

ANTINOCICEPÇÃO ENDÓGENA

Laboratório de Neurofisiologia

Prof^a.Dr^a. Leda Menescal de Oliveira

Luis Felipe Souza da Silva

Mariulza Rocha Brentegani

INTRODUÇÃO

De acordo com a *International Association of Study of Pain* (IASP), dor pode ser definida como: “uma experiência sensorial e emocional desagradável associada com o atual ou potencial dano tecidual ou descrita em termos deste dano”. O fenômeno da dor é claramente uma experiência sensorial-emocional que está fortemente ligada a sensações somáticas, com algo de qualidade única. Assim, a quantificação da dor e conseqüentemente da analgesia sofre influências de vários fatores incluindo o estado emocional. Uma forma alternativa para se medir a analgesia é o uso de modelos animais. Alguns autores sugerem que certos testes algesimétricos podem revelar diferentes sistemas produzindo antinocicepção ou diferentes características em um único sistema antinociceptivo (DENNIS & MELZACK, 1979).

Estresse X Analgesia

A analgesia ou mais apropriadamente a hipoalgesia pode ser induzida por diferentes formas de estresse. O teste de natação forçada é uma forma de estresse ambiental utilizado em laboratório principalmente em ratos e camundongos. Diversos fatores contribuem para o tipo e duração da analgesia induzida por este tipo de estresse. Segundo alguns autores, dependendo da temperatura da água, da temperatura ambiental e do tempo em que o animal permanece nadando, a analgesia poderá ser do tipo opióide ou não opióide.

OBJETIVOS

Utilizando-se 3 testes algesimétricos diferentes, avaliar o efeito do estresse ambiental sobre o limiar nociceptivo. Discutir os mecanismos antinociceptivos relacionados com cada tipo de teste.

PROTOSCOLOS EXPERIMENTAIS

1. Método Da Placa Quente

Será utilizado o método de placa quente de WOOLFE e MAC DONALD (1944) modificado para ratos. Os animais serão colocados sobre uma placa de alumínio mantida a 52°C por meio de água aquecida em um banho, com controle de temperatura. Sobre a placa será colocada uma caixa de acrílico para contenção do animal. A resposta observada será o lambar de uma das patas traseiras, cronometrando - se o tempo decorrido desde que o animal é colocado na placa quente até a emissão da resposta (latência em segundos). Decorridos 30 segundos, se o animal não apresentar o comportamento de lambar uma das patas, o mesmo deverá ser retirado da placa para se evitar possíveis danos teciduais.

Serão utilizados 10 ratos previamente adaptados às condições ambientais do experimento. Inicialmente, determinar a latência basal (linha de base) da resposta emitida pelo animal quando colocado sobre a placa quente a 52°C. Esta será a média de três medidas efetuadas em intervalos aleatórios de 1 a 3 minutos para cada animal. Após a determinação da linha de base os animais serão divididos em dois grupos experimentais:

Grupo 1: em 5 animais injetar i.p. 0,5 ml de Salina;

Grupo 2: em outros 5 animais administrar pela mesma via 0,5 ml de Naloxone (1mg/kg, antagonista opióide).

Após 15 minutos submeter os animais individualmente ao estresse pelo teste da natação forçada durante 3 minutos em água a $\pm 26^{\circ} C$.

Enxugá-los e após 2 minutos submete-los novamente ao teste experimental na placa quente. Efetuar 5 medidas das latências após 2, 10, 20, 30 e 45 minutos do tratamento. Comparar os resultados das latências médias de ambos os grupos antes e após o tratamento + estresse ambiental. Fazer gráficos e discutir os resultados obtidos.

Na análise dos dados utilizar os valores normalizados pela fórmula:

$$IAPQ = \frac{\text{tempo de latência} - \text{linha de base}}{30 - \text{linha de base}}$$

IAPQ = índice de antinociceção da placa quente; o tempo de latência corresponde ao tempo que o animal leva para emitir a resposta após o tratamento experimental, linha de base é a duração da latência no período controle e o valor 30 corresponde ao tempo de corte do estímulo nocivo em segundos.

2. Método De Retirada Da Cauda (“Tail-Flick”)

Os animais serão colocados em um aparato para contenção, e terão a porção distal (3 a 4 cm) de sua cauda colocada sobre uma resistência, que é aquecida por corrente elétrica. Cronometra-se o tempo em segundos (latência) que o animal leva para emitir o reflexo, ou seja, retirar a cauda. Caso o animal não remova a cauda da fonte de calor dentro de 6 s, o dispositivo será afastado para prevenir possíveis danos teciduais. Antes de efetuar-se qualquer tratamento deve-se determinar a latência basal da resposta em segundos para cada animal, por 3 vezes consecutivas, a intervalos aleatórios de 1 a 3 minutos. A média da latência das três respostas deverá ser considerada como valor basal.

Serão utilizados 10 ratos divididos em dois grupos experimentais:

Grupo 1: em 5 animais injetar i.p. 0,5 ml de Salina; após 15 minutos submeter os animais individualmente ao estresse pelo teste da natação em água a $\pm 26^{\circ}\text{C}$ durante 3 minutos, e em seguida realizar as mediadas da latência da tail-flick nos intervalos de 2, 10, 20, 30 e 45 minutos após.

Grupo 2: em outros 5 administrar i.p. 0,5 ml de Naloxone (1mg/kg), após 15 minutos submeter os animais individualmente ao estresse pelo teste da natação em água a $\pm 26^{\circ}\text{C}$ durante 3 minutos, e em seguida realizar as medidas da latência do tail-flick nos intervalos de 2, 10, 20, 30 e 45 minutos após.

Comparar os resultados das latências médias dos grupos antes e após o tratamento + estresse ambiental. Fazer gráficos e discutir os resultados obtidos.

Na análise dos dados utilizar os valores normalizados pela fórmula:

$$\text{IARC} = \frac{\text{tempo de latência} - \text{linha de base}}{6 - \text{linha de base}}$$

IARC = índice de antinocicepção do teste de retirada da cauda; o tempo de latência corresponde ao tempo que o animal leva para emitir a resposta após o tratamento experimental; linha de base é a duração da latência no período controle e o valor 6 corresponde ao tempo de corte do estímulo nocivo em segundos.

3-Teste da formalina

A injeção subcutânea de formalina no dorso da pata do animal produz uma resposta de dor bifásica bem caracterizada em ratos (DUBUISSON e DENNIS, 1977). Esta resposta envolve dois comportamentos indicativos de percepção dolorosa que podem ser quantificados. Após a formalina, o animal apresenta sacudidas rápidas da pata injetada bem como o comportamento de lambe e/ou de leves mordidas.

A primeira fase da dor ocorre imediatamente após a injeção de formalina (0 a 5 minutos), devido à estimulação direta dos nociceptores, enquanto que a segunda fase ou a fase tônica, deve-se ao surgimento de processos inflamatórios, e pode ocorrer por volta dos 20 minutos após a injeção de formalina, atingindo um platô após cerca de uma hora. Entre as duas fases há um período intermediário de pouca ou nenhuma dor, onde as respostas nociceptivas são reduzidas ou suprimidas.

Animais: ratos machos Wistar, peso corporal ao redor de 250g.

Material e Métodos: caixa de acrílico, cronômetro, seringas de 1ml, solução de formol a 5%.

Procedimento Experimental:

Serão utilizados 10 ratos divididos em dois grupos:

Grupo 1: injetar s.c. 0,05 ml de formalina (5%) na superfície dorsal de uma das patas traseiras do animal. Colocar o animal em uma caixa de acrílico para observação. Quantificar o número de sacudidas e lambidas na pata injetada, a intervalos de 5 minutos, durante 40 minutos.

Grupo 2: submeter os animais individualmente ao estresse pelo teste da natação em água ± 26 °C durante 3 minutos, e em seguida injetar formalina conforme procedimento utilizado no grupo 1. Quantificar as respostas considerando os mesmos intervalos acima descritos.

Comparar os dados dos dois grupos e discutir os resultados.

RESULTADOS

TEMPO (min)	Nº de SACUDIDAS	Nº de LAMBIDAS
0 a 5		
6 a 10		
11 a 15		
16 a 20		
20 a 25		
26 a 30		
30 a 35		
36 a 40		

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- D'AMOUR, F.E. & SMITH, D.L. Method for determining loss of pain sensation. **Journal Pharmacology Experimental Therapy**, v.72, p. 74-79, 1941.
- DENNIS, S.G. & MELZAC, R. Comparison of phasic and tonic pain in animals. In J.J. BONICA; J.C. LIEBESKIND & D.G. ALBE-FESSARD (eds). **Advances in Pain Research and Therapy**, Raven Press, New York, 1979, v.3, p.747-760.
- DENNIS, S.G.; MELZACK, R.; GUTMAN, S. & BOUCHEER, F. Pain modulation by adrenergic agents and morphine as measured by three pain tests. **Life Science**, v.26, p.1247-1259, 1980.
- DUBUISSON, D. & DENNIS, S.G. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine and brain stem stimulation in rats and cats. **Pain**, v.4, p.161-174, 1977.
- KURASHI, Y.; HARADA, Y.; ARATANI, S., SATOH, M. & TAKAGI, H. Separate involvement of the spinal noradrenergic and serotonergic system morphine analgesia: the differences in mechanical and thermal analgesic tests. **Brain Research**, v.273, p.245-252, 1983.