.**, 2: 179-192, 2003.

PALFAI, T.; ALBALA, B. Pentylenetetrazole-induced amnesia: a case for overt seizures. **Psychopharmacology**, 48 (1): 19-23, 1976.

PAPANICOLAOU, J.; SUMMERS, R.J.; VAJDA, F.J.; LOUIS, W.J. Anticonvulsant effects of clonidine mediated through central alpha2-adrenoceptors. **Eur. J. Pharmacol.**, 77: 163-166, 1982a.

PAXINOS, G; WATSON, C. **"The Rat Brain"** In stereotaxic coordinates, 1997.

PERTOVAARA, A. Noradrenergic pain modulation. **Prog. Neurobiol.**, 80: 53-83, 2006.

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

PRECHT, W.; YOSHIDA, M. Blockade of caudate-evoked inhibition of neurons in the substantia nigra by picrotoxin. **Brain Res.**, 32: 229-233, 1971.

PROUDFIT, H.K.; CLARK, F.M. The projections of locus coeruleus neurons to the spinal cord. **Prog. Brain Res.**, 88: 123-141, 1991.

PROUDFIT, H.K. Pharmacologic evidence for the modulation of nociception by noradrenergic neurons. **Prog. Brain Res.**, 77: 357-370, 1988.

PURVES, D.; AUGUSTINE, G.; FITZPATRICK, D.; LAWRENCE, K.; ANTHONY, S.L.; MACNAMARA, S.; MARK, W. **Neuroscience**, 2nd ed.,

2001.

RACINE, R.J. Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. **Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.**, 32: 281-294, 1972.

RANG, H.P.; BEVANS, S.J.; DRAY, A. Chemical activation of nociceptive peripheral neurons. **Br. Med. Bull.**, 47:534-548, 1991.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; MOORE, P.K. **Farmacologia**. 5ª ed., Rio de Janeiro: Elsevier, 2004.

REDDY, S.V.; YAKSH, T.L. Spinal noradrenergic terminal system mediates antinociception. **Brain Res.**, 189: 391-401, 1980.

REXED, B. The cytoarchitectonic organization of the spinal cord in the rat. **J. Comp. Neurol.**, 96, 415-466, 1952.

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

RHODES, D.L. Periventricular system lesions in stimulation-produced analgesia. **Pain**, 7: 31-51, 1979.

RIBAK, C.E.; MANIO, A.L.; NAVETTA, M.S.; GALL, C.M. In situ hybridization for c-fos mRNA reveals the involvement of the superior colliculus in the propagation of seizure activity in genetically epilepsy-prone rats. **Epilepsy Res.**, 26: 397-406, 1997.

RIBAK, C.E.; MORIN, C.L. The role of the inferior colliculus in a genetic model of audiogenic seizures. **Anat. Embryol.**, 191: 279-295, 1995.

RINVIC, E.; GROFOVÁ, I.; OTTERSEN, O.P. Demonstration of nigrotectal and nigroreticular projections in the cat by axonal transport of protein. **Brain Res.**, 112: 388-394, 1976.

ROBERTS, E.; FRANKEL, S. gamma-Aminobutyric acid in brain: its formation from glutamic acid. **J. Biol. Chem.**, 187: 55-63, 1950.

RYU, J.R.; JOBE, P.C.; MILBRANDT, J.C.; MISHRA, P.K.; CLOUGH, R.W.; BROWNING, R.A.; DAILEY, J.W.; SEO, D.O.; KO, K.H. Morphological deficits in noradrenergic neurons in GEPR-9s stem from abnormalities in both the locus coeruleus and its target tissues. **Exp. Neurol.**, 156 (1): 84-91, 1999.

SAGAR, H.J.; OXBURY, J.M. Hippocampal neuron loss in temporal lobe epilepsy: correlation with early childhood convulsions. **Ann. Neurol.**, 22(3): 334-340, 1987.

SAGEN, J.; PROUDFIT, H.K. Effect of intrathecally administered noradrenergic antagonists on nociception in the rat. **Brain Res.**, 310 (2): 295-301, 1984.

SAGEN, J.; PROUDFIT, H.K. Evidence for pain modulation by pre- and postsynaptic noradrenergic receptors in the medulla oblongata. **Brain Res.**, 331 (2): 285-293, 1985.

SAJEDIANFARD, J.; KHATAMI, S.; SEMNANIAN, S.; NAGHDI, N.; JORJANI, M. In vivo measurement of noradrenaline in the locus coeruleus of rats during the formalin test: a microdialysis study. **Eur. J. Pharmacol.**, 512: 153-156, 2005.

SAKURADA, T.; KOMATSU, T.; SAKURADA, S. Mechanisms of nociception evoked by intrathecal high-dose morphine. **Neurotoxicology**, 26: 801-809, 2005.

SANDNER, G.; DESSORT, D.; SCHMITT, P.; KARLI, P. Distribution of GABA in the periaqueductal gray matter. Effects of medial hypothalamic lesions. **Brain Res.**, 224: 279-290, 1981.

SCHATTSCHEIDER, J.; SCARANO, M.; BINDER, A.; WASNER, G.; BARON, R. Modulation of sensitized C-fibers by adrenergic stimulation in human neuropathic pain. **Eur. J. Pain**, 12: 517-524, 2008.

SCHEININ, M.; LOMASNEY, J.W.; HAYDEN-HIXSON, D.M.; SCHAMBRA,

U.B.; CARON, M.G.; LEFKOWITZ, R.J.; FREMEAU Jr, R.T. Distribution of alpha 2-adrenergic receptor subtype gene expression in rat brain. **Mol. Brain Res.**, 21: 133-149, 1994.

SCHOFIELD, P.R. Sequence and functional expression of the GABA-A receptor shows a ligand- gated receptor super-family. **Nature**, 328: 221-227, 1987.

SHIRAISHI, S.; SHIRAISHI, Y.; OLIVER, D.L.; ALTSCHULER, R.A. Expression of GABA(A) receptor subunits in the rat central nucleus of the inferior colliculus. **Mol. Brain Res.**, 96: 122-132, 2001.

SILVA, L.F.S.; COUTINHO, M.R.; MENESCAL-DE-OLIVEIRA, L. Opioidergic and GABAergic mechanisms in the rostral ventromedial medulla modulate the nociceptive response of vocalization in guinea pigs. **Brain Res. Bull.**, no prelo, 2010.

SILVA, L.F.S. Envolvimento de circuitos opioidérgicos e GABAérgicos do núcleo magno da rafe e sua conexão com a área parabraquial ventral na modulação das respostas de imobilidade tônica e nociceptiva em cobaias. **Tese de Doutorado**. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto (SP), 2006.

SPIEGEL, B.A.; KETZKIN, M.; SZEKELY, E.G. Pain reaction upon stimulation of the mesencephalic tectum. **J. Neuropathol. Exp. Neurol.**, 13: 212-220, 1954.

TEIXEIRA, M.J. A Lesão do Trato de Lissauer e do Corno Posterior da Substância Cinzenta da Medula Espinhal e a Estimulação do Sistema Nervoso Central para o Tratamento da Dor por Desafferentação. **Tese de Doutorado**. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, (FMUSP), Universidade de São Paulo (USP), São Paulo (SP), 1990.

TODD, A.J.; WATT, C.; SPIKE, R.C.; SIEGHART, W. Colocalization of GABA, glycine, and their receptors at synapses in the rat spinal cord. **J. Neurosci.**, 16 (3): 974-982, 1996.

TSURUOKA, M.; WILLIS Jr., W.D. Bilateral lesions in the area of the nucleus coeruleus affect the development of hyperalgesia during carrageenan-induced inflammation. **Brain Res.**, 726: 233-236, 1996.

TSURUOKA, M.; ARAI, Y.C.; NOMURA, H.; MATSUTANI, K.; WILLIS, W.D. Unilateral hindpaw inflammation induces bilateral activation of the locus coeruleus and the nucleus subcoeruleus in the rat. **Brain Res. Bull.**, 61: 117-123, 2003.

TSURUOKA, M.; MAEDA, M; NAGASAWAS, I.; INOUE, T. Spinal pathways mediating coeruleospinal antinociception in the rat. **Neurosci. Lett.**, 362: 236-239, 2004.

TSUTSUI, J.; TERRA, V.C.; OLIVEIRA, J.A.C.; GARCIA-CAIRASCO, N. Neuroethological evaluation of audiogenic seizures and audiogenic-like seizures induced by microinjection of bicuculline into the inferior colliculus. I. Effects of midcollicular knife cuts. **Behav. Brain Res.**, 52: 7-17, 1992.

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

VOISIN, D.L.; GUY, N.; CHALUS, M.; DALLEL, R. Nociceptive stimulation activates locus coeruleus neurons projecting to the somatosensory thalamus in the rat. **J. Physiol.**, 566: 929-937, 2005.

WANAKA, A.; KIYAMA, H.; MURAKAMI, T.; MATSUMOTO, M.; KAMADA, T.; MALBON, C.C.; TOHYAMA, M. Immunocytochemical localization of β -adrenergic receptors in the rat brain. **Brain Res.**, 485 (1): 125-140, 1989

WANG, Q.P.; NAKAI, Y. Enkephalinergic innervation of GABAergic neurons in the dorsal raphe nucleus of the rat. **Brain Res. Bull.**, 32(3):315-20, 1993.

WEINSHENKER, D.; SZOT, P. The role of catecholamines in seizure susceptibility: new results using genetically engineered mice. **Pharmacol. Therap.**, 94: 213-233, 2002.

WEINSTEIN, R.S.; COLE, S.; KNASTER, H.B.; DAHLBERT, T. Beta blocker overdose with propranolol and with atenolol. **Ann. Emerg. Med.**, 14 (2): 161-163, 1985.

WESTLUND, K.N.; COUTLER, J.D. Descending projections of the locus coeruleus and subcoeruleus/medial parabrachial nuclei in monkey: axonal transport studies and dopamine- β -hydroxylase immunocytochemistry. **Brain Res. Rev.**, 2: 235-264, 1980

WIBERG, M.; BLOMQVIST, A. The spinomesencephalic tract in the cat: its cells of origin and termination pattern as demonstrated by the intraaxonal transport method. **Brain Res.**, 291(1): 1-18, 1984.

WILLIS, W.D. Nociceptive pathways: anatomy and physiology of nociceptive ascending pathways. **Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.**, 308 (1136): 253-70, 1985.

WILLIS, W.D.; COGGESHALL, R.E. **Sensory mechanisms of the spinal cord**. p. 595. Plenum Press, New York, 1991.

WILLIS, W.D.; WESTLUND, K.N. Neuroanatomy of the pain system and of the pathways that modulate pain. **J. Clin. Neurophysiol.**, 14 (1): 2-31, 1997.

WOOLF, C.J. A new strategy for the treatment of inflammatory pain. Prevention or elimination of central sensitization. **Drugs**, 5: 1-9, 1994.

WU, H-Q.; TULLI, SAMANIN, R.; VEZZANI, A. Norepinephrine modulates seizures induced by quinolic acid in rats: selective and distinct roles of α -adrenoceptor subtypes. **Eur. J. Pharmacol.**, 138: 309-318, 1987.

XANTHOS, D.N.; BENNETT, G.J.; CODERRE, T.J. Norepinephrine induced nociception and vasoconstrictor hypersensitivity in rats with chronic post-ischemia pain. **Pain**, 137: 640-651, 2008.

YEOMANS, D.C.; CLARK, F.M. PAICE, J.A.; PROUDFIT, H.K. Antinociception induced by electrical stimulation of spinally projecting

noradrenergic neurons in the A7 catecholamine cell group of the rat. **Pain**, 48 (3): 449-461, 1992.

ZHANG, C.; YANG, S-W.; GUO, Y-Q.; QIAO, J-T.; DAFNY, N. Locus coeruleus stimulation modulates the nociceptive response in parafascicular neurons: An analysis of descending and ascending pathways. **Brain Res. Bull.**, 42 (4): 273-278, 1997.

ZHANG, C. GUO, Y-Q, QIAO, J-T ; DAFNY, N. Locus coeruleus modulates thalamic nociceptive responses via adrenoceptors. **Brain Res.**, 784: 116-122, 1998.

ZHANG, X.: WENK, H.N.: GOKIN, A.P.: HONDA, C.N.; GIESLER JR., G.J. Physiological studies of spinothalamic tract neurons in the lumbar enlargement of monkeys. **J. Neurophysiol.**, 82: 1054-1058, 1999.

ZHANG, X.: HONDA, C.N.; GIESLER JR., G.J. Position of spinothalamic tract axons in upper cervical spinal cord of monkeys. **J. Neurophysiol.**, 84: 1180-1185, 2000.

ZHANG, G-W.; YANG, C-X.; GAO, H-R.; ZHANG, D.; ZHANG, Y.; JIAO, R-S.; ZHANG, H.; LIANG, Y.; XU, M-Y. Microinjection of different doses of norepinephrine into the caudate putamen produces opposing effects in rats. **Neurosci. Lett.**, 471: 125-128, 2010.

ZUSCICK, M.J.; SANDS, S.; ROSS, S.A.; WAUGH, D.J.J.; GAIVIN, R.J.; MORILAK, D.; PEREZ, D.M. Overexpression of the $\alpha 1B$ adrenergic receptor causes apoptotic neurodegeneration: multiple system atrophy. **Nat. Med.**, 6: 1388-1394, 2000.

ANEXOS

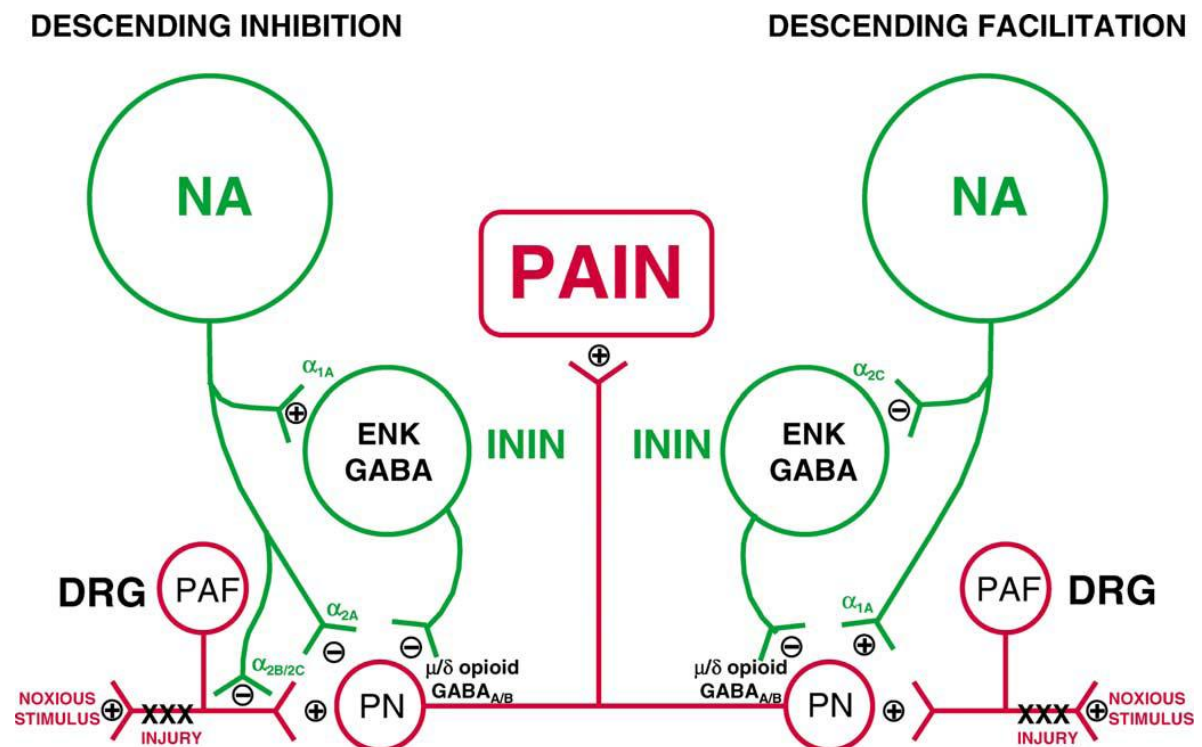


Figura 16. Representação esquemática das múltiplas classes de receptores noradrenérgicos e sua localização neuronal divergente para a modulação de processos nociceptivos processados no CDME. À esquerda, mecanismos mediando a inibição descendente são indicados. À direita aqueles que expressam a facilitação descendente são mostrados. As ações exercidas nas fibras dos terminais aferentes primários (PAFs), neurônios de projeção (PNs) e interneurônios inibitórios (ININs). Para maior clareza, interneurônios excitatórios são omitidos, modulação que seria essencialmente idêntica aos PNs. Similarmente, ações de ININs nas PAFs são omitidas. Encefalina (ENK) e GABA são indicados como transmissores nos ININs em virtude das suas principais funções antinociceptivas e evidências anatômicas de que os neurônios encefalinérgicos são alvo das projeções noradrenérgicas ao CDME. Note que os receptores α_2 -noradrenérgicos (2-ARs) suprimem a atividade neuronal, enquanto que a excitabilidade é aumentada pelos receptores α_1 -noradrenérgicos (1-ARs). DRG= gânglio da raiz dorsal; NA=noradrenalina. Modificado de MILLAN (2002).

Tabela 3. Resumo dos resultados mostrando o efeito dos fármacos microinjetados no LC sobre a analgesia pós-ictal e as crises convulsivas, quando comparados ao controle (salina). As crises convulsivas foram induzidas pela administração de PTZ (64mg/kg; IP). IOB=ioimbina; PPN=propranolol e NE=norepinefrina, os números que as seguem são relativos às concentrações, onde, 1 = 1µg/0,2µL; 3 = 3µg/0,2µL e 5 = 5µg/0,2µL.

Tratamento (LC)	Antinocicepção Janela Temporal (0 a 180min)	Crises Convulsivas			
		Latência (s)	Duração (s)	Frequência	Índice gravidade
IOB-1	40 a 60min	-	↑	-	-
IOB-3	0 a 120 min	-	-	-	-
IOB-5	40 a 60 min	-	-	-	-
PPN-1	0 a 60min	-	↑	↑	-
PPN-3	20 a 60min	-	↑	-	-
PPN-5	0 a 60min	-	-	-	-
NE-1	0 a 60min	-	-	-	-
NE-3	20 a 60min	-	↑	-	-
NE-5	20 a 60min	-	↑	-	-

Tabela 4. (A) Histórico dos estudos farmacológicos através de administrações de antagonistas por via intraperitoneal (IP); **(B)** Histórico dos estudos neurofisiológicos através de microinjeções de ácido ibotênico ou de cloreto de cobalto em diversos substratos neurais; **(C)** Histórico dos estudos neurofarmacológicos através de microinjeções de antagonistas em diversos substratos neurais. **(D)** Estudo neurofarmacológico através da microinjeção de agonista no LC. Modificado de FREITAS (2010).

	Referência	Via de administração	Antagonista	Receptor
A	Coimbra et al., 2001a	IP	Naloxona Atropina Metisergida Cetanserina	Opioide (não-seletivo) Muscarínico 5-HT (não seletivo) 5-HT _{2A/2C}
	Coimbra et al., 2001b	IP	Naltrexona Naloxonazina	Opioide (não seletivo) μ_1 -opioide
	De Freitas et al., 2004	IP	Atropina Mecamilamina	Muscarínico Nicotínico
	Felippotti, 2005	IP (10min) IP (24h)	Naloxonazina Naloxonazina	μ_1 -opioide μ_1 -opioide
	Freitas et al., 2005	IP	Metisergida Cetanserina Ioimbina Propranolol	5-HT (não seletivo) 5-HT _{2A/2C} α_2 -noradrenérgico β -noradrenérgico
	Freitas et al., 2009	IP	Metiotepina	5-HT _{1A} (pré-sináptico) 5-HT _{1A/1B} , 5-HT ₆ , 5-HT ₇

	Referência	Substrato Neural	Antagonista	Mecanismo
B	Freitas et al., 2005	LC	Ácido ibotênico	Lesão neurotóxica
	De Oliveira et al., 2006	NRg/NRPg e NMgR	Ácido ibotênico	Lesão neurotóxica
	Zanandréa et al., 2007	NPtA	Ácido ibotênico	Lesão neurotóxica
	Freitas et al., 2008	NDR	Ácido ibotênico	Lesão neurotóxica
	De Oliveira, 2009	NTPP	Ácido ibotênico	Lesão neurotóxica
	Freitas et al., 2010	Hd, SCPdm/vl e LC	Cloreto de Cobalto	Bloqueio de Sinapse

	Referência	Substrato Neural	Antagonista	Receptor
C	Felippotti, 2005	CI	Naloxonazina	μ_1 -opioide
	De Oliveira et al., 2006	CPGc/NRGc e NMgR	Metisergida Ritanserina	5-HT (não seletivo) 5-HT _{2A/2C}
	Bassi et al., 2006	NTPP	Atropina Mecamilamina	Muscarínico nicotínico
	Zanandréa, 2007	NPtA	Naloxonazina Ritanserina	μ_1 -opioide 5-HT _{2A/2C}
	Freitas et al., 2008	NDR	Metisergida Cetanserina	5-HT (não seletivo) 5-HT _{2A/2C}
	Freitas et al., 2009	NDR	Metiotepina	5-HT _{1A} (pré-sináptico) 5-HT _{1A/1B} , 5-HT ₆ , 5-HT ₇
	De Oliveira, 2009	NDR, NMgR e LC	Atropina Mecamilamina	Muscarínico nicotínico
	Freitas, 2010	Hd	Atropina Mecamilamina	Muscarínico nicotínico
	Freitas, 2010	SCPdm/vl e LC	Naltrexona Naloxonazina Metisergida Cetanserina	Opioide (não seletivo) μ_1 -opioide 5-HT (não seletivo) 5-HT _{2A/2C}
	Felippotti, 2010 (TESE)	LC	Ioimbina Propranolol	α_2 -noradrenérgico β -noradrenérgico

	Referência	Substrato Neural	Agonista	Receptor
D	Felippotti, 2010 (TESE)	LC	Norepinefrina	Agonista (não seletivo)

Post-scriptum: Todos os tratamentos diminuíram a analgesia pós-ictal

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](#)