

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

COMPARAÇÃO DOS EFEITOS COMPORTAMENTAIS INDUZIDOS
PELA INJEÇÃO SISTÊMICA DE ANESTÉSICOS LOCAIS
EM CAMUNDONGOS

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Farmacologia do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Farmacologia.
Orientador: Prof. Dr. Reinaldo Naoto Takahashi

ADRIANA REGINA RIGON

Florianópolis
1995

RIGON, Adriana Regina. Comparação dos efeitos comportamentais induzidos pela injeção sistêmica de anestésicos locais em camundongos. Florianópolis, 1995. 91f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Curso de Pós Graduação em Farmacologia, Universidade Federal de Santa Catarina.

**Orientador: Prof. Dr. Reinaldo Naoto Takahashi
Defesa: 17/03/95**

Existem evidências de que alguns [anestésicos locais], além da cocaína, exibem [efeitos comportamentais] similares àqueles induzidos pelas drogas psicoestimulantes. Assim, este estudo investiga os efeitos da dimetocaína, procaína e lidocaína injetadas sistemicamente em [camundongos] numa bateria de testes que presumivelmente refletem uma ação central. Tais testes incluíram a atividade locomotora, a preferência condicionada de lugar, o labirinto em cruz elevado e a analgesia. Os resultados obtidos, considerados em conjunto, sugerem que entre os anestésicos locais usados, a dimetocaína apresentou significantes efeitos comportamentais, semelhantes àqueles induzidos pela cocaína. Porém, a lidocaína e a procaína foram efetivas em algumas medidas comportamentais, sugerindo possível efeito central dessas substâncias.

**"COMPARAÇÃO DOS EFEITOS COMPORTAMENTAIS
INDUZIDOS PELA INJEÇÃO SISTÊMICA DE
ANESTÉSICOS LOCAIS EM CAMUNDONGOS"**

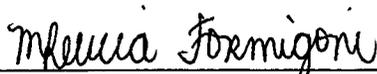
POR

ADRIANA REGINA RIGON

Dissertação julgada e aprovada em sua forma final, pelo Orientador e membros da Banca Examinadora, composta pelos Professores Doutores:



Prof. Dr. Reinaldo Naoto Takahashi



Prof^a Dr^a Maria Lúcia de Oliveira S. Formigoni



Prof^a Dr^a Gina Struffaldi Morato

Florianópolis, março de 1995.

AGRADECIMENTOS

Ao prof. Dr. Reinaldo N. Takahashi por me iniciar na vida científica, pela idealização e pela valorosa orientação na concretização deste trabalho.

Aos professores do departamento pela contribuição na minha formação acadêmica.

Aos funcionários e amigos do departamento que contribuíram para a execução deste trabalho, especialmente à Sandra, ao Juarez e à Jô.

Aos colegas de turma, Adair, Jonny, Márcia e Raquel, e aos demais colegas de curso, pela colaboração, amizade e companheirismo.

À amiga Marlene pela valorosa colaboração.

Minha gratidão especial aos meus pais que sempre estiveram ao meu lado me apoiando e também à minha Tia Rosa por sempre me incentivar nos estudos.

Ao meu esposo Carlos pelo carinho, paciência e constante incentivo.

Finalmente, a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização desta dissertação.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vi
RESUMO	viii
I- INTRODUÇÃO GERAL	1
II- OBJETIVOS	11
III- MATERIAIS E MÉTODOS	12
1. Animais	12
2. Drogas	12
3. Análise Estatística	12
4. Teste da Movimentação Espontânea	13
4.1- Equipamento e Procedimento	13
5. Teste da Preferência Condicionada de Lugar (PCL)	14
5.1- Equipamento e Procedimento	14
6. Teste do Labirinto em Cruz Elevado (LCE)	15
6.1- Equipamento e Procedimento	15
7. Teste de "Tail-flick"	16
7.1- Equipamento e Procedimento	16
8. Teste da Placa Quente	17
8.1- Equipamento e Procedimento	17
9. Teste das Contorções	17
9.1- Equipamento e Procedimento	17
IV- AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LOCOMOTORA	18
1. Introdução	18
2. Resultados	20
3. Discussão	24

V- AVALIAÇÃO DO EFEITO REFORÇADOR NO TESTE DA PREFERÊNCIA CONDICIONADA DE LUGAR	26
1.Introdução	26
2.Resultados	28
3.Discussão	32
VI- AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANSIOGÊNICA/ANSIOLITICA NO TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO	37
1.Introdução	37
2.Resultados	39
3.Discussão	48
VII- AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANALGÉSICA NOS TESTES DE "TAIL-FLICK", PLACA QUENTE E CONTORÇÕES	51
1.Introdução	51
2.Resultados	53
2.1- "Tail-Flick" e Placa quente	53
2.2- Contorções	62
3.Discussão	67
VIII- DISCUSSÃO GERAL	70
IX- CONCLUSÕES	75
ABSTRACT	76
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78

LISTA DE FIGURAS

Fig 1- Estruturas químicas da cocaína, dimetocaína, procaína e lidocaína	4
Fig 2- Efeitos da dimetocaína sobre a atividade locomotora .	21
Fig 3- Efeitos da lidocaína sobre a atividade locomotora . .	22
Fig 4- Efeitos da procaína sobre a atividade locomotora . . .	23
Fig 5- Efeitos da dimetocaína sobre a PCL	29
Fig 6- Efeitos da lidocaína sobre a PCL	30
Fig 7- Efeitos da procaína sobre a PCL	31
Fig 8(A,B)- Efeitos da dimetocaína sobre a frequência de entradas no aberto (FEA) e o tempo de permanência no aberto (TPA) no LCE	40
Fig 8(C)- Efeitos da dimetocaína sobre o número de entradas no fechado (NEF) no LCE	41
Fig 9(A,B)- Efeitos da lidocaína sobre a FEA e o TPA no LCE	44
Fig 9(C)- Efeitos da lidocaína sobre o NEF no LCE	45
Fig 10(A,B)- Efeitos da procaína sobre a FEA e o TPA no LCE	46
Fig 10(C)- Efeitos da procaína sobre o NEF no LCE	47
Fig 11(A,B)- Efeitos da dimetocaína no "Tail-flick" e Placa quente	55
Fig 12- Efeitos da dimetocaína no "Tail-flick" e Placa quente aos 15 minutos	56

Fig 13(A,B)- Efeitos da lidocaína no "Tail-flick" e Placa quente	59
Fig 14- Efeitos da lidocaína no "Tail-flick" e Placa quente aos 15 minutos	60
Fig 15(A,B)- Efeitos da procaína no "Tail-flick" e Placa quente	63
Fig 16- Efeitos da procaína no "Tail-flick" e Placa quente aos 15 minutos	64
Fig 17(A,B,C)- Efeitos da dimetocaína, lidocaína e procaína no teste das contorções	66

RESUMO

Existem evidências de que alguns anestésicos locais, além da cocaína, exibem efeitos comportamentais bastante similares àqueles induzidos pelas drogas psicoestimulantes. A procaína é provavelmente o anestésico local mais estudado depois da cocaína, enquanto que a lidocaína é um dos anestésicos locais mais utilizados na clínica, disponível desde a década de 40. Além disso, a dimetocaína é um anestésico local mais recente, não utilizado na clínica, com uma grande afinidade pelo sítio de recaptação da dopamina, além de ter sido relatado que a mesma é auto-administrada por macacos. Tendo em vista que a literatura que investiga de forma comparativa, as manifestações comportamentais dessas substâncias é bastante escassa, o presente estudo investigou os efeitos de diferentes doses de dimetocaína, procaína e lidocaína, injetadas sistemicamente em camundongos numa bateria de testes que presumivelmente refletem uma ação central. Tais testes incluíram a atividade locomotora, a preferência condicionada de lugar, o labirinto em cruz elevado e a analgesia. A dimetocaína aumentou significativamente a atividade locomotora e o tempo gasto no modelo da preferência condicionada de lugar, sugerindo então propriedade reforçadora. Por outro lado, a procaína e a lidocaína não alteraram estes comportamentos. Resultados conflitantes foram obtidos no teste do labirinto em cruz elevado. Enquanto a dimetocaína induziu um

efeito tipo-ansio gênico, similar à ação da cocaína neste modelo, a procaína e a lidocaína promoveram uma resposta tipo-ansiolítica. Além disso, a lidocaína e a dimetocaína causaram uma significativa ação antinociceptiva em testes que utilizaram um estímulo nocivo térmico.

Considerados em conjunto, estes resultados sugerem que, entre os anestésicos locais usados neste estudo, a dimetocaína apresentou significantes efeitos comportamentais, semelhantes àqueles induzidos pela cocaína. Assim, estes resultados são consistentes com outras observações da literatura mostrando que a dimetocaína pode possuir atividade agonista dopaminérgica.

I- INTRODUÇÃO GERAL

A cocaína, substância extraída das folhas da planta denominada Erythroxylon coca e isolada por Niemann em 1860, possui acentuada propriedade anestésica local e um efeito complexo e variado sobre o sistema nervoso central (SNC) (Ritchie e Greene, 1991). O consumo desse alcalóide já vem de longa data e, curiosamente, foi descrito que pessoas eminentes, como Sigmund Freud, faziam uso da cocaína para aliviar a depressão e influenciar positivamente o intelecto (Kelleher, 1977).

Diante das evidências de que a cocaína apresentava potente propriedade anestésica local (Ritchie e Greene, 1991), a mesma foi muito utilizada na clínica com tal finalidade em fins do século 19, porém a gravidade de suas reações sobre o SNC abrandou o seu uso e incentivou novas pesquisas destinadas a sintetizar análogos sintéticos que possuíssem as propriedades anestésicas benéficas da mesma, mas sem o acompanhamento de efeitos colaterais. Com a identificação da estrutura química da cocaína como sendo um éster do ácido benzóico, ainda em fins do século 19 e início do século 20, foram sintetizados vários compostos anestésicos locais (A.L.), como a benzocaína, a procaína, a tetracaína e a cloroprocaína, todos basicamente ésteres derivados do ácido benzóico. Em meados dos anos 40, foram introduzidos na clínica, A.L. com estrutura básica do tipo amida, como por exemplo: a lidocaína, a mepivacaína, a prilocaína, a bupivacaína e a etidocaína (Covino e Vassallo, 1985).

Assim como outros estimulantes do SNC, e em particular assemelhando-se muito aos efeitos dos psicoestimulantes anfetamínicos, a cocaína pode produzir efeitos como: aumento da atividade locomotora (Reith et al., 1985), efeito reforçador (Woolverton e Balster, 1982), ansiedade (Rogério e Takahashi, 1992a) e analgesia (Lin et al., 1989), os quais parecem originar-se de sua conhecida capacidade em bloquear o processo de recaptação de neurotransmissores monoaminérgicos (Elliott et al., 1987; Ritz et al., 1987; 1988). Além destes, uma variedade de outros efeitos poderiam ser descritos, porém não cabe a este trabalho fazer uma revisão extensiva sobre esses outros efeitos.

É bem conhecido que a administração intra-peritoneal (i.p.) de cocaína, em camundongos, produz um efeito estimulante central que pode ser medido pelo aumento da atividade locomotora espontânea, e que este parâmetro está positivamente correlacionado com a concentração de cocaína no cérebro (Benuck et al., 1987). Além disso, vários trabalhos relatam que a mesma também apresenta um evidente efeito reforçador em várias espécies, e que a participação do sistema dopaminérgico, principalmente o circuito neuronal mesolímbico, tem um papel chave neste processo (Colpaert et al., 1979; De La Garza e Johanson, 1982; Ritz et al., 1987; Callahan et al., 1991).

Por outro lado, Anthony et al. (1989) citam que enquanto os efeitos eufóricos da cocaína permanecem estáveis ao longo do tempo, as ações aversivas da mesma parecem aumentar com a exposição repetida à droga, de tal modo que o uso crônico parece precipitar

o desenvolvimento de uma variedade de estados ansiogênicos. Além disso, Rogério e Takahashi (1992a) demonstraram, no teste do labirinto em cruz elevado, que a administração aguda de cocaína em ratos não-ansiosos (pré-selecionados) induz um efeito ansiogênico, parecendo claro que a capacidade da cocaína induzir ansiedade pode depender do estado emocional do animal.

Quanto ao efeito analgésico, as evidências encontradas por Lin et al. (1989) sugerem que a cocaína participa de processos que regulam a dor. Estes autores observaram que a cocaína atenua a nocicepção no teste da formalina, de maneira dose-dependente.

A hipótese já colocada de que cocaína estaria exercendo seus efeitos através de sua capacidade de inibir o processo de recaptação de neurotransmissores monoaminérgicos, parece ser um fato, já que muitos estudos desenvolvidos com roedores e primatas não-humanos mostram que drogas que aumentam a função dopaminérgica no cérebro podem aumentar a atividade locomotora (Jones et al., 1981; Barnes et al., 1987). Além disso, é descrito que o uso de técnicas de injeção intracerebral tem mostrado um papel do sistema dopaminérgico mesocorticolímbico no controle do comportamento motor. Costall et al. (1984) relataram que as ações da dopamina infundida no núcleo *accumbens* de ratos foi antagonizada quando agentes neurolépticos foram administrados, enquanto que Barnes et al. (1987) encontraram que as alterações ocorridas com a estimulação dopaminérgica persistente na região mesolímbica, foram revertidas pelos antagonistas de receptores dopaminérgicos flufenazina e sulpiride.

Em virtude da forte semelhança existente entre a cocaína e alguns A.L. quanto às suas estruturas químicas, fig. 1, e também em virtude das evidências indicando que cocaína e A.L. competem por um sítio comum de captação de dopamina (Ritz et al., 1988), além de achados apontando para uma superposição na farmacologia comportamental entre cocaína e outras drogas anestésicas locais (Balster, 1988), poderia se supor que esses agentes também apresentariam efeito similar sobre o SNC, ou seja, produziriam efeitos tipo-cocaína.

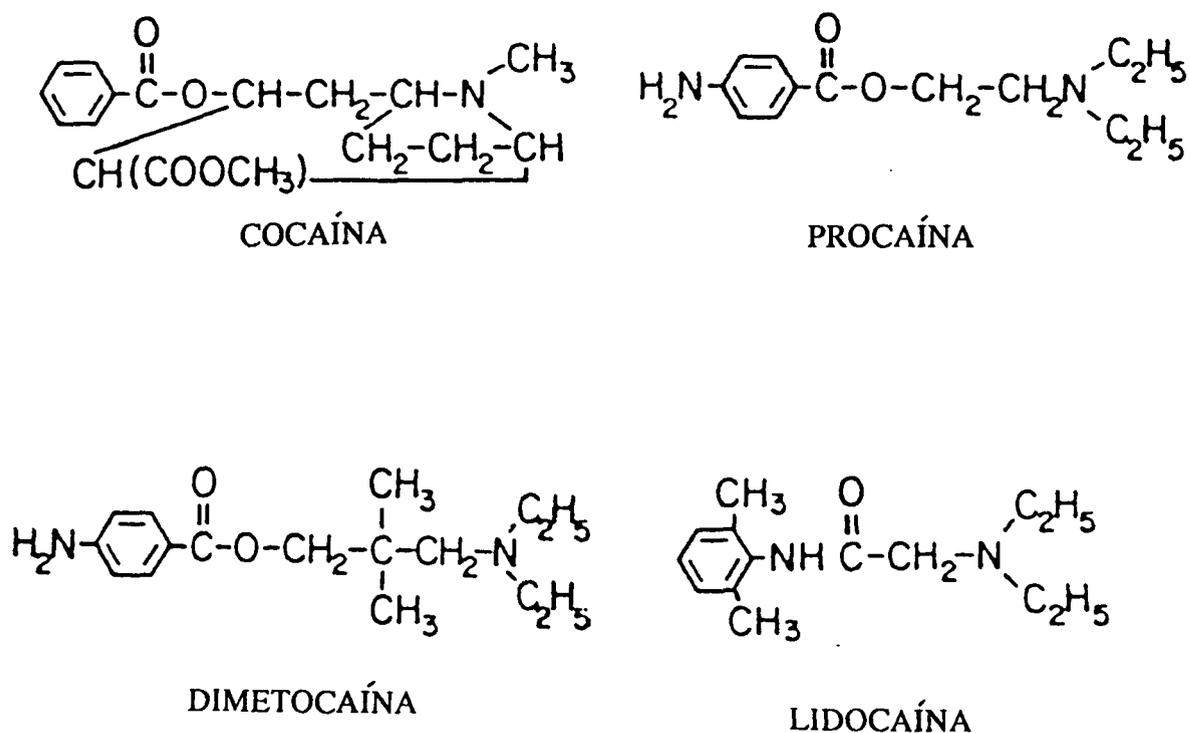


Fig 1- Estruturas químicas da cocaína, dimetocaína, procaína e lidocaína

Assim, existem relatos acerca da influência de A.L. sobre alguns processos que são mediados centralmente, como por exemplo: produzindo efeitos potenciadores sobre anestésicos gerais (Frank e Sanders, 1963); processos convulsivos, apresentando ação anticonvulsivante se administrados em baixas doses (Bernhard e Bohm, 1965) e, causando convulsões tônico-clônicas quando administrados em excesso, em virtude de uma ação inicial depressora sobre neurônios inibitórios, permitindo então a facilitação de neurônios excitatórios (Yoshimura et al., 1991; Endo et al., 1993); processos de tosse (Gefke et al., 1983); bem como processos de dor, promovendo alívio, por exemplo, em casos de dor neuropática (Brose e Cousins, 1991).

Foi verificado por Reith et al. (1985), que A.L. como a tetracaína, a prilocaína, a lidocaína, a procaína e a benzocaína, ao contrário da cocaína, produzem um efeito depressor sobre a atividade locomotora em camundongos testados em caixas que medem a atividade locomotora em camundongos testados em caixas que medem a atividade locomotora espontânea. Ademais, Wagman et al. (1968) (apud Reith et al. 1985), mostraram que a lidocaína intra venosa (i.v.) causou depressão locomotora em coelhos e gatos. Embora esses A.L. testados tenham apresentado efeito depressor sobre a atividade locomotora, esses resultados parecem não condizer com os resultados positivos obtidos com os mesmos A.L. em testes onde são avaliadas as propriedades reforçadoras dessas drogas. Wise e Bozarth (1987) defendem que o comportamento estimulante psicomotor prediz e é uma medida de reforço, isto é, esta teoria relaciona a estimulação

psicomotora e o processo de reforço positivo como derivados de um mecanismo neurobiológico comum.

A efetividade das drogas de abuso em provocar comportamentos de procura ou mesmo em manter respostas que as produzam depende, em parte, da ativação de sistemas de recompensa, no SNC. A estimulação cerebral direta em determinadas áreas, definida como reforço cerebral, é uma poderosa recompensa e uma forte evidência experimental desses sistemas, a qual pode ser substituída pela administração de drogas de abuso (Wise, 1987; Wise e Rompre, 1989). Acredita-se que existam vários sistemas neurais em paralelo mediando a recompensa, ao invés de um único sistema em série (Wise e Rompre, 1989). Embora o fenômeno da recompensa seja muito complexo, acredita-se que exista a participação dos sistemas opióides e, principalmente, dos sistemas dopaminérgicos, bem como a inter-relação entre eles nos mecanismos de recompensa (Wise e Rompre, 1989).

Hammerbeck e Mitchell (1978) descreveram que a procaína, é auto-administrada por macacos Rhesus, apresentando assim propriedades reforçadoras. Os autores relataram que as respostas para a procaína ao longo de cada sessão eram similares às aquelas obtidas com a cocaína em esquemas de intervalo fixo registradas por Downs e Woods (1974).

O mesmo efeito reforçador foi encontrado por Woolverton e Balster (1979), com a procaína e, ocasionalmente, a tetracaína. No entanto, a lidocaína, a procainamida e o dietilaminoetanol (um metabólito da procaína) falharam em manter respostas que induzissem

sua auto-administração.

Com o objetivo de pesquisar os efeitos de três A.L. relacionados quimicamente, Johanson (1980) estudou a procaína, a cloroprocaína e a proparacaína quanto às suas funções reforçadoras positivas, num esquema fixo de liberação de droga, em macacos Rhesus, e encontrou que a procaína e a cloroprocaína serviam como reforçadores positivos, enquanto a proparacaína apresentava pouco efeito.

Um outro trabalho desenvolvido por Woolverton e Balster (1982), procurou avaliar, num estudo de auto-administração, os efeitos reforçadores da cloroprocaína, da dimetilprocaína e da dimetocaína, em macacos Rhesus, além de verificar em ratos, se a procaína possuía propriedades estímulo-discriminativas, num estudo de discriminação de drogas. Foi observado então, que tanto a dimetocaína como a cloroprocaína e a dimetilprocaína apresentaram evidente efeito reforçador, em macacos, enquanto que drogas como a cloroprocaína e a tetracaína produziam respostas similares às da procaína, em ratos.

Além das pesquisas desenvolvidas com macacos ou ratos, existem estudos das propriedades estímulo-discriminativas da cocaína, da procaína e da lidocaína em grupos de pombos. Zacny e Woolverton (1989), treinaram pombos para discriminar d-anfetamina (protótipo estimulante) ou pentobarbital (protótipo sedativo) da salina, e concluíram que, com exceção da lidocaína, tanto a cocaína como a procaína substituíam para d-anfetamina, porém nenhum dos A.L. substituíam para pentobarbital. Jarbe (1981) encontrou que

pombos treinados a discriminar entre a presença e ausência de cocaína através de resposta sobre duas alavancas, não produziam respostas relacionadas com a cocaína quando era administrada procaína em dose baixa, sugerindo assim que a anestesia local não contribui para o efeito discriminativo da cocaína. Porém, com dose mais alta de procaína (dose considerada comportamentalmente efetiva), foi obtido um percentual de 40% de respostas relacionadas com a cocaína, o que indica alguma semelhança no modo de ação dessas duas substâncias. O mesmo autor, mostrou que a percentagem de respostas associadas com droga observadas quando misturou-se cocaína + procaína (30 e 70% respectivamente) foi exatamente a mesma quando comparada com cocaína sozinha, isto é, cocaína sozinha ou em combinação com procaína causa uma generalização dose-dependente muito similar uma à outra. Além disso, doses maiores de procaína sozinha causaram respostas tipo-cocaína (Jarbe 1984).

Outro achado importante que mostra uma superposição de efeitos entre a cocaína e outros A.L. foi descrito por Silverman (1990) em modelo utilizado para avaliar o comportamento giratório em animais com lesão na substância negra (teste que é comumente usado para avaliar a contribuição da dopamina sobre o controle motor). Este autor encontrou que agonistas dopaminérgicos diretos, em virtude da maior atividade no corpo estriado desnervado, induzem rotação contralateralmente à lesão, enquanto que agonistas dopaminérgicos indiretos, promovendo liberação e/ou bloqueando a recaptação de dopamina somente no corpo estriado intacto, induzem rotação ipsilateral. Dos A.L. testados: bupivacaína, cloroprocaína,

etidocaína, lidocaína, procaína, tetracaína e dimetocaína, somente esta última induziu comportamento giratório significativo, quando comparado com cocaína, tanto no teste agudo, como no teste com administrações repetidas (Silverman, 1990).

Além dos relatos sobre os efeitos da cocaína e outros A.L. em animais, resultados obtidos em estudos duplo-cego com humanos indicaram que a lidocaína e a cocaína têm efeitos psicológicos similares após aplicação intranasal; os voluntários descreveram uma sensação agradável e um estado de consciência distorcido designado por "high", indistinguíveis para as duas drogas (Van Dyke et al., 1979).

Além do possível envolvimento do sistema dopaminérgico nas respostas comportamentais já citadas, parece que o mesmo também está envolvido em processos de regulação da dor. Relatos bastante recentes têm mostrado que alguns A.L. apresentam propriedades antinociceptivas. Por exemplo, Courteix et al. (1994) mostraram que a lidocaína, no teste de pressão da pata, propiciou um efeito antinociceptivo em ratos normais, elevando o limiar para vocalização significativamente e de maneira dose-dependente.

Apesar destas considerações em relação aos efeitos comportamentais dos A.L., deve ser mencionado que os mesmos ainda são limitados e controversos, principalmente quando relacionados com a extensa literatura existente para a cocaína. Assim, com o aumento das evidências sugerindo um perfil psicofarmacológico similar entre a cocaína e diferentes A.L. e diante da preocupação de órgãos da área da saúde e mesmo da sociedade em geral, quanto à

disponibilidade crescente de novas substâncias de abuso, o presente trabalho investiga, de forma comparativa, os efeitos de A.L., do tipo éster como dimetocaína e procaína, e do tipo amida como lidocaína, em alguns modelos experimentais bastante utilizados na avaliação comportamental de psicoestimulantes tipo-cocaína, entre outras substâncias.

II- OBJETIVOS

Constituem objetivos desse estudo:

1. Avaliar e comparar, em camundongos, os efeitos de dimetocaína, procaína e lidocaína sobre a atividade locomotora espontânea, medida em caixas com células fotoelétricas.
2. Verificar a presença de propriedades reforçadoras dessas substâncias, utilizando como modelo a preferência condicionada de lugar.
3. Investigar se algum desses A.L. poderiam produzir alterações no estado de ansiedade de animais submetidos ao teste do labirinto em cruz elevado.
4. Avaliar as possíveis ações analgésicas desses A.L., submetendo os animais a três modelos distintos de nocicepção: teste de "Tail-flick", teste da Placa quente e teste das contorções induzidas por ácido acético.

III- MATERIAIS E MÉTODOS

1. ANIMAIS

Foram utilizados camundongos Suíços, albinos, machos, com aproximadamente 3 meses de idade, pesando entre 30 e 40 g, provenientes do Biotério Central e do Biotério do Departamento de Farmacologia, ambos da Universidade Federal de Santa Catarina. Os animais permaneciam alojados em grupos de 25 ou 30, por gaiola plástica (39 x 32 x 16 cm), mantidos em temperatura controlada ($23 \pm 1^\circ\text{C}$), em ciclo claro e escuro de 12 horas (luz ligada às 7 h e desligada às 19 h), com livre acesso à água e à comida, exceto durante as sessões de teste.

2. DROGAS

As drogas utilizadas neste estudo foram: ácido acético 0.6% (Sigma Chemical Co. St. Louis, MO, USA), cloridrato de dimetocaína (Hoffmann-La Roche, Nutley, NJ, USA), cloridrato de procaína e cloridrato de lidocaína (Sigma Chemical Co. St. Louis, MO, USA), todas dissolvidas em água destilada e preparadas até 24 horas antes do experimento. A solução controle utilizada foi solução fisiológica 0.9% (salina). Todas as soluções foram administradas em um volume fixo de 0.1 ml/10 g por via i.p. ou por via sub cutânea (s.c.).

3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

As comparações estatísticas entre as médias dos grupos foram

realizadas por análise de variância (ANOVA), adequadas ao protocolo experimental e, sendo detectada diferença significativa, passaram a ser analisadas entre si pelo teste de Newman-Keuls. Em algumas situações o teste "t" de Student também foi utilizado para comparações entre dois grupos experimentais. Os dados foram expressos como média \pm E.P.M. e a probabilidade $p < 0.05$ foi considerada como indicativa da existência de diferenças estatisticamente significantes.

4. TESTE DA MOVIMENTAÇÃO ESPONTÂNEA

4.1- Equipamento e Procedimento:

O teste de avaliação da movimentação espontânea foi desenvolvido em sala escura e sempre no período da manhã (8 h às 12 h). Este teste consiste em colocar os animais em caixas de madeira medindo 40 x 12 x 20 cm, com três células fotoelétricas instaladas a 1 cm. de altura do chão em grade, espaçados igualmente ao longo de sua extensão, e acoplada a um contador digital que registra o número de vezes que o animal interrompe os feixes de luz (cada interrupção do feixe de luz constitui uma medida de atividade). Somente movimentos horizontais na plataforma eram detectados pelas fotocélulas. Neste teste os camundongos foram tratados com salina, dimetocaína (5, 10 e 20 mg/kg), procaína (10, 20 e 30 mg/kg) ou lidocaína (10, 20 e 30 mg/kg) na ante-sala. Imediatamente após a administração de cada droga, os animais foram colocados individualmente nas caixas e a atividade foi medida ao término de 60 minutos.

5. TESTE DA PREFERENCIA CONDICIONADA DE LUGAR

5.1- Equipamento e Procedimento:

O teste de avaliação da PCL foi efetuado numa caixa, confeccionada em acrílico, composta por três compartimentos diferentes, separados por duas guilhotinas removíveis. A área central medindo 51 x 14 x 14,5 cm. e pintada de bege, era considerada um ambiente neutro. As extremidades da caixa, uma clara com o chão liso e iluminada com luz branca, outra escura com o chão coberto de serragem, mediam cada uma 22 x 14 x 14,5 cm.. Os experimentos foram desenvolvidos em sala escura e sempre no período da manhã (8 h às 12 h). Neste teste os camundongos foram tratados com salina, dimetocaína (20 e 40 mg/kg), procaína (30 e 50 mg/kg) ou lidocaína (20 e 30 mg/kg), na ante-sala. O método utilizado constitui-se de 2 fases (condicionamento e teste).

Fase 1- Condicionamento: cada animal foi condicionado 2 vezes por dia durante 4 dias. No primeiro ensaio, todos os animais receberam salina e foram confinados por 15 minutos em uma das extremidades da caixa. No segundo ensaio, foi efetuada a injeção de salina para o grupo controle e de dimetocaína ou procaína ou lidocaína nos grupos experimentais, os quais aguardavam 15 minutos e então eram confinados na extremidade oposta ao primeiro ensaio também por 15 minutos, sendo que os grupos experimentais sempre foram pareados com o lado claro.

Fase 2- Teste: o teste foi realizado no quinto dia, sem droga, colocando-se os animais individualmente no compartimento neutro, com livre acesso para ambos os lados. O tempo de permanência em

cada compartimento foi registrado durante 15 minutos.

Foi utilizada uma solução de etanol a 10% para limpar a caixa antes da colocação de cada animal.

6. TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO

6.1- Equipamento e Procedimento:

O aparelho para o teste do labirinto em cruz elevado é feito de acrílico transparente, constituindo-se por quatro braços opostos, dois abertos (30 x 5 cm.) e dois fechados (30 x 5 x 15 cm.) elevados a 38,5 cm. do chão. Os braços abertos foram protegidos lateralmente por uma barra de acrílico de 0,5 cm. para evitar a queda dos animais. Um campo aberto quadrado (40 x 40 x 30 cm.), também fabricado em acrílico, foi utilizado antes do teste do labirinto em cruz elevado, para adaptação do animal no ambiente do teste. Os experimentos foram sempre realizados no período da tarde (14 h às 17 h) e o ambiente era iluminado com luz vermelha com intensidade de 44 lux. Neste teste os camundongos foram tratados com salina, dimetocaína (5, 10 e 20 mg/kg), procaína (20, 30 e 50 mg/kg) ou lidocaína (10, 20 e 30 mg/kg) na ante-sala. Dez minutos após as injeções, cada animal foi colocado individualmente no campo aberto por 5 minutos e, em seguida transferido diretamente para o centro do labirinto em cruz elevado, com a face voltada para um dos braços fechados, por um período de 5 minutos de observação. As medidas comportamentais observadas no teste do labirinto em cruz elevado foram o número de entradas e o tempo gasto nos braços abertos e nos braços fechados. Como medida de locomoção foi obtida

a soma do número total de entradas nos lados fechados. O percentual de entradas (aberto/total) foi calculado dividindo-se o número de entradas nos braços abertos pelo número total de entradas e este índice multiplicado por 100. O percentual de tempo (aberto/total) também foi calculado de maneira semelhante: o tempo gasto nos braços abertos foi dividido pela somatória do tempo gasto nos braços abertos e fechados e o quociente obtido foi multiplicado por 100.

Foi utilizada uma solução de etanol a 10% para limpar os equipamentos antes da colocação de cada animal.

7. TESTE DE "TAIL-FLICK"

7.1- Equipamento e Procedimento:

Para este teste foi utilizado o aparelho Analgesiameter, Albarsch, o qual gera uma fonte de calor radiante, e ativa simultaneamente um timer. A potência do aparelho foi fixada em 90 W. Os experimentos foram sempre realizados no período da tarde (14 h às 17 h). Este teste consiste em incidir uma fonte de calor radiante sob a cauda dos animais, que eram previamente selecionados, de acordo com sua reatividade térmica no teste, estipulando-se um período máximo de 7 segundos, para evitar danos teciduais. No dia do teste, os animais receberam dimetocaína (5, 10 e 20 mg/kg), procaína (20, 30 e 50 mg/kg) ou lidocaína (10, 20 e 30 mg/kg) via i.p. e 15 minutos após a administração das drogas, a latência para a retirada da cauda foi registrada em intervalos de 15 minutos até completar 1 hora.

8. TESTE DA PLACA QUENTE

8.1- Equipamento e Procedimento:

Neste teste foi utilizado o aparelho Hot Plate model DS 37, Socrel, que consiste numa placa de metal aquecida e protegida por um cilindro confeccionado em acrílico. Os testes foram sempre realizados no período da manhã (8 h às 12 h). Nesse teste o animal é colocado sobre uma placa pré aquecida em 55°C e mede-se a latência para o lambar das patas anteriores. Os animais foram pré-selecionados através da verificação do tempo basal de reação térmica. Depois da medida basal, os animais receberam dimetocaína (5, 10 e 20 mg/kg), procaína (20, 30 e 50 mg/kg) ou lidocaína (10, 20 e 30 mg/kg) via i.p. e foram registradas as latências em intervalos de 15 minutos até completar 1 hora.

9. TESTE DAS CONTORÇÕES

9.1- Equipamento e Procedimento:

Neste teste foram utilizados cilindros confeccionados em vidro transparente, onde os animais eram colocados, individualmente, para registro do número de contorções abdominais. Os testes foram sempre realizados no período da tarde (14 h às 17 h). Os animais foram pré-tratados com dimetocaína (5, 10 e 20 mg/kg), procaína (20, 30 e 50 mg/kg) ou lidocaína (10, 20 e 30 mg/kg) por via s.c., 15 minutos antes da injeção de ácido acético 0.6% i.p. (0.1 ml/10 g). O grupo controle recebeu volume semelhante de uma solução de NaCl 0.9%. Depois de 15 minutos da injeção de ácido acético, foi registrado o número de contorções (contração da musculatura abdominal juntamente com a extensão de uma das patas posteriores), durante um período total de 5 minutos.

IV- AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LOCOMOTORA

1- Introdução

As drogas que aumentam a atividade locomotora (ou induzem um aumento no desempenho de comportamentos aprendidos), em doses bem abaixo daquelas que produzem convulsões podem ser chamadas de estimulantes psicomotores (Kelleher, 1977). A cocaína, que é um estimulante psicomotor clássico aumenta, de modo dose-dependente, a atividade locomotora, porém mesmo que o bloqueio da captação de dopamina (DA) esteja envolvido nos efeitos ativadores da locomoção, os mecanismos pelos quais a cocaína, em doses agudas, afeta o comportamento motor ainda não estão completamente esclarecidos (Lau et al., 1991). Resultados desse estudo, que investigou os efeitos agudos de cocaína e lidocaína em alterar o comportamento motor de ratos, demonstraram que a cocaína foi efetiva em aumentar a atividade locomotora, enquanto que a administração de lidocaína não provocou efeitos apreciáveis sobre essa atividade.

Como citado anteriormente, o sistema dopaminérgico parece participar de processos que controlam a atividade motora (Barnes et al., 1987). Sabe-se que a via dopaminérgica nigro-estriatal que se projeta da substância negra do mesencéfalo até os núcleos caudado e putamen (corpo estriado) no telencéfalo, é responsável pelo controle dos movimentos voluntários. Contudo, em virtude das vias límbicas originarem-se na parte ventral do tegmento mesencefálico, vizinho à substância negra, e estarem intimamente relacionadas com os aspectos emocionais e funções cerebrais elevadas (Barnes et al., 1987), é sugerido que estas vias estariam mediando as alterações sobre o comportamento motor. Por isso, tem sido direcionada ênfase

maior às áreas límbicas e corticais do que ao sistema dopaminérgico estriatal, quanto ao estudo de substâncias com potencial para alterar o comportamento motor em animais.

Existem alguns modelos animais destinados ao estudo da atividade locomotora, entre os quais podem ser citados o teste de "open field" e o teste da caixa de atividade. O teste de "open field" é muito utilizado em virtude da simplicidade do equipamento e da rapidez com que os comportamentos são medidos. Além disso, este teste também é indicado como método de rotina para a triagem farmacológica de compostos psicotrópicos (Masur, 1970). O teste da caixa de atividade também é um teste relativamente simples, além da vantagem de permitir o registro automático e simultâneo de vários animais.

De acordo com o estudo de Wiechman et al. (1981), desenvolvido para avaliar e comparar os efeitos da cocaína, da procaína e da lidocaína sobre a atividade locomotora, em ratos, medida no teste de "open field" e em gaiolas de atividade, foi demonstrado que somente a cocaína promoveu aumento do parâmetro em observação, enquanto que a procaína, ao contrário, promoveu uma pequena diminuição da atividade locomotora, e a lidocaína não foi diferente do grupo controle.

Embora esses pesquisadores tenham verificado que A.L. não afeta a atividade locomotora de modo semelhante à cocaína, em nosso laboratório, foi demonstrado que a dimetocaína elevou esta atividade de maneira dose-dependente em ratos avaliados no teste de "open field" (dados não publicados). Por isso, nesse experimento, pretende-se re-examinar esse efeito empregando-se camundongos, além

de, baseados nesses resultados, selecionar as doses para os próximos experimentos.

2- Resultados

Os efeitos da administração de dimetocaína (5,10 e 20mg/kg) sobre a atividade locomotora estão ilustrados na fig. 2. A análise estatística foi efetuada pela ANOVA de uma via, a qual indicou diferenças significantes entre os tratamentos, [$F_{3,37} = 3.58$, $p = 0.02$]. O teste subsequente de Newman-Keuls mostrou que, embora tenha sido verificado um aumento na locomoção para as três doses, o resultado estatisticamente significativo foi observado somente com a dose de 20 mg/kg, quando comparada com o grupo controle ($p < 0.05$). Esses resultados sugerem um efeito estimulante para a dimetocaína.

As figs. 3 e 4 mostram, respectivamente, os efeitos da administração de lidocaína (10, 20 e 30 mg/kg) e procaína (10, 20 e 30 mg/kg) sobre a atividade locomotora. A análise estatística conduzida para avaliar os efeitos da lidocaína mostrou, através da ANOVA de uma via, que os resultados não foram significantes [$F_{3,36} = 0.4$, $p = 0.7$], fig. 3. Os resultados obtidos após administração de procaína (fig. 4), também foram avaliados através da ANOVA de uma via, porém não foi detectada diferença significativa entre os tratamentos [$F_{3,37} = 0.79$, $p = 0.5$].

Os resultados acima, obtidos com a lidocaína e a procaína, sugerem que estes últimos A.L., pelo menos nas doses utilizadas, não foram capazes de influenciar os processos responsáveis pelo controle motor.

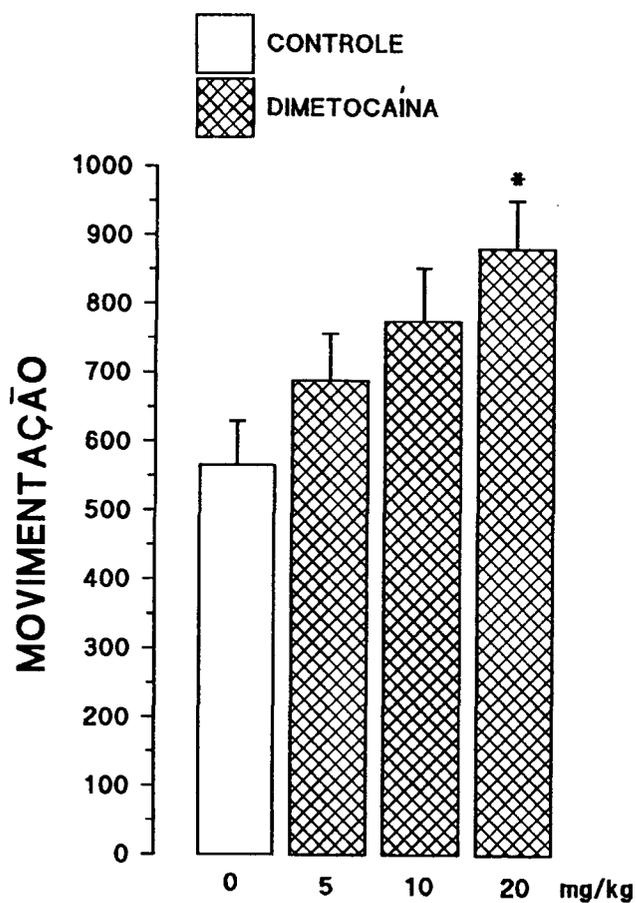


Fig 2- Efeitos da administração de dimetocaína ou veículo (i.p.) sobre a atividade locomotora espontânea de camundongos machos, medida em caixas com células fotoelétricas. Os dados expressos representam a média \pm e.p.m. de 10-11 animais. * $p < 0.05$ em relação ao grupo controle, teste de Newman Keuls.

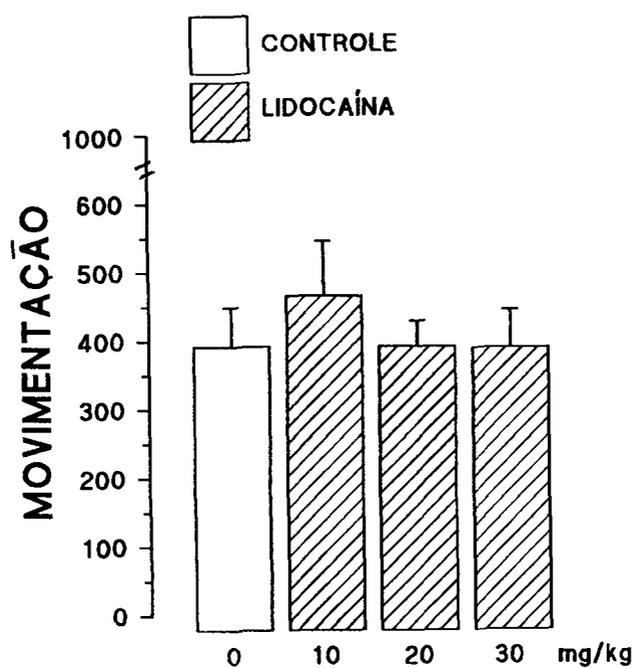


Fig 3- Efeitos da administração de lidocaína ou veículo (i.p.) sobre a atividade locomotora espontânea de camundongos machos, medida em caixas com células fotoelétricas. Os dados expressos representam a média \pm e.p.m. de 10 animais.

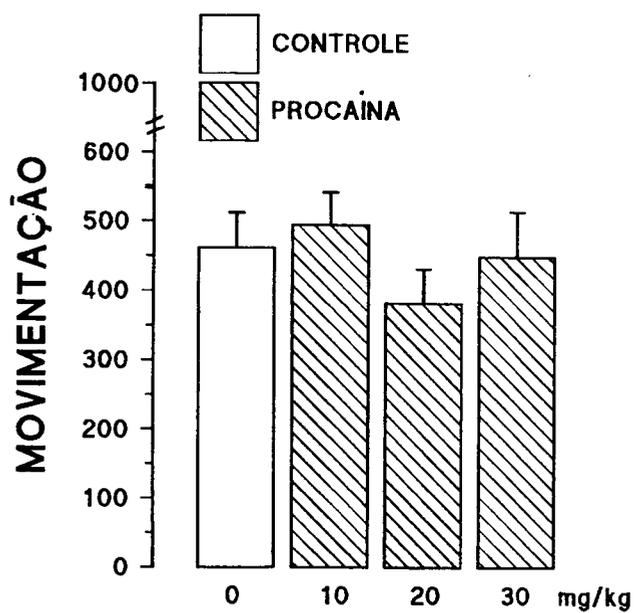


Fig 4- Efeitos da administração de procaína ou veículo (i.p.) sobre a atividade locomotora espontânea de camundongos machos, medida em caixas com células fotoelétricas. Os dados expressos representam a média \pm e.p.m. de 10-11 animais.

3- Discussão

Os efeitos da dimetocaína, da lidocaína e da procaína sobre a movimentação espontânea examinados em camundongos demonstraram que somente a dimetocaína foi capaz de promover um aumento significativo da atividade locomotora, pois a lidocaína e a procaína não diferiram do grupo controle. Esses resultados confirmam alguns dados da literatura (Wiechman et al., 1981; Lau et al., 1991) e o estudo prévio efetuado em nosso laboratório (dados não publicados), onde a administração sistêmica de dimetocaína, em ratos avaliados no teste de "open field", provocou um aumento significativo da atividade locomotora, enquanto que a lidocaína e a procaína não foram capazes de alterar este comportamento.

Por outro lado, existem evidências de que a administração de A.L. praticamente não altera ou leva a uma diminuição da atividade locomotora em animais experimentais. Por exemplo, Wiechman et al. (1981) em estudo desenvolvido para comparar os efeitos da cocaína, da procaína e da lidocaína sobre a atividade locomotora, em ratos pré-tratados com morfina, descreveram que somente a cocaína foi capaz de estimular a atividade locomotora, tanto no teste de "open field" como no teste da movimentação espontânea, enquanto que a lidocaína e a procaína pareceram não compartilhar dessa propriedade farmacológica. Além disso, Reith et al. (1985) relataram que a atividade locomotora espontânea de camundongos foi estimulada pela administração i.p. de cocaína, porém a locomoção foi inibida pela administração i.p. de congêneres de cocaína, como norcocaína ou

(+)pseudococaína, e também pela administração de A.L. como a procaína, a tetracaína, a lidocaína, a benzocaína e a prilocaína. Diante desses resultados, os autores sugeriram que este efeito inibitório sobre a locomoção poderia ser devido aos efeitos anestésicos locais periféricos ou centrais dessas substâncias, sobre os canais de sódio. Tal sugestão deveu-se ao fato de que foi verificada uma relação proporcional e significativa entre as potências dessas substâncias para causar uma depressão da atividade locomotora e o grau para causar anestesia local.

A ação da dimetocaína sobre a atividade locomotora, observada no presente experimento, parece envolver um mecanismo central de ação. Sabe-se que entre as estruturas químicas da cocaína e da dimetocaína existe uma similaridade acentuada. Dentre os A.L. testados, somente a dimetocaína tem em comum com a cocaína três carbonos entre o amino nitrogênio e a ligação éster. Além disso, sabe-se que a dimetocaína é o A.L. que apresenta maior afinidade pelo sítio de recaptação de DA, o que tem sido sugerido essencial para a auto-administração de estimulantes psicomotores. Conforme já comentado na introdução, é bem conhecido o papel do sistema dopaminérgico na atividade motora (Jones et al., 1981; Barnes et al., 1987)

Diante dessas evidências, sugere-se que os efeitos estimulantes sobre a locomoção, apresentados por dimetocaína sejam devidos a uma ação semelhante à da cocaína, e que tanto a lidocaína como a procaína não compartilham dessas ações, pelo menos nas doses utilizadas.

V- AVALIAÇÃO DO EFEITO REFORÇADOR NO TESTE DA PREFERENCIA CONDICIONADA DE LUGAR

1- Introdução

O efeito reforçador de drogas, em especial a cocaína, observado em animais, que é correspondente aos efeitos subjetivos (efeitos euforizantes) em humanos (Van Dyke et al., 1978), pode ser avaliado através de procedimentos como o teste de preferência condicionada de lugar, testes de auto-administração e testes de discriminação de drogas, entre outros, através da manipulação dos estímulos apresentados e avaliação dos parâmetros comportamentais resultantes. Estes servem de modelos animais para a obtenção de informações relevantes à farmacologia e neuroquímica dos efeitos subjetivos tanto da cocaína como de outras substâncias similares com potencial de abuso, pois segundo Yokel e Pickens (1973) muitas drogas que são auto-administradas por humanos também são auto-administradas por animais.

A PCL tem sido utilizada para a avaliação das propriedades reforçadoras, tanto de drogas agonistas opióides (Scoles e Siegel, 1986), drogas agonistas dopaminérgicas (Nomikos e Spyraiki, 1988), bem como da estimulação elétrica em determinadas áreas do cérebro (Duvauchelle e Ettenberg, 1991). Em estudos de PCL, um ambiente característico é pareado repetidamente com a administração de droga e um meio diferente é associado com o estado não drogado. Um fator positivo deste teste é que os efeitos reforçadores da droga são avaliados "a posteriori", ou seja, na ausência de droga, sendo assim ficam excluídos outros fatores que poderiam mascarar o

desempenho do animal, como por exemplo, efeitos motores ou qualquer outro fator inespecífico. Sendo assim, um aumento ou diminuição da resposta condicionada, isto é, a permanência num dos lados em relação ao grupo controle sem droga, são inferidos como um índice das propriedades recompensadoras da droga em estudo.

O sistema dopaminérgico mesocorticolímbico parece estar implicado nos efeitos reforçadores de algumas drogas psicoativas. Os corpos celulares desse sistema originam-se na área tegmental ventral (ATV), originariamente descrita como grupo A10 de neurônios catecolaminérgicos e projetam-se para o prosencéfalo (núcleo *accumbens*, tubérculo olfatório, cortex frontal, amígdala e área septal)(Koob, 1992). É descrito que a ativação desse sistema, por estímulo elétrico, drogas ou reforçadores naturais, leva a uma liberação de DA no núcleo *accumbens*, a qual está associada a eventos de recompensa ou de reforço (Hernandez e Hoebel, 1988; Koob e Bloom, 1988; Wise, 1988).

Spyraki et al. (1987) e Nomikos e Spyraki (1988) relataram que a cocaína administrada via i.v., em doses apropriadas, produz preferência de lugar em ratos como resultado de um condicionamento associativo. Seidman et al. (1992) encontraram que tanto administração i.p. como *per os* (p.o.) de cocaína, resultam em preferência de lugar.

Utilizando o método de discriminação de drogas, Graham e Balster (1993), compararam os efeitos estímulo discriminativos tipo-cocaína de três A.L.: procaína, dimetocaína e lidocaína. A cocaína e a dimetocaína, de maneira dose-dependente, substituíram para a dose-treino de cocaína (10 mg/kg) enquanto a procaína e a

lidocaína induziram substituição parcial, indicando então que, nesse procedimento, a dimetocaína apresenta mais efeitos tipo-cocaína do que os outros A.L. testados.

Então, a partir desses resultados e das evidências citadas anteriormente, parece claro que a cocaína e outros A.L. podem compartilhar um mecanismo comum, mesmo que em maior ou menor grau, sobre comportamentos de recompensa. Embora não se tenha conhecimento da existência de trabalhos descrevendo efeitos de preferência de lugar com substâncias anestésicas locais, além da cocaína, parece que estudos usando o modelo de PCL geralmente sustentam as mesmas conclusões obtidas em estudos de auto-administração (Wise e Rompre, 1989). Assim, o objetivo do presente experimento foi tentar avaliar as propriedades reforçadoras da dimetocaína, da lidocaína e da procaína em camundongos submetidos ao teste da PCL.

2- Resultados

Na fig. 5 estão resumidos os resultados obtidos no teste de PCL após administração de dimetocaína (20 e 40 mg/kg). A figura mostra o tempo permanecido, em segundos, pelos animais, no lado menos preferido (lado claro) após as duas sessões diárias de condicionamento alternadas com solução salina ou droga. A análise estatística feita através da ANOVA de uma via, mostrou diferenças significantes entre os tratamentos, [$F_{2,33} = 11.85$, $p = 0.0002$]. O teste *post hoc* de Newman-Keuls indicou que tanto dimetocaína 20 mg/kg como dimetocaína 40 mg/kg aumentaram de modo estatisticamente significativo o tempo gasto no lado pareado com droga (lado claro), quando comparado com o grupo controle ($p < 0.05$).

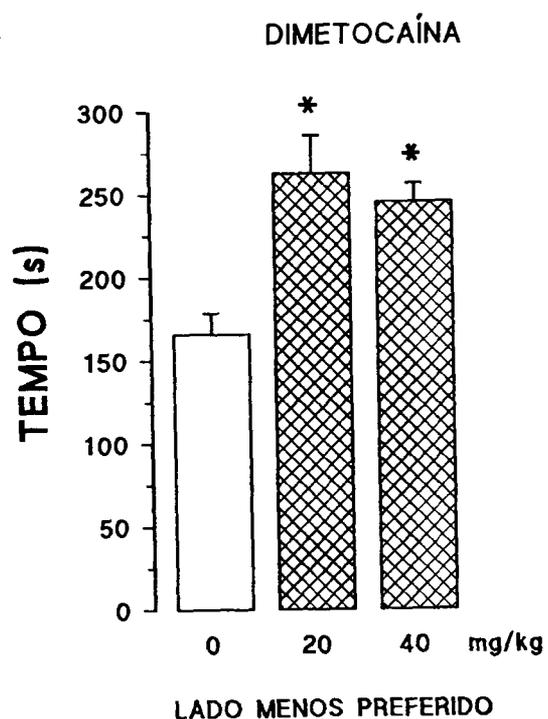


Fig 5- Efeitos da administração de dimetocaína ou veículo (i.p.) sobre a performance dos camundongos no teste de PCL. O tempo gasto no compartimento pareado com droga ou veículo estão representados pelas médias \pm e.p.m. de 9-17 animais. * $p < 0.05$ em relação ao grupo controle, teste de Newman Keuls.

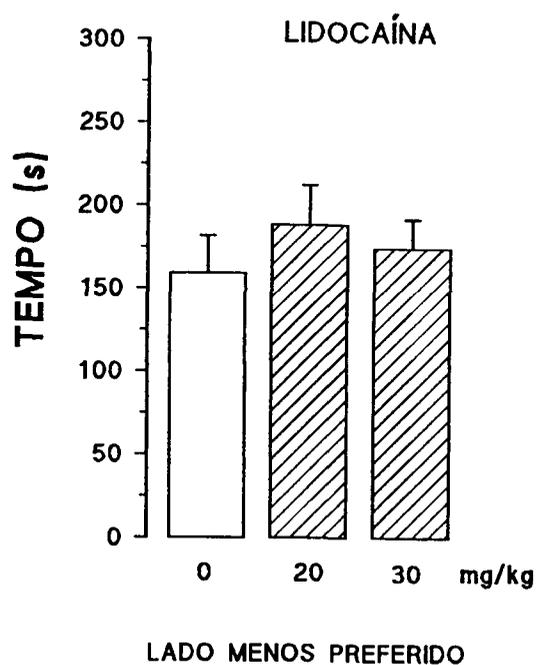


Fig 6- Efeitos da administração de lidocaína ou veículo (i.p.) sobre a performance dos camundongos no teste de PCL. O tempo gasto no compartimento pareado com droga ou veículo estão representados pelas médias \pm e.p.m. de 7-10 animais.

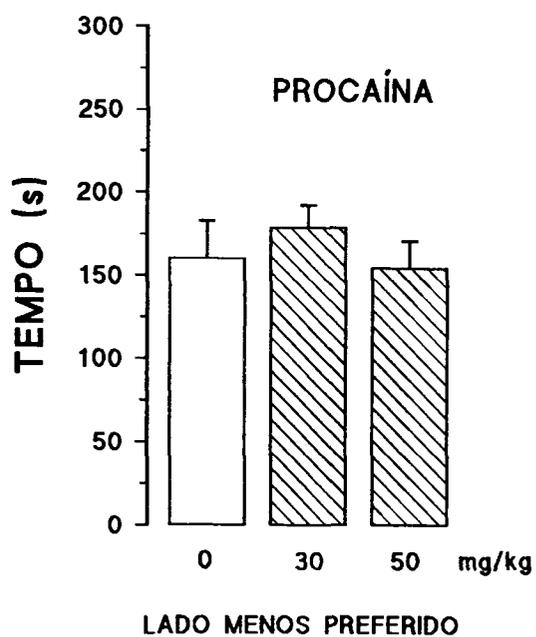


Fig 7- Efeitos da administração de procaína ou veículo (i.p.) sobre a performance dos camundongos no teste de PCL. O tempo gasto no compartimento pareado com droga ou veículo estão representados pelas médias \pm e.p.m. de 7-10 animais.

Esse resultado parece indicar uma nítida preferência de lugar, possivelmente induzida pelo efeito reforçador da dimetocaína.

Os resultados da avaliação feita sobre a preferência condicionada de lugar após a administração de lidocaína (20 e 30 mg/kg) e procaína (30 e 50 mg/kg) estão resumidos nas figs. 6 e 7, respectivamente. A análise estatística feita através do teste ANOVA de uma via, para lidocaína, fig. 6, mostrou que não houve diferença significativa entre os tratamentos [$F_{2,22} = 0.45$, $p = 0.6$]. O mesmo foi verificado para a procaína [$F_{2,22} = 0.44$, $p = 0.5$], fig. 7. Os resultados obtidos com a lidocaína e a procaína, nas referidas doses, parecem sugerir que estes A.L. não apresentam propriedades reforçadoras, já que suas respostas frente ao teste foram similares às respostas do grupo controle.

3- Discussão

Os resultados obtidos no presente experimento demonstraram que somente a dimetocaína foi capaz de produzir uma preferência de lugar associada ao lado condicionado com droga, enquanto que a lidocaína e a procaína, nas doses utilizadas, não induziram preferência de lugar. Este estudo constitui a primeira evidência do efeito reforçador da dimetocaína através do método de PCL e está de acordo com achados de outros autores que demonstraram que a dimetocaína é efetiva em estudos de auto-administração desenvolvidos com macacos além de estudos de substituição desenvolvidos com ratos (Woolverton e Balster, 1982; Graham e Balster, 1993).

Ritz et al. (1987), mostraram que A.L., incluindo a cocaína, apresentam alguma afinidade pelo sítio de ligação do transportador de DA, e correlacionaram essa afinidade diretamente com suas potências para o efeito reforçador. Então, as diferentes afinidades pelo sítio de ligação de DA, encontradas por esses pesquisadores (cocaína $K_i = 0.64 \mu M$; dimetocaína $K_i = 1.29 \mu M$; procaína $K_i = 104 \mu M$; lidocaína $K_i = 3298 \mu M$), poderiam explicar as diferenças existentes entre seus efeitos. Confirmando esse fato, a dimetocaína, que tem afinidade somente um pouco menor do que a cocaína, é um potente reforçador em estudos de auto-administração em macacos Rhesus, enquanto a lidocaína, que tem uma fraca afinidade pelo sítio da DA não é auto-administrada (Woolverton e Balster, 1982).

Graham e Balster (1993) encontraram que a dimetocaína produz evidentes efeitos tipo-cocaína, em ratos treinados a discriminar entre a cocaína e a procaína ou entre a cocaína e a salina; enquanto a dimetocaína substituiu totalmente a cocaína, a lidocaína e a procaína produziram substituição parcial. Esses resultados também parecem ser consistentes com suas afinidades pelo sítio transportador de DA.

Parece estar bem estabelecido que a dimetocaína apresenta potentes efeitos reforçadores, porém a literatura apresenta resultados conflitantes quanto aos efeitos reforçadores de lidocaína e procaína. Enquanto alguns estudos registram que esses dois A.L. são capazes de manter respostas que levam a sua auto-administração em animais experimentais (Ford e Balster, 1977; Hammerbeck e Mitchell, 1978; Beardsley e Balster, 1993), outros têm

encontrado resultados negativos (Colpaert et al., 1979; Morency e Beninger, 1986; Huang e Wilson, 1982).

Embora alguns autores tenham encontrado que a procaína apresenta efeitos tipo-cocaína, deve-se ter em conta que as respostas obtidas sempre são parciais, isto é, a procaína sempre apresenta poucos efeitos. Vários fatores poderiam estar influenciando este efeito da procaína, por exemplo: em virtude dos experimentos serem desenvolvidos com diferentes espécies de animais (ratos, macacos, pombos...), algumas espécies poderiam ter maior ou menor sensibilidade do que outras; além disso, há uma diversidade grande no que diz respeito aos protocolos experimentais e também quanto às doses selecionadas. Porém o fator preponderante responsável pelos limitados efeitos da procaína parece estar ligado a sua afinidade pelo sítio de ligação da dopamina ($K_i = 104 \mu M$), pois conforme citado anteriormente, a afinidade pelo sítio de ligação da dopamina parece ser diretamente proporcional a potência da droga como reforçadora (Ritz et al., 1987).

Embora existam evidências indicando que o sistema dopaminérgico esteja envolvido nos efeitos reforçadores de cocaína e outros A.L., os mecanismos responsáveis por este efeito ainda não estão completamente elucidados. Alguns acreditam que as propriedades anestésicas locais dessas substâncias (inclusive cocaína) estariam contribuindo para este efeito. Morency e Beninger (1986), encontraram que a cocaína administrada via i.p. produzia condicionamento de lugar, não antagonizado pelo pré-tratamento com pimozide (um antagonista dopaminérgico), o que sugeria um mecanismo

não-dopaminérgico mediando este efeito, possivelmente um efeito anestésico local. Porém, quando a cocaína foi microinjetada unilateralmente no ventrículo lateral, para eliminar possíveis efeitos anestésicos locais periféricos, produziu condicionamento de lugar, e o pré-tratamento com pimozide bloqueou este efeito. Essa observação sugere que os efeitos anestésicos locais não contribuíram para o condicionamento, e sim sustenta a idéia de que o condicionamento de lugar foi mediado por neurônios dopaminérgicos centrais.

O efeito anestésico local sugerido por alguns, como responsável pelos efeitos reforçadores de A.L., também foi investigado por outros pesquisadores. McKenna e Ho (1980) procuraram determinar se o efeito estímulo-discriminativo de cocaína era mediado por ação anestésica local (estabilizadora da membrana) ou por ação de aminas biogênicas. Estes autores verificaram que a administração de procaína ou catapressan (droga que induz liberação de noradrenalina) não produziu efeito tipo-cocaína, porém agonistas dopaminérgicos, como a apomorfina, mostraram um efeito indistinguível do efeito da cocaína, indicando que as propriedades estímulo-discriminativas da cocaína são mediadas pelo sistema dopaminérgico. Além disso, foi visto que antagonistas de serotonina (5-HT), como a cinanserina, antagonistas adrenérgicos, tais como a fenoxibenzamina e o sotalol e antagonistas colinérgicos como a atropina, falharam em afetar o percentual de generalização para cocaína. Porém o haloperidol, um antagonista dopaminérgico, alterou significativamente o efeito

dose-resposta da cocaína.

Por outro lado, a capacidade de (+)anfetamina substituir completamente a cocaína tem sido mostrada em numerosos estudos (Colpaert et al., 1979; Callahan et al., 1991; De La Garza e Johanson, 1983; Jarbe, 1984) e já que (+)anfetamina não tem efeitos anestésicos locais, parece claro que a anestesia produzida por cocaína não é o fator preponderante para seus efeitos estímulo-discriminativos.

Diante desses resultados, observa-se que nem todos A.L. têm propriedades reforçadoras positivas, porém a afinidade dessas substâncias pelo sítio transportador de DA parece predizer sua potência para efeitos tipo-cocaína. O fato da dimetocaína ter induzido preferência condicionada de lugar confirma essa hipótese e constitui mais uma evidência quanto a sua capacidade reforçadora.

VI- AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANSIOGENICA/ANSIOLÍTICA

NO TESTE DO LCE

1- Introdução

O LCE tem sido usado como um modelo animal simples e confiável para avaliar os efeitos ansiolíticos e ansiogênicos de drogas (Lister, 1990). Sua base etológica é a aversão natural apresentada por roedores a espaços abertos e elevados e, diante da rapidez, da dispensa de treinamento prévio, equipamento barato, além da sensibilidade a compostos ansiolíticos e ansiogênicos, esse modelo animal de ansiedade tornou-se muito popular em poucos anos (Lister, 1990), e foi validado tanto para ratos (Pellow et al., 1985), como para camundongos (Lister, 1987).

No teste do LCE são registrados a frequência de entradas e o tempo de permanência dos animais nos braços abertos e fechados. As medidas do estado de ansiedade são expressas como a porcentagem de entradas e/ou do tempo de permanência nos braços abertos em relação ao total. Essas medidas variam de modo inversamente proporcional ao grau de ansiedade, ou seja, o aumento da porcentagem de entradas e do tempo nos braços abertos reflete atividade ansiolítica e a redução dessas medidas reflete efeito ansiogênico dos compostos (Pellow et al., 1985; Lister, 1990). Outra medida avaliada neste teste é o número total de entradas no lado fechado, a qual é considerada uma medida adequada para a locomoção (File, 1992).

Embora sejam limitados os dados da literatura descrevendo efeitos de A.L. sobre a ansiedade, em animais, parece que a cocaína, mesmo que diante de relatos controversos, apresenta

efeitos ansiogênicos. Ettenberg e Geist (1991) utilizaram um modelo animal para investigar os efeitos ansiogênicos da auto-administração de cocaína, que consistia no treinamento dos animais para atravessarem um labirinto para que recebessem uma recompensa - injeções i.v. de cocaína. Foi observado que a latência para o início do trajeto permanecia estável, porém ocorria um inesperado e progressivo aumento do tempo que o animal levava para atravessar o corredor ao longo dos dias, sugerindo assim, que esse comportamento conflitante fosse devido às propriedades ansiogênicas da droga.

Por outro lado, em humanos, foi descrito por Saravay et al. (1987) que a lidocaína induz um estado descrito como "doom anxiety" (apreensão sobre morte iminente ou ilusão de que já morreu). Sabe-se que a lidocaína é amplamente usada na clínica como um agente antiarrítmico, porém pacientes que a utilizaram com essa finalidade apresentaram efeitos neurológicos colaterais como, por exemplo: delírio, agitação, confusão, desorientação e alucinações. Dentre as manifestações psíquicas da lidocaína, o efeito denominado "doom anxiety" parece ser a característica principal. Além disso, Kellner et al. (1987), em estudo desenvolvido com humanos encontraram que a procaína pode induzir efeitos disfóricos como, por exemplo, medo e ansiedade, que foram revertidos após a administração i.v. de diazepam. Ademais, estes autores observaram que os níveis de cortisol em pacientes que recebiam procaína estavam elevados.

Assim, o objetivo do presente experimento foi investigar se a dimetocaína, a lidocaína e a procaína poderiam interferir no estado de ansiedade de camundongos submetidos ao teste do LCE.

2- Resultados

Na fig. 8 estão esquematizados os efeitos da administração de dimetocaína (5, 10 e 20 mg/kg) sobre o percentual de frequência de entradas no aberto (fig. 8A) e tempo de permanência no aberto (fig. 8B), no teste do LCE. A análise estatística feita através da ANOVA de uma via, mostrou diferenças significantes entre os tratamentos tanto para a FEA [$F_{3,36}=3.48$, $p= 0.02$], como para o TPA [$F_{3,36}= 8.70$, $p= 0.0003$]. Posteriormente, nas comparações entre os grupos, o teste de Newman-Keuls registrou diferenças significantes somente no parâmetro tempo, sendo que as doses de dimetocaína 10 e 20 mg/kg diminuíram de modo estatisticamente significante o percentual de tempo gasto nos lados abertos em relação ao total, quando comparados ao grupo controle ($p < 0.05$, fig. 8B). Embora tenha sido observada uma queda relativamente acentuada também na frequência de entradas em relação ao total, o teste *post hoc* de Newman-Keuls não detectou diferença estatística para este parâmetro (fig. 8A). Quanto ao número total de entradas no fechado, a administração de dimetocaína (5, 10 e 20 mg/kg), não causou alteração significativa, fig. 8(C) [$F_{3,36}= 2.22$, $p= 0.1$], o que indica que a atividade motora nos grupos tratados com droga não diferiu com o grupo controle. Esses resultados sugerem que a dimetocaína, nas doses utilizadas, apresenta efeitos tipo-ansiológicos.

Os resultados obtidos no teste do LCE após administração de lidocaína (10, 20 e 30 mg/kg) estão representados na fig. 9. Na fig. 9(A) estão resumidos os resultados obtidos com lidocaína sobre a FEA. A análise estatística efetuada através da ANOVA de uma via demonstra um nível de significância entre os tratamentos, um pouco

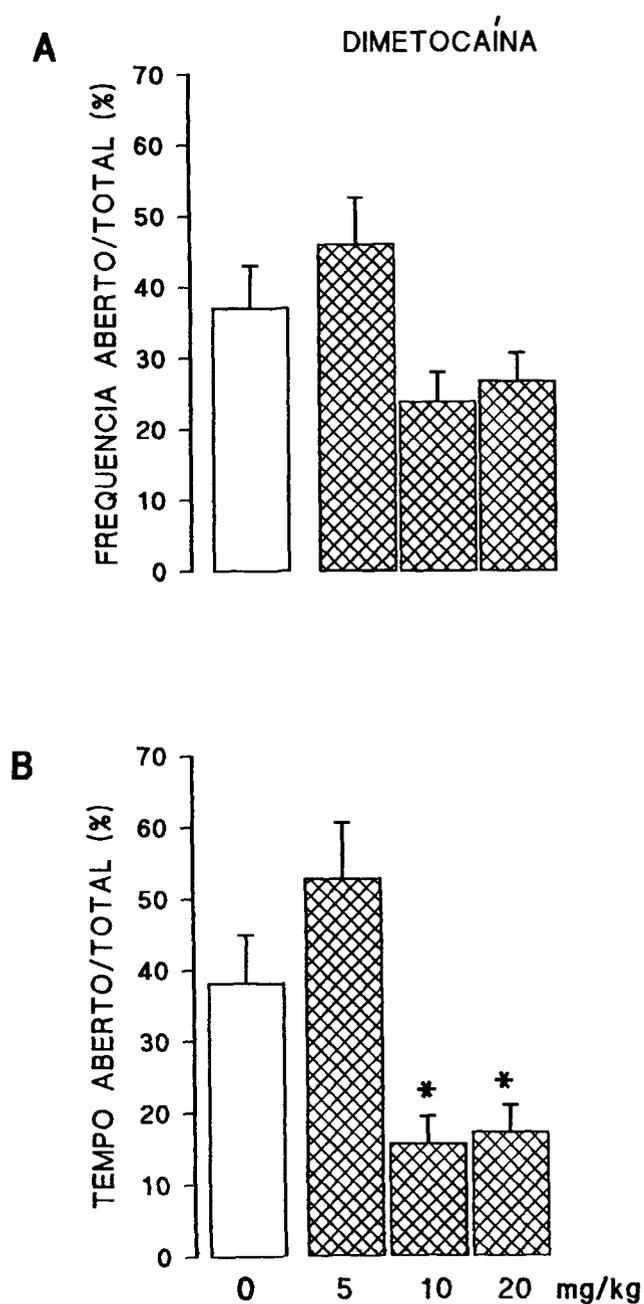


Fig 8(A,B)- Efeitos da administração de dimetocaína ou veículo (i.p.) sobre a performance dos camundongos no LCE. Cada barra representa a média \pm e.p.m. da frequência de entradas no aberto (A), e do tempo permanecido no aberto (B), de 10 animais. * $p < 0.05$ em relação ao grupo controle, teste de Newman Keuls.

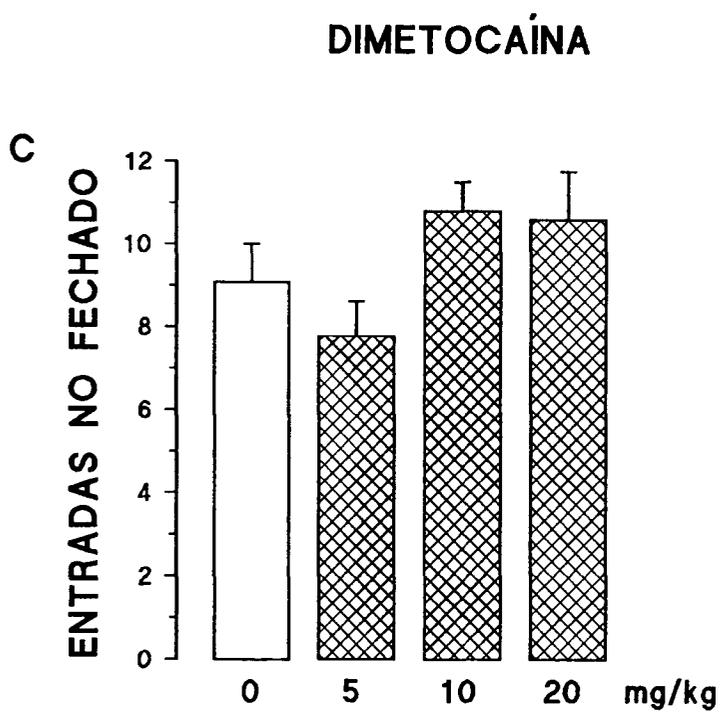


Fig 8(C)- Efeitos da administração de dimetocaína ou veículo (i.p.) sobre a performance dos camundongos no LCE. Cada barra representa a média \pm e.p.m. do nº total de entradas nos lados fechados do LCE.

acima do limite máximo considerado [$F_{3,35} = 2.74$, $p = 0.05696$]. Na fig. 9(B), observa-se que a lidocaína aumentou de modo estatisticamente significativa o TPA, conforme verificado pela ANOVA de uma via [$F_{3,35} = 3.69$, $p = 0.02$]. Em análise posterior, o teste Newman-Keuls detectou diferença significativa para as doses 20 e 30 mg/kg, no parâmetro TPA, se comparadas ao grupo controle ($p < 0.05$). Com o objetivo de melhor interpretar o resultado obtido com a lidocaína foi realizada uma análise estatística para comparações dois a dois através do teste "t" de Student, a qual detectou diferenças significantes entre o grupo controle e o grupo que recebeu lidocaína 10 mg/kg para o parâmetro tempo ($p = 0.03$). Os grupos controle x lidocaína 20 mg/kg e controle x lidocaína 30 mg/kg foram estatisticamente diferentes tanto para o parâmetro frequência ($p = 0.027$ e $p = 0.003$) como para o parâmetro tempo ($p = 0.01$ e $p = 0.001$), respectivamente. O número total de entradas no fechado, após a administração de lidocaína (10, 20 e 30 mg/kg) está ilustrado na fig. 9(C). Este parâmetro não sofreu alteração significativa, conforme indicou a ANOVA de uma via [$F_{3,35} = 0.78$, $p = 0.51$]. Esses resultados apontam para um efeito tipo-ansiolítico da lidocaína.

Na fig. 10 estão detalhados os resultados obtidos após a administração de procaína (20, 30 e 50 mg/kg) no teste do LCE. Na parte superior (fig. 10A), observa-se que a procaína promoveu uma tendência em elevar a FEA nas doses de 30 e 50 mg/kg. A análise estatística realizada através da ANOVA de uma via mostrou diferenças significantes entre os tratamentos [$F_{3,36} = 4.01$, $p = 0.01$], porém a análise *post hoc* de Newman-Keuls não encontrou diferenças

significantes quando foram comparadas as várias doses de procaína em relação ao controle. Assim, foi efetuada uma nova análise estatística com o uso do teste "t" de Student, a qual detectou diferenças significantes para este parâmetro tanto para a procaína 30 mg/kg ($p= 0.01$) como para a procaína 50 mg/kg ($p= 0.03$). Na figura inferior (10B), estão os resultados obtidos sobre o TPA. A análise estatística ANOVA de uma via não verificou alteração significativa neste parâmetro [$F_{3,36}= 1.67, p= 0.18$], porém conforme pode ser visualizado no gráfico, a procaína, nas 3 doses, apresentou uma tendência em elevar o TPA. A medida de atividade avaliada pelo NEF está ilustrada na fig. 10(C). A ANOVA de uma via não registrou alteração significativa entre os tratamentos [$F_{3,36}= 2.41, p= 0.08$], indicando que a atividade geral não foi afetada. Estas observações feitas no LCE, após administração de procaína indicam uma tendência de efeito ansiolítico dessa substância.

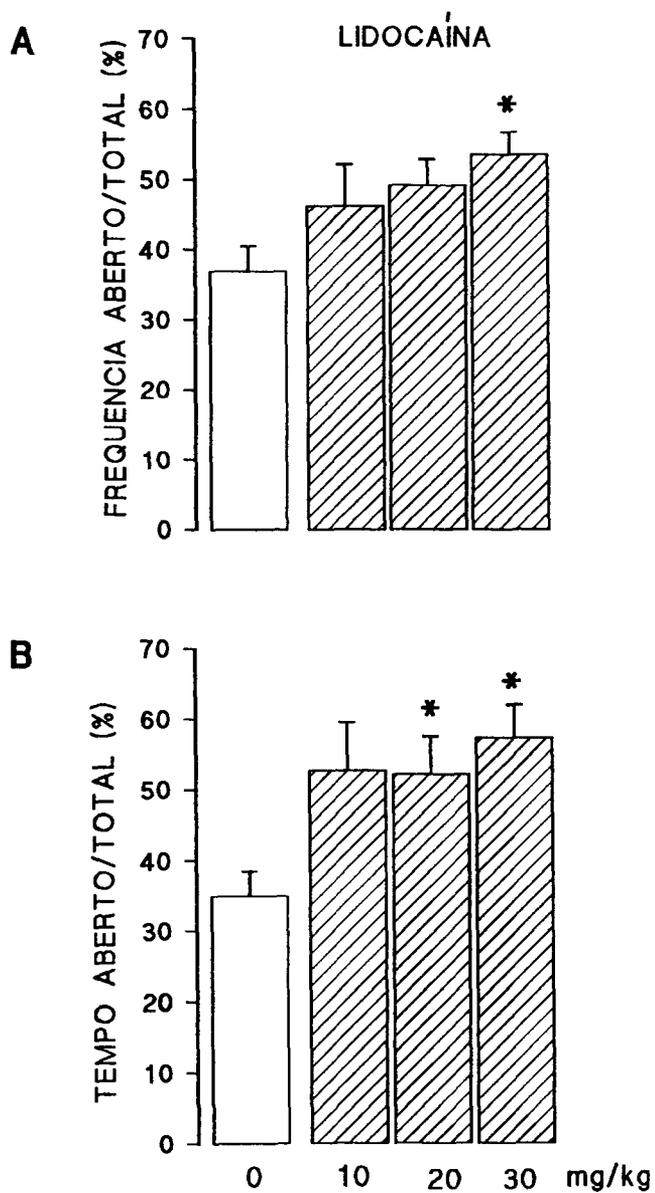


Fig 9(A,B)- Efeitos da administração de lidocaína ou veículo (i.p.) sobre a performance dos camundongos no LCE. Cada barra representa a média \pm e.p.m. da frequência de entradas no aberto (A), e do tempo permanecido no aberto (B), de 10 animais. * $p < 0.05$ em relação ao grupo controle, teste de Newman Keuls.

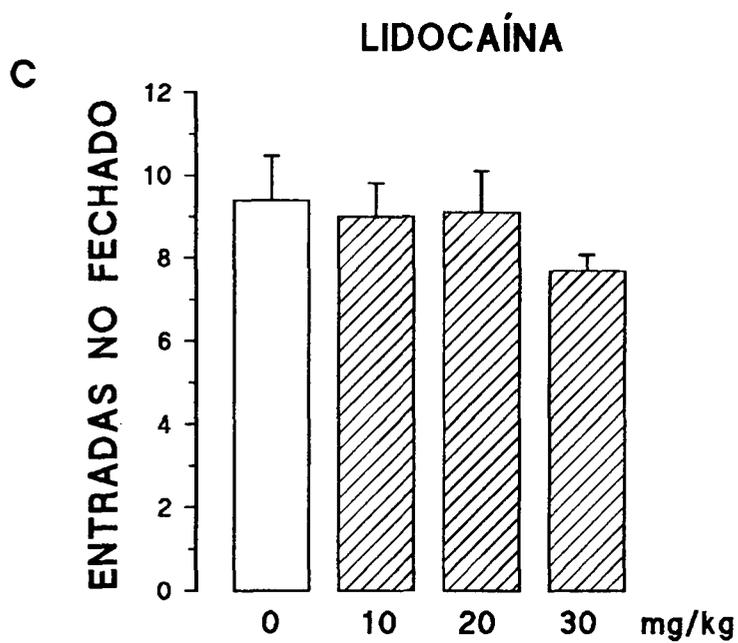


Fig 9(C)- Efeitos da administração de lidocaína ou veículo (i.p.) sobre a performance dos camundongos no LCE. Cada barra representa a média \pm e.p.m. do n° total de entradas nos lados fechados do LCE.

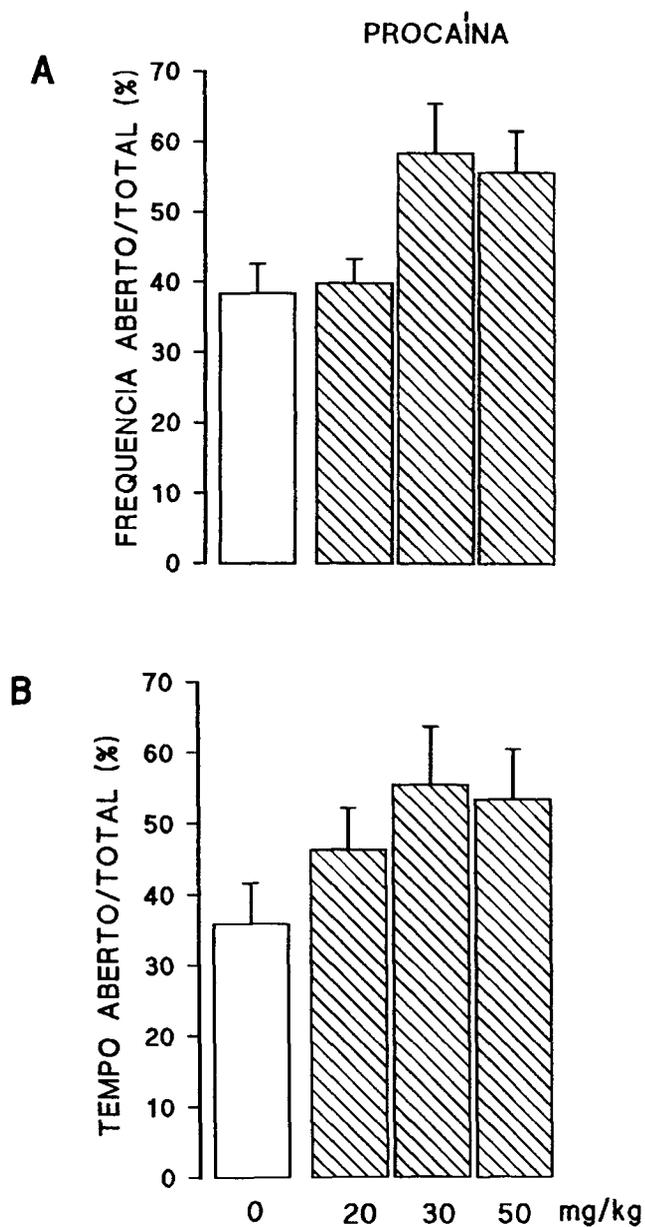


Fig 10(A,B)- Efeitos da administração de procaína ou veículo (i.p.) sobre a performance dos camundongos no LCE. Cada barra representa a média \pm e.p.m. da frequência de entradas no aberto (A), e do tempo permanecido no aberto (B), de 10 animais.

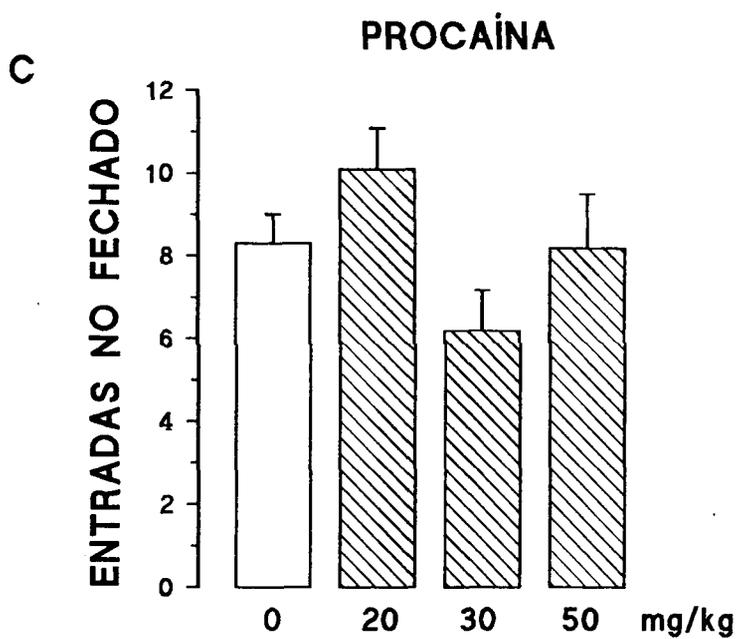


Fig 10(C) - Efeitos da administração de procaína ou veículo (i.p.) sobre a performance dos camundongos no LCE. Cada barra representa a média \pm e.p.m. do n^o total de entradas nos lados fechados do LCE.

3- Discussão

Ao menos no nosso conhecimento, não existem estudos prévios comparando os efeitos de A.L. no LCE. Os resultados obtidos parecem indicar que a administração sistêmica de dimetocaína, lidocaína e procaína alteram o comportamento de camundongos testados no LCE, porém de modo conflitante. O resultado mais expressivo do presente experimento foi observado em camundongos injetados com dimetocaína que exibiram um aumento da aversão aos braços abertos do labirinto, sugerindo um efeito ansiogênico. Curiosamente a administração de lidocaína e procaína causou um efeito oposto, isto é, os camundongos reduziram a aversão aos braços abertos, indicativo de um efeito ansiolítico neste modelo.

Embora não existam relatos anteriores sobre a influência de dimetocaína em processos que medeiam a ansiedade, sabe-se que a cocaína produz ansiedade tanto em humanos como em animais (Van Dyke et al., 1979; Ettenberg e Geist, 1991; Yang et al., 1992). Por exemplo, foi descrito por Yang et al. (1992) que camundongos tratados com cocaína e avaliados no teste do LCE apresentavam uma significativa resposta ansiogênica.

Em virtude da grande semelhança entre as estruturas químicas da dimetocaína e da cocaína, além das outras evidências obtidas em experimentos anteriores, poderia se pensar num mecanismo ansiogênico comum dessas substâncias. Todavia, os mecanismos exatos pelos quais essas drogas causam ansiedade ainda permanecem indefinidos.

Embora os resultados obtidos com a dimetocaína sejam

condizentes com os efeitos da cocaína, os resultados obtidos com a lidocaína e a procaína foram surpreendentes e inesperados. Além disso, a avaliação dos resultados da lidocaína e da procaína feita através de ANOVA e subsequente teste de Newman Keuls não mostrou-se muito clara, optando-se assim por analisar esses resultados também através do teste "t" de Student para comparações dois a dois. Os efeitos ansiolíticos da lidocaína e da procaína pareceram ter ficado mais evidentes quando os resultados foram analisados através do teste "t". Esses efeitos ansiolíticos da lidocaína e da procaína no presente experimento estão em oposição às nossas expectativas e também aos relatos clínicos que descrevem a ocorrência de estados ansiosos em pacientes tratados com lidocaína e procaína (Saravay et al., 1987; Kellner et al., 1987). Certamente estudos adicionais serão necessários para melhor explorar os efeitos da lidocaína e procaína no LCE.

É importante ressaltar que, além da literatura restrita abordando os efeitos de A.L., como dimetocaína, lidocaína e procaína, sobre "estados de ansiedade" em animais, mesmo para a cocaína os relatos existentes acerca de seus efeitos ansiogênicos ainda são inconsistentes. Rogério e Takahashi (1992a,b) sugerem que a capacidade de cocaína induzir propriedades ansiogênicas, tanto em ratos como em camundongos, pode depender, pelo menos em parte, do estado de excitação do animal. Além disso, é relatado que os limitados e confusos resultados descritos sobre os efeitos ansiogênicos de cocaína em modelos animais, parecem ser consistentes com relatos inconclusivos da correlação entre abuso de

cocaína e ansiedade em humanos. De qualquer modo, parece claro que o modelo de ansiedade avaliado através do LCE é sensível aos três anestésicos testados.

VII- AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANALGÉSICA NOS TESTES DE "TAIL-FLICK", PLACA QUENTE E CONTORÇÕES

1- Introdução

Ao contrário do que ocorre com a avaliação de estados de ansiedade após o uso de A.L., existe um número considerável de artigos descrevendo os efeitos analgésicos de alguns A.L. (Wiesenfeld-Hallin e Lindblom, 1985; Sotgiu et al., 1991; Tanelian e MacIver, 1991; Abram e Yaksh, 1994). Vários também são os modelos animais desenvolvidos com a finalidade de avaliar as propriedades analgésicas de diferentes substâncias. Tanto o teste de "Tail-flick" como o teste da placa quente são testes nociceptivos, cuja natureza do estímulo é térmica. A estimulação térmica tem as vantagens de ser facilmente controlada e aplicada e de não estimular mecanorreceptores. As respostas para o primeiro teste não envolvem alto grau de coordenação motora-sensorial, já que as respostas variam pouco entre animais intactos e espinhalizados (Irwin et al., 1951 apud Ramabadran e Bansinath, 1986). O teste da placa quente parece ser menos sensível do que o teste de "Tail-flick", porém a importância desse é que ele conta com uma resposta mais complexa e integrada dos animais, refletindo então processos que ocorrem a nível elevado no SNC (Barthelemy et al., 1971 apud Ramabadran e Bansinath, 1986). Outra variedade de testes de analgesia são aqueles cuja nocicepção é induzida por substâncias químicas, como é o caso do teste de contorções.

Muitos estudos clínicos e experimentais têm sugerido que A.L. do tipo amida como a lidocaína e do tipo éster como a procaína,

apresentam um potencial efeito antinociceptivo. A literatura clínica cita que a administração sistêmica de lidocaína produz um efeito antinociceptivo em alguns casos de dor neuropática e pós-operatória (Rowlingson et al., 1980; Bach et al., 1990). Esse efeito de antinocicepção também foi demonstrado em estudos com animais. Ossipov et al. (1988) verificaram que, a lidocaína e a procaína, foram equiefetivas no teste de Haffner produzindo inibição dose-dependente da resposta de morder, e no "Tail-flick", ambas aumentaram a latência com administração de baixas doses. Sotgiu et al. (1991), em ensaios para verificar atividade de neurônios do corno dorsal de rato, mostrou que a lidocaína induz uma redução dessa atividade evocada por estímulo nocivo, mostrando uma frequência de disparos comparáveis aos valores basais. Grant et al. (1993) encontrou que a administração de A.L., como procaína, na base da cauda, em camundongos, eleva a latência no teste de "Tail-flick" e Abram e Yaksh (1994) mostraram que a lidocaína foi efetiva em reduzir o número de "flinching" no teste da formalina e causou uma seletiva redução na hiperalgesia no teste da compressão crônica do nervo ciático, em ratos.

O exato mecanismo de ação, responsável por esse efeito antinociceptivo dos A.L. ainda não está claro, porém acredita-se numa ação central específica dessas substâncias já que trabalhos mostram que alguns A.L. têm a capacidade de promover analgesia sem interferir com o bloqueio da condução nervosa (Woolf e Wiesenfeld-Hallin, 1985; Tanelian e MacIver, 1991).

Diante das considerações acima, o presente estudo teve como

objetivo avaliar se a dimetocaína, a lidocaína e a procaína têm propriedades analgésicas em diferentes modelos de nocicepção.

2- Resultados

2.1- "Tail-Flick" e Placa Quente

A fig. 11(A,B) resume os efeitos da administração de dimetocaína (5, 10 e 20 mg/kg) nos testes de "Tail-flick" e Placa quente, respectivamente. Com o objetivo de deixar mais clara a representação gráfica dos resultados, foram omitidos os erros padrões em todos os gráficos tempo-dependentes dos testes de "Tail-flick" e Placa quente. Os efeitos antinociceptivos tempo-dependentes de dimetocaína nestes testes mostram um início rápido, com pico máximo aos 15 minutos após a injeção e com duração transitória por \pm 30 minutos. A análise estatística realizada através da ANOVA de duas vias, para medidas repetidas, sobre os resultados obtidos no teste de "Tail-flick", fig. 11(A), indicou diferenças significantes para os tratamentos [$F_{3,41} = 7.56$, $p < 0.001$], e para o fator tempo [$F_{4,40} = 6.3$, $p < 0.001$], porém na análise da interação tratamento x tempo não foi detectada diferença significativa [$F_{12,82} = 0.89$, $p = 0.5$]. Aos 15 minutos, foi observado um aumento significativo na latência para a dimetocaína 10 mg/kg, quando comparada ao grupo controle, conforme detectado pelo teste subsequente de Newman-Keuls ($p < 0.05$). Embora as outras duas doses também tivessem apresentado uma elevação da latência para a retirada da cauda, esse resultado não chegou a ser significativo ($p > 0.05$). Nos demais intervalos de tempo (30, 45 e 60 minutos), o teste de Newman-Keuls não detectou diferenças significantes, embora

a dimetocaína 10 mg/kg, e em menor grau a dimetocaína 5 mg/kg tivessem mantido o aumento da referida latência até os 60 minutos ($p > 0.05$). No teste da Placa quente, fig. 11(B), a análise estatística efetuada através da ANOVA de duas vias, para medidas repetidas, indicou diferenças significantes para o fator tratamento [$F_{3,41} = 3.8$, $p=0.01$] e para o fator tempo [$F_{4,40} = 10.1$, $p= 0.001$]. Além disso, a interação tratamento x tempo também mostrou-se estatisticamente significativa [$F_{12,82} = 2.08$, $p= 0.01$]. A diferença entre os grupos tratados e o grupo controle foi determinada através do teste de Newman-Keuls, o qual detectou diferenças significantes para as doses de 10 e 20 mg/kg, aos 15 minutos ($p < 0.05$). Nos intervalos de tempo 30, 45 e 60 minutos, a latência dos grupos tratados voltou aos níveis basais.

A fig. 12 mostra os efeitos antinociceptivos da dimetocaína avaliados 15 minutos após sua administração, nos teste de "Tail-flick" e Placa quente. A representação gráfica mostra claramente que a dimetocaína foi efetiva em elevar as latências para a retirada da cauda e para o lambar das patas, e confirmando a figura anterior, a análise estatística efetuada através da ANOVA de uma via, detectou diferenças significantes no teste de "Tail-flick" [$F_{3,41} = 2.85$, $p= 0.04$] e no teste da Placa quente [$F_{3,41} = 5.66$, $p= 0.002$]. O teste subsequente de Newman-Keuls detectou diferenças

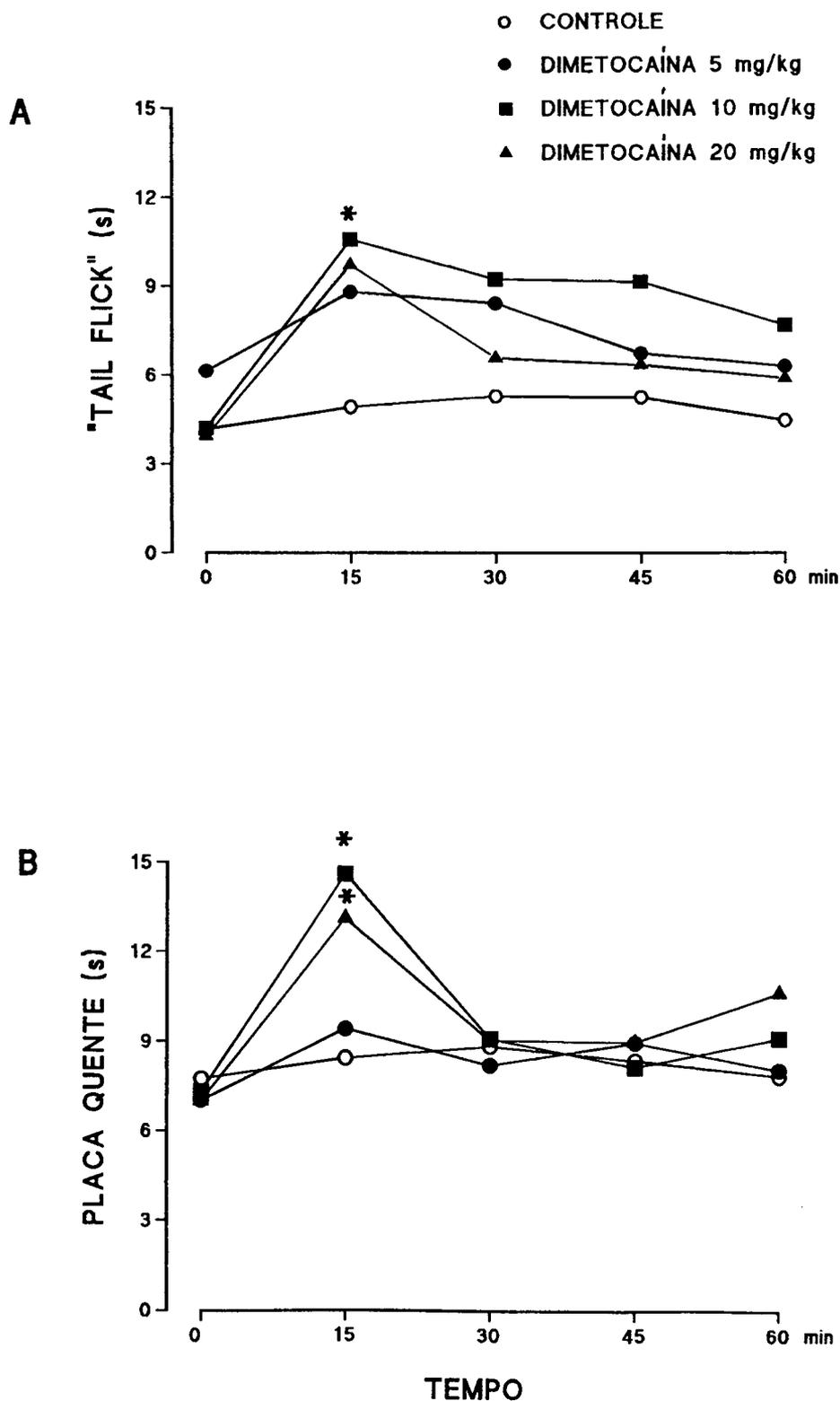


Fig 11(A,B)- Efeitos da administração de dimetocaína na latência para a retirada da cauda no teste de "tail flick" (A) e na latência para o lamber das patas anteriores no teste da placa quente (B), em camundongos. Os dados expressos representam a média de 10-15 animais. * $p < 0.05$ em relação ao grupo controle, teste de Newman Keuls.

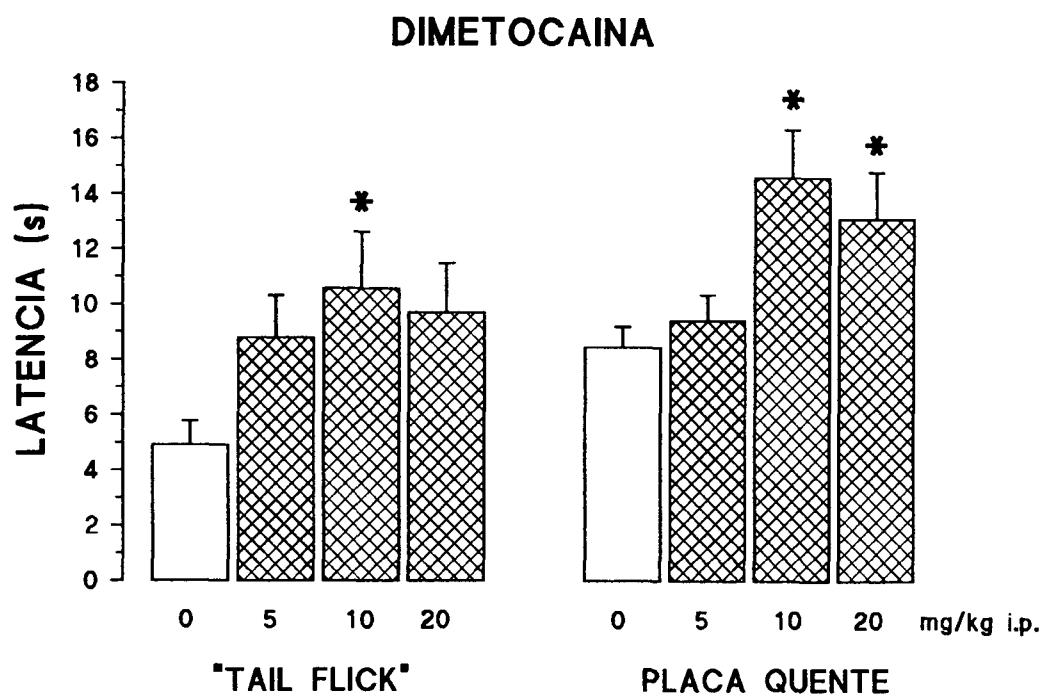


Fig 12- Efeitos da dimetocaina injetada i.p. sobre as latências no teste de "tail flick" e placa quente. As latências foram registradas 15 min após a injeção. Os resultados estão expressos como a média \pm e.p.m. de 10-15 camundongos. * $p < 0.05$ em relação ao grupo controle, teste de Newman Keuls.

significantes somente para a dose de 10 mg/kg no teste de "Tail-flick" e para as doses de 10 e 20 mg/kg no teste da Placa quente ($p < 0.05$). Esses resultados sugerem um efeito analgésico central da dimetocaína.

Os resultados obtidos após administração de lidocaína (10, 20 e 30 mg/kg) nos testes de "Tail-flick" e Placa quente estão esquematizados na fig. 13(A,B), respectivamente. A lidocaína parece produzir efeitos antinociceptivos, nestes testes, que mostram um rápido início, com pico máximo aos 15 minutos após a injeção e com uma duração que se prolonga até os 60 minutos.

No teste de "Tail-flick", fig. 13(A), a análise estatística realizada através da ANOVA de duas vias, para amostras repetidas, demonstrou diferença significativa para os tratamentos [$F_{3,36} = 7.53$, $p < 0.001$] e para o fator tempo [$F_{4,35} = 4.66$, $p = 0.001$], porém na interação tratamento x tempo não foi detectada diferença significativa [$F_{12,67} = 0.81$, $p = 0.6$]. As comparações entre os tratamentos e o grupo controle foram feitas através de análise *post hoc* de Newman-Keuls, o qual detectou diferença estatisticamente significativa para a dose de 10 mg/kg ($p < 0.05$), aos 15 e 60 minutos, quando comparada ao grupo controle. Os intervalos de tempo 30 e 45 min não apresentaram diferenças significativas ($p > 0.05$).

A fig. 13(B), resume os resultados obtidos no teste da placa quente após a administração da lidocaína. A análise estatística obtida através da ANOVA de duas vias, para amostras repetidas, detectou diferenças significativas para os tratamentos [$F_{3,39} = 15.8$, $p < 0.001$] e também para o tempo [$F_{4,38} = 4.28$, $p = 0.002$], enquanto

que para a interação tratamento x tempo, os valores não foram significantes [$F_{12,73} = 1.04$, $p = 0.4$]. A análise *post hoc* de Newman-Keuls feita para detectar diferenças em relação ao grupo controle mostrou que a lidocaína 20 e 30 mg/kg apresentou um aumento significativo na latência para o lambe das patas nos intervalos 15 e 30 minutos ($p < 0.05$), porém aos 45 minutos, embora a latência ainda se mostrasse elevada, não foi vista diferença significativa ($p > 0.05$). Aos 60 minutos, novamente foi obtido resultado significativo ($p < 0.05$), porém esse resultado possivelmente deveu-se a uma queda acentuada da latência apresentada pelo grupo controle.

Na fig. 14 estão resumidos os resultados obtidos nos testes de "Tail-flick" e Placa quente, 15 minutos após a administração de lidocaína. Observa-se que a lidocaína não apresenta um efeito dose-dependente para o teste de "Tail-flick". A ANOVA de uma via detectou diferenças significantes entre os tratamentos [$F_{3,36} = 10.73$, $p = 0.001$], porém o teste subsequente de Newman-Keuls mostrou que a única dose que induziu um aumento na latência, de modo estatisticamente significativo ($p < 0.05$) foi a menor dose testada, 10 mg/kg. Já no teste da placa quente, a ANOVA de uma via demonstrou efeitos significantes para os tratamentos [$F_{3,39} = 6.06$, $p = 0.002$] e o teste subsequente de Newman-Keuls detectou significância para as três doses testadas ($p < 0.05$). Esses resultados sugerem um efeito analgésico de lidocaína nesses modelos de dor induzida por estimulação térmica.

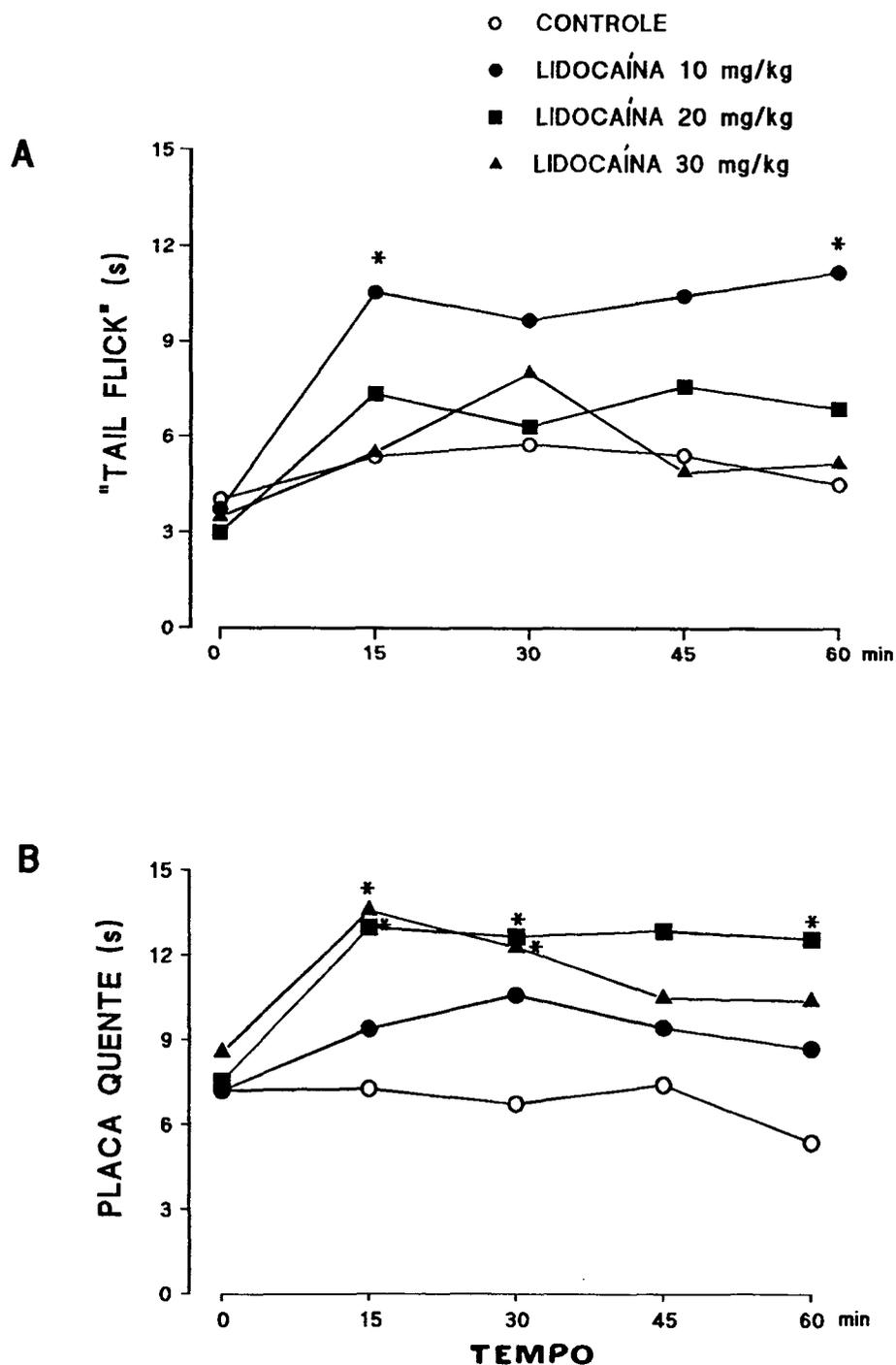


Fig 13(A,B)- Efeitos da administração de lidocaína na latência para a retirada da cauda no teste de "tail flick" (A) e na latência para o lamber das patas anteriores no teste da placa quente (B), em camundongos. Os dados expressos representam a média de 10-15 animais. * $p < 0.05$ em relação ao grupo controle, teste de Newman Keuls.

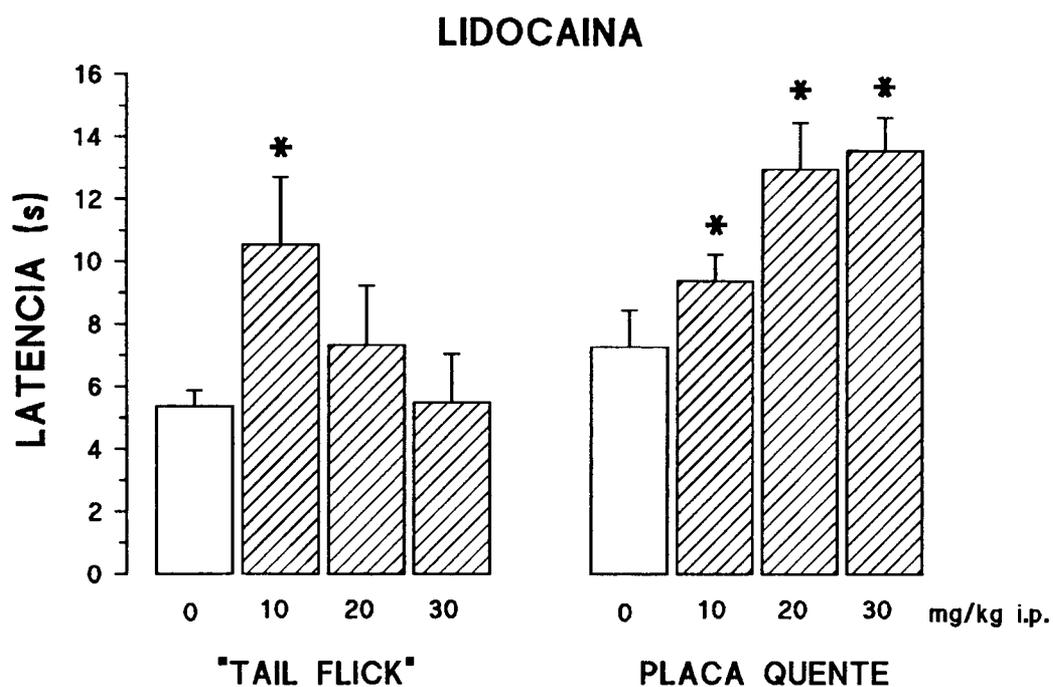


Fig 14- Efeitos da lidocaína injetada i.p. sobre as latências no teste de "tail flick" e placa quente. As latências foram registradas 15 min após a injeção. Os resultados estão expressos como a média \pm e.p.m. de 10-15 camundongos. * < 0.05 em relação ao grupo controle, teste de Newman Keuls.

Os efeitos da administração de procaína (20, 30 e 50 mg/kg) nos testes de "Tail-flick" e Placa quente estão ilustrados na fig. 15(A,B), respectivamente. Os efeitos tempo-dependente de procaína nesses dois testes parecem não apresentar o mesmo perfil observado com os outros dois A.L. descritos anteriormente. A procaína, no teste de "Tail-flick" parece produzir um início rápido de ação, com duração transitória, enquanto que no teste da placa quente parece que seus efeitos iniciam aos 15 minutos, com seu pico máximo em torno dos 30 minutos após a injeção, e com duração de efeito mantida até os 60 minutos.

No teste de "Tail-flick", fig. 15(A), a análise estatística desenvolvida através de ANOVA de duas vias, para amostras repetidas, indicou diferenças significantes entre os tratamentos [$F_{3,36} = 4.75$, $p = 0.003$] e entre o fator tempo [$F_{4,35} = 4.04$, $p = 0.004$], mas na interação tratamento x tempo não foi detectada diferença significativa [$F_{12,67} = 0.54$, $p = 0.88$]. Não houve diferenças significantes entre os grupos tratados e controle (teste de Newman-Keuls, $p > 0.05$). Curiosamente a procaína 50 mg/kg induziu latências inferiores ao grupo controle.

A fig. 15(B), resume os resultados obtidos no teste da Placa quente após a administração de procaína. A análise estatística realizada através da ANOVA de duas vias, para amostras repetidas, identificou diferenças significantes para os tratamentos [$F_{3,36} = 5.15$, $p = 0.002$], enquanto que para o tempo e para a interação tratamento x tempo os valores não foram significantes [$F_{4,35} = 2.26$, $p = 0.06$] e [$F_{12,67} = 0.71$, $p = 0.7$]. Embora a procaína nas doses 20 e 30

mg/kg apresentassem uma certa tendência em aumentar a latência para o lambe das patas, nos intervalos 15, 30 e 45 minutos, a análise estatística obtida através do teste *post hoc* de Newman-Keuls não mostrou resultados significantes quando comparados ao grupo controle ($p > 0.05$), porém aos 60 minutos foi verificado que procaína 20 mg/kg foi diferente do grupo controle ($p < 0.05$), resultado este que decorreu possivelmente em virtude da acentuada diminuição na latência dos animais controle.

Como mostra a fig. 16, camundongos tratados com procaína apresentaram um pequeno aumento nas latências nos testes de "Tail-flick" e Placa quente, 15 minutos após a administração da droga, porém esses resultados não apresentaram significância estatística, conforme mostrou a ANOVA de uma via [$F_{3,36} = 1.77$, $p = 0.16$] e [$F_{3,36} = 0.67$, $p = 0.57$], respectivamente.

2.2- Contorções

Na fig. 17(A,B,C) estão esquematizados os resultados obtidos no teste das contorções induzidas por ácido acético após administração de dimetocaína (5, 10 e 20 mg/kg), lidocaína (10, 20 e 30 mg/kg) e procaína (20, 30 e 50 mg/kg), respectivamente. Observa-se que a dimetocaína nas três doses utilizadas, (fig. 17A), induziu uma antinocicepção dose-dependente e estatisticamente significativa contra as contorções (ANOVA [$F_{3,43} = 6.41$, $p = 0.001$]). As diferenças em relação ao grupo controle foram avaliadas através do teste *post hoc* de Newman-Keuls, o qual detectou significância

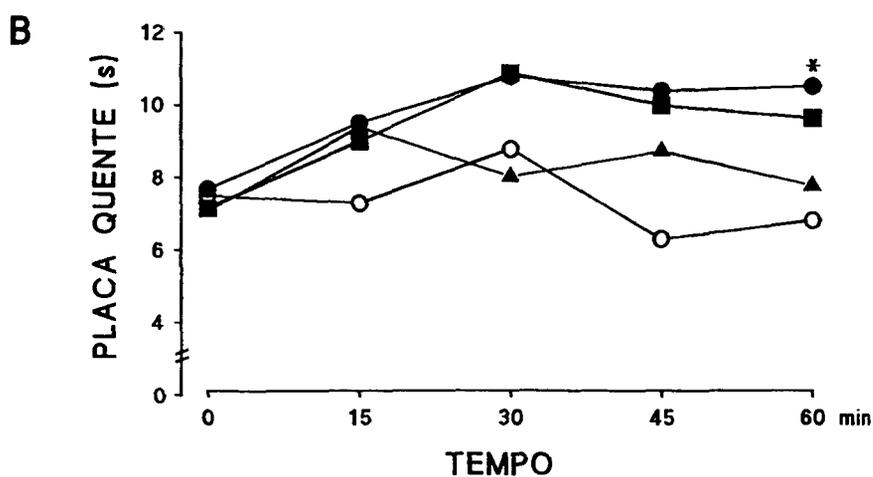
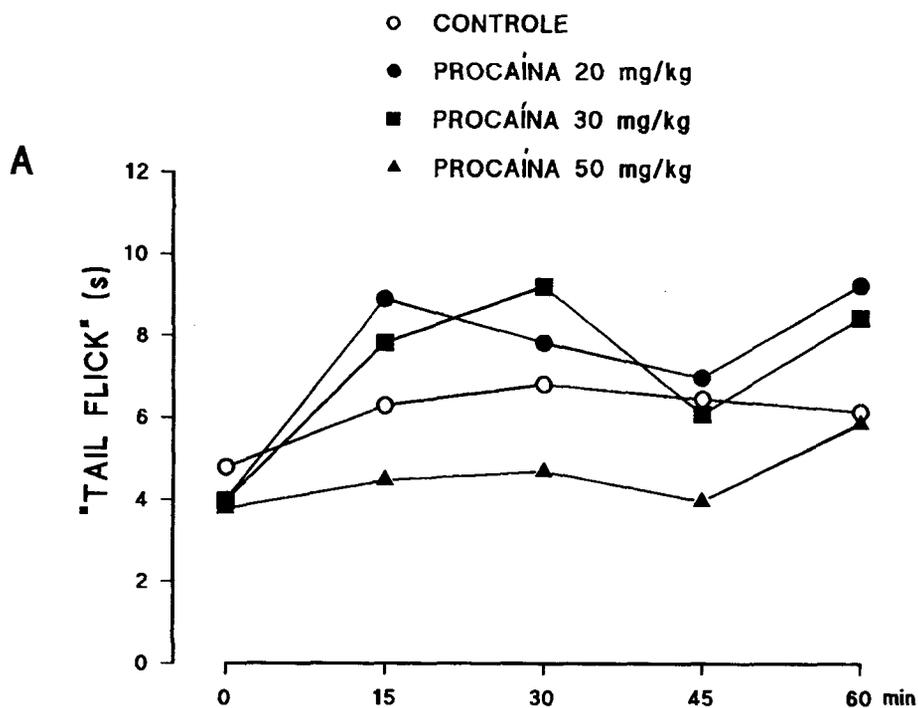


Fig 15(A,B)- Efeitos da administração de procaína na latência para a retirada da cauda no teste de "tail flick" (A) e na latência para o lamber das patas anteriores no teste da placa quente (B), em camundongos. Os dados expressos representam a média de 10-15 animais. * $p < 0.05$ em relação ao grupo controle, teste de Newman Keuls.

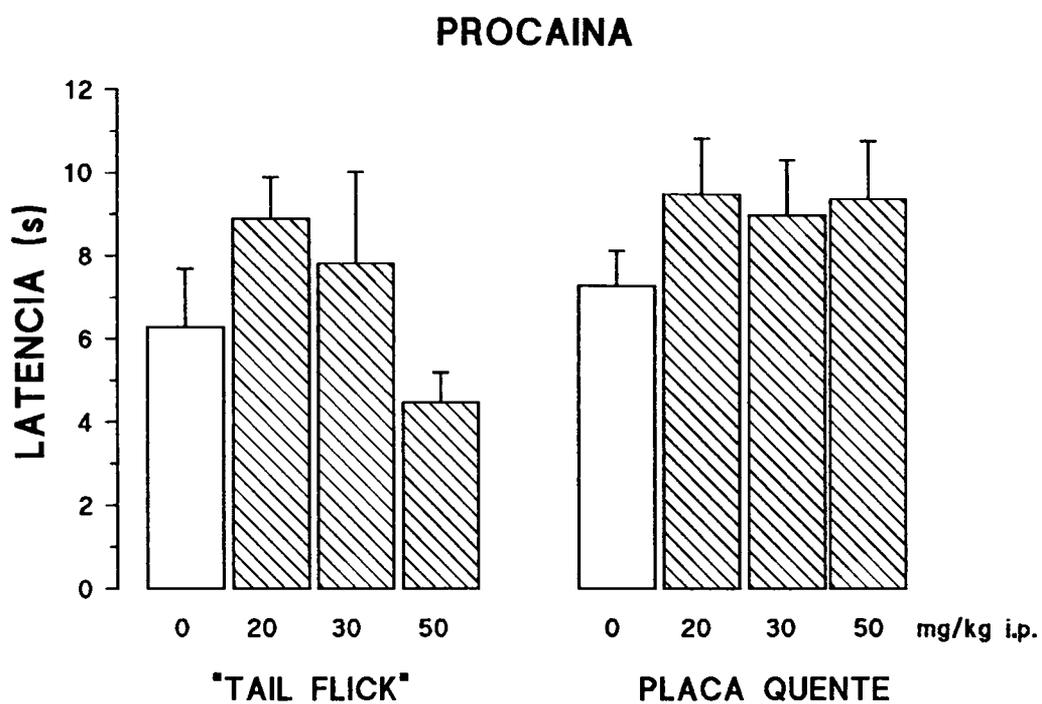


Fig 16- Efeitos da procaína injetada i.p. sobre as latências no teste de "tail flick" e placa quente. As latências foram registradas 15 min após a injeção. Os resultados estão expressos como a média \pm e.p.m. de 10-15 camundongos.

para as três doses quando comparadas com o grupo controle ($p < 0.05$). Na fig. 17(B), observa-se que a lidocaína apresentou um perfil de resposta semelhante à dimetocaína, levando a uma diminuição considerável do número de contorções de maneira dose-dependente. Este efeito antinociceptivo foi estatisticamente significativo (ANOVA [$F_{3,36} = 10.73$, $p = 0.0001$]). O teste *post hoc* de Newman-Keuls verificou que a lidocaína, nas três doses, diminuiu de forma significativa o número de contorções quando comparada com o grupo controle ($p < 0.05$). A procaína também mostrou uma inibição significativa das contorções induzidas por ácido acético, conforme mostrou a ANOVA [$F_{3,42} = 7.92$, $p = 0.0004$]. Embora as respostas não apresentassem dose-dependência, o teste *post hoc* de Newman-Keuls detectou diminuição significativa, nas três doses, sobre o número de contorções se comparadas ao grupo controle ($p < 0.05$), (fig. 17C). Os resultados obtidos neste teste sugerem que os três A.L. testados produzem efeitos sobre respostas nociceptivas induzidas por ácido acético.

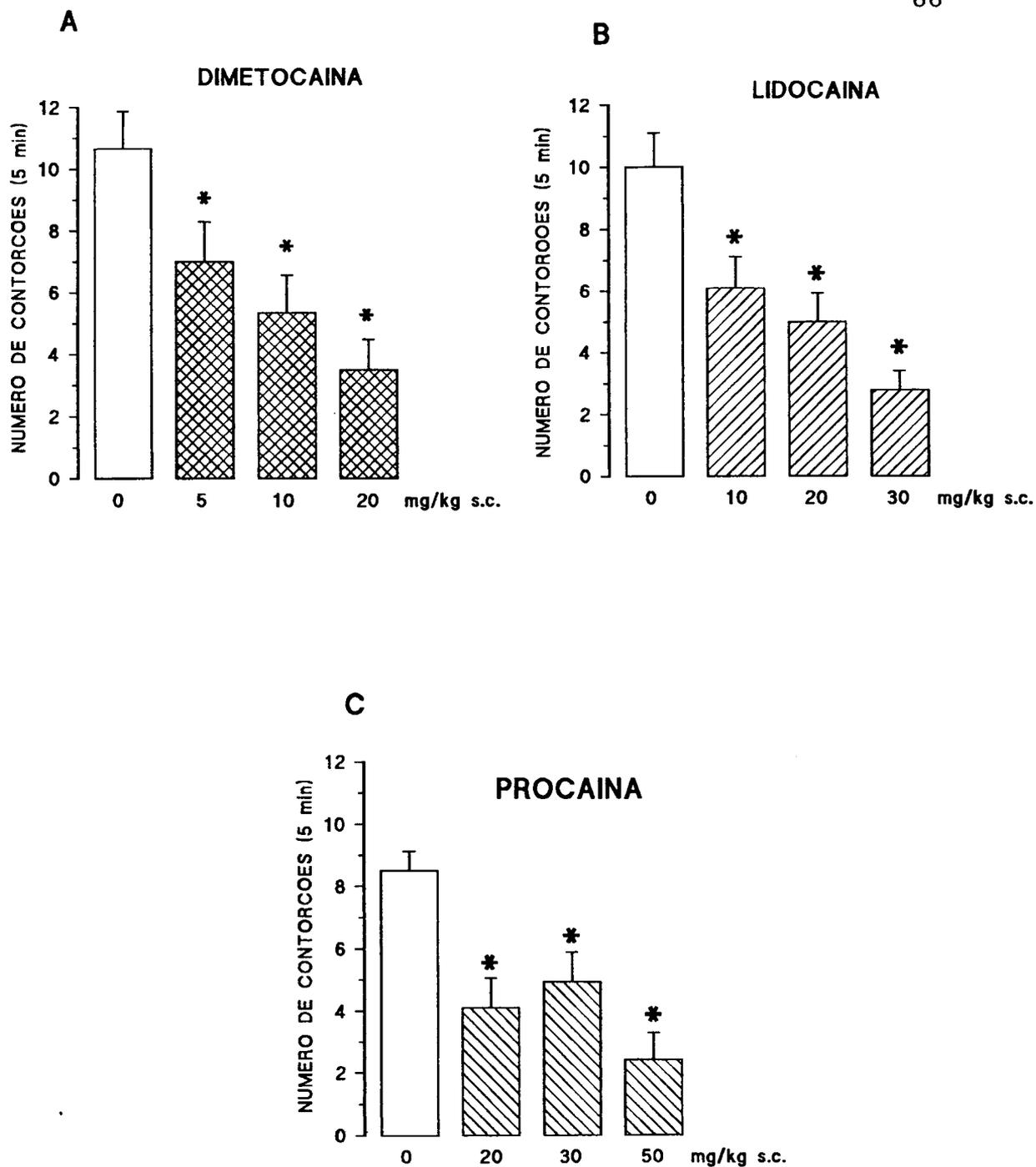


Fig 17(A,B,C)- Efeitos da administração de dimetocaina (fig 17A), lidocaina (fig 17B) e procaína (fig 17C) sobre o n° de contorções induzidas pelo ácido acético. Os dados expressos representam a média \pm e.p.m. de 10-15 camundongos. * $p < 0.05$ em relação ao grupo controle, teste de Newman Keuls.

3- Discussão

A administração sistêmica de lidocaína e dimetocaína aumentou significativamente as latências para os testes de "Tail-flick" e Placa quente, e reduziu de modo dose-dependente o número de contorções induzidas por ácido acético, em camundongos, confirmando e estendendo os dados da literatura que sugerem que A.L. apresentam propriedades antinociceptivas. Embora não se conheçam exatamente os mecanismos responsáveis pelos efeitos analgésicos de dimetocaína e lidocaína, vários achados levam a crer numa ação central dessas substâncias (Woolf e Wiesenfeld-Hallin, 1985; Bach et al., 1990; Sotgiu et al., 1991; Biella e Sotgiu, 1993). Adicionalmente, é possível que a analgesia induzida por lidocaína e dimetocaína seja principalmente devida a mecanismos supraespinhais, já que ambos anestésicos foram efetivos no teste da Placa quente mediado supraespinhalmente e provocaram um efeito pouco significativo no teste de "Tail-flick".

Neste sentido é importante enfatizar que os efeitos analgésicos registrados no presente estudo foram obtidos sem qualquer dano motor que seria esperado se mecanismos motores periféricos fossem afetados por bloqueio anestésico local.

A procaína apresentou efeitos limitados nos testes de analgesia. Na verdade os efeitos significantes da procaína no teste das contorções parecem ter resultado da grande sensibilidade do referido método. Ramabadran e Bansinath (1986), comentam que esse

método muitas vezes gera resultados falso-positivos para drogas não-analgésicas. Por outro lado, já que este método presumivelmente produz uma inflamação na área peritoneal, poderia se supor que as reduções no número de contorções seriam evidência de um predominante efeito antinociceptivo periférico da procaína.

Sabe-se, por outro lado, que a cocaína, administrada sistemicamente, promove um efeito analgésico em ratos submetidos ao teste da formalina e ao teste da Placa quente (Lin et al., 1989). Além disso, esses autores sugeriram que essa ação analgésica da cocaína envolvia efeitos centrais sobre a transmissão sináptica monoaminérgica, sem afetar as vias opióides, pois enquanto os antagonistas dopaminérgicos, como eticlopride e SCH 23390, bloqueavam essa analgesia, a naloxona, um antagonista opióide, não promovia o mesmo efeito.

Por analogia à ação da cocaína é possível que a atividade sobre sistemas dopaminérgicos centrais fundamentem a analgesia produzida por administração sistêmica de dimetocaína. Entretanto, esta hipótese parece improvável para a lidocaína, pois conforme comentado anteriormente a afinidade da lidocaína pelo sítio de recaptção da DA parece ser bem menor que o da dimetocaína (Ritz et al., 1987). Neste sentido é importante mencionar os relatos de que a lidocaína possui efeitos inibitórios centrais mediados por receptores espinhais de glicina sensíveis a estricnina bem antes do bloqueio da condução ser estabelecida (Biella et al., 1993; Biella e Sotgiu, 1993).

Em suma, os resultados destes experimentos demonstraram que a lidocaína e a dimetocaína apresentam respostas antinociceptivas nos três testes e que estas respostas são mediadas, pelo menos em parte, através de mecanismos centrais.

VIII- DISCUSSÃO GERAL

Em virtude de algumas evidências demonstrando que os A.L. poderiam exercer consideráveis efeitos comportamentais tipo-cocaína, o presente estudo avaliou e comparou, em camundongos, os efeitos de doses não tóxicas de A.L. do tipo éster, como a dimetocaína e a procaína, e do tipo amida, como a lidocaína, em alguns testes psicofarmacológicos. Os resultados demonstraram que a administração de dimetocaína provoca um efeito estimulante sobre a atividade locomotora e produz efeitos reforçadores. Foi demonstrado também que tanto a dimetocaína como a lidocaína e a procaína interferem no estado de ansiedade dos animais, ainda que de forma contraditória. Além disso, foi verificado que a dimetocaína e a lidocaína apresentam efeitos antinociceptivos, possivelmente envolvendo mecanismos centrais.

O aumento significativo da atividade locomotora induzida por dimetocaína, em camundongos, pareceu ser similar aos efeitos induzidos por cocaína comumente descritos por vários autores (Wiechman et al., 1981; Reith et al., 1985; Elliott et al., 1987; Broderick, 1991). Neste sentido, é importante mencionar que a dimetocaína, em estudo efetuado para avaliar a contribuição de substâncias agonistas dopaminérgicas sobre o controle motor, em ratos (Silverman, 1990), promoveu um efeito muito semelhante ao efeito apresentado por cocaína, enquanto que outros A.L. como a lidocaína e a procaína não apresentaram resultados expressivos.

É importante enfatizar que, diferente da lidocaína e da procaína, a dimetocaína no presente estudo, além de estimular a atividade locomotora, também produziu uma preferência de lugar, indicando a presença de propriedade reforçadora. Estes resultados então, parecem estar de acordo com a hipótese de Wise e Bozarth (1987), mencionada anteriormente, de que a estimulação psicomotora e o processo de reforço positivo são derivados de um mecanismo neurobiológico comum. Ademais, Layer (1993) argumenta que a estimulação da atividade locomotora e o aumento da liberação de DA em áreas límbicas são efeitos que estão frequentemente associados a drogas reforçadoras.

Além disso, esse significativo efeito reforçador da dimetocaína avaliado através do método de PCL confirma e estende os relatos existentes na literatura e obtidos com o uso de diferentes técnicas, de que a dimetocaína induz auto-administração em animais, e que causa estímulo discriminativo tipo-cocaína em ratos (Woolverton e Balster, 1982; Graham e Balster, 1993). O fato da lidocaína e da procaína no presente estudo não causarem preferência de lugar também pode ser interpretado à luz da bibliografia existente. Embora alguns autores descrevam que a lidocaína e a procaína apresentam propriedades reforçadoras (De La Garza e Johanson, 1983; Jarbe, 1984; Silverman e Schultz, 1989), deve ser enfatizado que os resultados obtidos sempre são mínimos, ou seja, que seus efeitos são muito menos potentes do que os efeitos apresentados por dimetocaína.

Apesar de conflitantes, parte dos resultados obtidos com os

A.L. no teste de ansiedade avaliado no LCE parecem estar de acordo com as considerações anteriores. Assim, a dimetocaína apresentou um perfil ansiogênico, com uma redução da frequência de entradas e do tempo de permanência no lado aberto, enquanto a lidocaína e a procaína apresentaram um perfil ansiolítico, evidenciado através da redução da aversão ao lado aberto do LCE. Os resultados obtidos com a dimetocaína parecem ser condizentes com os efeitos ansiogênicos descritos após administração de cocaína em animais (Ettenberg e Geist, 1991; Yang et al., 1992), porém os resultados de lidocaína e procaína são difíceis de serem interpretados. Estes resultados conflitantes possivelmente decorrem em função da grande variabilidade de respostas observadas entre os animais utilizados e que, inclusive, se refletiram na aplicação da análise estatística. É importante mencionar também, que mesmo para um psicoestimulante potente como a cocaína existem resultados contraditórios quanto à propriedade ansiogênica da mesma avaliada nesse método (Rogério e Takahashi, 1992a,b).

Os efeitos analgésicos da dimetocaína, da lidocaína e da procaína foram examinados no presente estudo através de três modelos distintos de nocicepção: um que envolve processos inflamatórios e outros que envolvem respostas organizadas a nível espinhal ou supraespinhal. Tais efeitos foram efetivamente evidenciados pela dimetocaína e pela lidocaína. É possível que esses efeitos sejam mediados por mecanismos centrais, pois foi descrito por Wiesenfeld-Hallin e Lindblom (1985) e Tanelian e MacIver (1991) que alguns A.L. têm a capacidade de promover

analgesia sem interferir com a conhecida ação bloqueadora dos canais de sódio.

Sabe-se que a dimetocaína, além de possuir propriedades anestésicas locais, através do bloqueio de canais de sódio, também apresenta uma grande afinidade pelo sítio de recaptção de DA (Ritz et al., 1987; 1988). Levando-se em consideração este fato e também as evidências anteriores, é plausível que os efeitos comportamentais observados no presente estudo como o aumento da atividade locomotora, o efeito reforçador, o efeito ansiogênico e a analgesia, induzidos por dimetocaína, possam ser devidos a sua ação sobre terminais dopaminérgicos. Coincidentemente e conforme já citado, todos esses efeitos comportamentais são compartilhados pela cocaína (Scheel-Kruger et al., 1977; Wise, 1984; McKenna e Ho, 1980; Lin et al., 1989). Por outro lado, a pouca influência da lidocaína e da procaína sobre esses comportamentos, parece condizente com a menor afinidade destes pelo sítio de ligação da dopamina.

Em suma, os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que a dimetocaína foi efetiva em todos os testes utilizados, sugerindo um possível efeito central desta substância, enquanto que a lidocaína e a procaína, apresentaram poucos efeitos comportamentais. As diferentes respostas obtidas com estes três A.L. parecem consistentes com algumas particularidades dos mesmos, por exemplo, as diferenças estruturais existentes entre eles. Como mencionado anteriormente, dos A.L. testados, somente a dimetocaína tem em comum com a cocaína uma estrutura química com três carbonos

entre o amino nitrogênio e a ligação éster. Além disso, conforme descrito por Ritz et al. (1987; 1988), a afinidade pelo sítio de ligação da DA está positivamente correlacionado com a capacidade para produzir o comportamento de reforço. Como já mencionado, a dimetocaína é somente um pouco menos potente do que a cocaína quanto a sua afinidade pelo sítio de ligação da DA. Outro fator a ser considerado é quanto a lipossolubilidade dessas substâncias. É descrito na literatura que a procaína é uma substância que apresenta uma fraca lipossolubilidade, ao contrário da dimetocaína e da lidocaína que são muito lipossolúveis. A fraca lipossolubilidade da procaína confere à mesma uma menor capacidade de atravessar a barreira hemato-encefálica e como consequência um menor efeito central.

Os mecanismos através dos quais as injeções sistêmicas de A.L. exercem seus efeitos comportamentais ainda não estão elucidados, porém, mesmo que as evidências do presente trabalho tenham sido obtidas indiretamente, em virtude de não ter sido feito um estudo com manipulação farmacológica, estes resultados em conjunto com os dados descritos na literatura, parecem sugerir que outros A.L., além da cocaína, e principalmente a dimetocaína, interferem com comportamentos que são mediados pelo sistema nervoso central, possivelmente através de mecanismos dopaminérgicos. Ademais, é possível que esse perfil psicofarmacológico da dimetocaína, seja limitante numa eventual utilização clínica da mesma como anestésico local.

IX- CONCLUSOES

As respostas obtidas neste estudo levam a concluir que:

1. a administração sistêmica de dimetocaína interfere nos mecanismos responsáveis pelo controle da atividade locomotora, estimulando-a.

2. o aumento da preferência condicionada de lugar observado após o tratamento com a dimetocaína, sugere que a mesma possui propriedade reforçadora.

3. os camundongos que receberam injeções de lidocaína e procaína e foram testados no labirinto em cruz elevado, apresentaram um efeito tipo-ansiolítico, enquanto que os que receberam injeções de dimetocaína evidenciaram um efeito tipo-ansio gênico.

4. nos testes de analgesia, os tratamentos com dimetocaína e lidocaína produziram efeitos antinociceptivos.

5. entre os A.L. testados, parece que somente a dimetocaína produz efeitos tipo-cocaína. Porém os outros anestésicos, lidocaína e procaína foram efetivos em algumas medidas comportamentais, sugerindo possível efeito central dessas substâncias.

ABSTRACT

There has been growing evidence that some local anesthetics other than cocaine exhibit behavioral effects of substantial similarity to those induced by the psychostimulant. Procaine is probably the most studied local anesthetic, after cocaine, while lidocaine is one of the most used local anesthetic available in the clinic since 1942. Additionally, dimethocaine is a quite recent local anesthetic, not in clinical use, with great activity for the dopamine uptake binding site and it was found to be self-administered by monkeys. Since the literature examining the behavioral manifestations of these compounds in a comparative way is rare, the present study investigated the effects of different doses of procaine, lidocaine and dimethocaine injected systemically in mice against a set of tests presumed to be reflective of central reactivity. Such tests included the locomotor activity, conditioned place preference paradigm, elevated plus-maze model of anxiety and analgesia. Dimethocaine significantly increased the locomotor activity and the time spent in the conditioned place preference paradigm, thus, suggesting a reinforcing property. On the other hand, procaine and lidocaine failed to alter both parameters. Conflicting results were obtained in the plus-maze test. While dimethocaine induced an anxiogenic-like effect similar to cocaine's action in this model, procaine and lidocaine caused an anxiolytic-like response. In addition, lidocaine and dimethocaine caused significant antinociceptive action in tests using thermal noxious stimuli.

Taken together, these results suggest that among the local anesthetics used in this study, dimethocaine presented the most significant behavioral effects similarly to those induced by cocaine. Further, these findings are consistent with other observations in the literature that dimethocaine may possess dopamine agonist activity.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abram, S.E. and Yaksh, T.L., Systemic lidocaine blocks nerve injury-induced hyperalgesia and nociceptor-driven spinal sensitization in the rat. *Anesthesiology*, 80: 383-391, 1994.

Anthony, J.C., Thien, A.Y., Petrowikis, K.R., Epidemiologic evidence on cocaine use and panic attacks. *Amer. J. Epidemiol.*, 129: 543-549, 1989.

Bach, F.W., Jensen, T.S., Kastrup, J. Stigsby, B. and Dejgard, A., The effect of intravenous lidocaine on nociceptive processing in diabetic neuropathy. *Pain*, 40: 29-34, 1990.

Balster, R.L., Pharmacological effects of cocaine relevant to its abuse. In: Clouet D., Ashgar K., Brown R. (Eds) *Mechanisms of cocaine abuse and toxicity* (NIDA Research Monograph 88, DHHS pub n° ADM 88- 1585). US Govt. Printing office, Washington, DC, p. 1-13, 1988.

Barnes, N.J.G., Costall, B., Domeney, A.M. and Naylor, R.J., Behavioural consequences of the infusion of dopamine into the nucleus accumbens of the common marmoset (Callithrix jacchus). *Neuropharmacology*, 26: 1327-1335, 1987.

Beardsley, P.M. and Balster, R.L., The effects of delay of reinforcement and dose on the self-administration of cocaine and procaine in Rhesus monkeys. *Drug and Alcohol Dependence*, 34: 37-43, 1993.

Bernhard, C.G. and Bohm, E., *Local Anaesthetics as Anticonvulsants*, Almqvist and Wiksell, Uppsala, 1965.

Benuck, M., Lajtha, A. and Reith, M.E.A., Pharmacokinetics of systemically administered cocaine and locomotor stimulation in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 243: 144-149, 1987.

Biella, G. and Sotgiu, M.L., Central effects of systemic lidocaine mediated by glycine spinal receptors: an iontophoretic study in the rat spinal cord. *Brain Res.*, 603: 201-206, 1993.

Broderick, P.A., Cocaine: on-line analysis of an accumbens amine neural basis for psychomotor behavior. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 40: 959-968, 1991.

Brose, W.G. and Cousins, M.J., Subcutaneous lidocaine for treatment of neuropathic cancer pain. *Pain*, 45: 145-148, 1991.

Callahan, P.M., Appel, J.B. and Cunningham, K.A., Dopamine D1 and D2 mediation of the discriminative stimulus properties of d-amphetamine and cocaine. *Psychopharmacology*, 103: 50-55, 1991.

Colpaert, F.C., Niemegeers, C.J.E. and Janssen, P.A.J., Discriminative stimulus properties of cocaine: neuropharmacological characteristics as derived from stimulus generalization experiments. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 10: 535-546, 1979.

Costall, B., Domeney, A.M. and Naylor, R.J., Long-term consequences of antagonism by neuroleptics of behavioural events occurring during mesolimbic dopamine infusion. *Neuropharmacology*, 23: 287-294, 1984.

Courteix, C., Bardin, M., Chantelauze, C., Lavarenne, J. and Eschalier, A., Study of the sensitivity of the diabetes-induced pain model in rats to a range of analgesics. *Pain*, 57: 153-160, 1994.

Covino, B.G. e Vassallo, H.G., *Anestésicos Locais: Mecanismos de Ação e Uso Clínico*, Rio de Janeiro, Editora Colina, 1985.

De la Garza, R. and Johanson, C.E., Effects of haloperidol and physostigmine on self-administration of local anesthetics. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 17: 1295-1299, 1982.

De la Garza, R. and Johanson, C.E., The discriminative stimulus properties of cocaine in the Rhesus monkey. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 19: 145-148, 1983.

Downs, D.A. and Woods, J.H., Codeine- and cocaine-reinforced responding in Rhesus monkeys: effects of dose on response rates under a fixed-ratio schedule. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 191: 179-188, 1974.

Duvauchelle, C.L. and Ettenberg, A., Haloperidol attenuates conditioned place preferences produced by electrical stimulation of the medial prefrontal cortex. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 38: 645-650, 1991.

Elliott, P.J., Rosen, G.M. and Nemeroff, C.B., A comparison of cocaine and its metabolite norcocaine: effects on locomotor activity. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 26: 573-575, 1987.

Endo, K., Morita, K., Uchiyama, Y., Takada, K., Tsujimoto, A. and Dohi, T., Involvement of brain serotonergic function in lidocaine-induced convulsions in mice. *Japan J. Pharmacol.*, 62: 325-328, 1993.

Ettenberg, A. and Geist, T.D., Animal model for investigating the anxiogenic effects of self-administered cocaine. *Psychopharmacology*, 103: 455-461, 1991.

File, S.E., Behavioural detection of anxiolytic action. In: Elliot J.M., Heal D.J. and Marsden C.A. *Experimental Approaches to anxiety and depression*. New York, John Wiley & Sons, 1992 c. 3, p.

25-44.

Ford, R.D. and Balster, R.L., Reinforcing properties of intravenous procaine in Rhesus monkeys. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 6: 289-296, 1977.

Frank, G.B. and Sanders, H.D., A proposed common mechanism of action for general and local anesthetics in the central nervous system. *Br. J. Pharmacol.*, 21: 1-9, 1963.

Gefke, K., Andersen, L.W. and Friesel, E., Lidocaine given intravenously as a suppressant of cough and laryngospasm in connection with extubation after tonsillectomy. *Acta Anaesthesiol. Scand.*, 27: 111-112, 1983.

Graham, J.H. and Balster, R.L., Cocaine-like discriminative stimulus effects of procaine, dimethocaine and lidocaine in rats. *Psychopharmacology*, 110: 287-294, 1993.

Grant, G.J., Zakowsky, M.I., Vermeulen, K., Langerman, L., Ramanathan, S. and Turndorf, H., Assessing local anesthetic effect using the mouse tail flick test. *J. Pharmacol. Toxicol. Meth.*, 29: 223-226, 1993.

Hammerbeck, D.M. and Mitchell, C.L., The reinforcing properties of procaine and d-amphetamine compared in Rhesus monkeys. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 204: 558-569, 1978.

Hernandez, L. and Hoebel, B.G., Food reward and cocaine increase extracellular dopamine in the nucleus accumbens as measured by microdialysis. *Life Sci.*, 42: 1705-1712, 1988.

Huang, J.T. and Wilson, M.C., Discriminative stimulus properties of cocaine and other local anesthetics in rats. *Res. Commun. Subst. Abuse*, 3: 129-140, 1982.

Jarbe, T.U.C., Cocaine cue in pigeons: time course studies and generalization to structurally related compounds (norcocaine, WIN 35,428 and 35,065-2) and (+)amphetamine. *Br. J. Pharmac.*, 73: 843-852, 1981.

Jarbe, T.U.C., Discriminative stimulus properties of cocaine: effects of apomorphine, haloperidol, procaine and other drugs. *Neuropharmacology*, 23: 899-907, 1984.

Johanson, C.E., The reinforcing properties of procaine, chlorprocaine and proparacaine in Rhesus monkeys. *Psychopharmacology*, 67: 189-194, 1980.

Jones, D.L., Berg, S.L., Dorris, R.L. and Dill, R.E., Biphasic locomotor response to intra-accumbens dopamine in a nonhuman primate. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 15: 243-246, 1981.

Kelleher, R.T., Psychomotor stimulants. In: Pradhan S.N. and Dutta S.N. (Eds.), *Drug Abuse clinical and basic aspects*, p.116-147, 1977.

Kellner, C.H., Post, R.M., Putnam, F., Cowdry, R. Gardner, D., Kling, M.A., Minichiello, M.D., Trettan, J.R. and Coppola, R., Intravenous procaine as a probe of limbic system activity in psychiatric patients and normal controls. *Biol. Psychiatry*, 22:1107-1126, 1987.

Koob, G.F. and Bloom, F.E., Cellular and molecular mechanisms of drug dependence. *Science*, 242: 715-723, 1988.

Koob, G.F., Drugs of abuse: anatomy, pharmacology and function of reward pathways. *TIPS*, 13: 177-184, 1992.

Lau, C.E., Imam, A., Ma, F. and Falk, J.L., Accute effects of cocaine on spontaneous and discriminative motor functions: relation to route of administration and pharmacokinetics. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 257: 444-456, 1991.

Layer, R.T., Kaddis, F.G. and Wallace, L.J., The NMDA receptor antagonist MK-801 elicits conditioned place preference in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 44: 245-247, 1993.

Lin, Y., Morrow, T.J., Kiritsy-Roy, J.A., Terry, L.C. and Casey, K.L., Cocaine: evidence for supraspinal, dopamine-mediated, non opiate analgesia. *Brain Res.*, 479: 306-312, 1989.

Lister, R.G., The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology*, 92: 180-185, 1987.

Lister, R.G., Ethologically-based animal models of anxiety of disorders. *Pharmac. Ther.*, 46: 321-340, 1990.

Masur, J., A técnica do "open-field" como medida da reatividade emocional de ratos. *Revista de Psicologia Normal e Patológica*, 3-4:195-220, 1970.

McKenna, M.L. and Ho, B.T., The role of dopamine in the discriminative stimulus properties of cocaine. *Neuropharmacology*, 19: 297-303, 1980.

Morency, M.A. and Beninger, R.J., Dopaminergic substrates of cocaine-induced place conditioning. *Brain Res.*, 399: 33-41, 1986.

Nomikos, G.G. and Spyraiki, C., Cocaine-induced place conditioning: importance of route of administration and other procedural variables. *Psychopharmacology*, 94: 119-125, 1988.

Ossipov, M.H., Suarez, L.J. and Spaulding, T.C., A comparison of the antinociceptive and behavioral effects of intrathecally administered opiates, α_2 adrenergic agonists, and local anesthetics in mice and rats. *Anesth. Analg.*, 67: 616-624, 1988.

Pellow, S., Chopin, P., File, S.E. and Briley, M., Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J. Neurosci. Meth.*, 14: 149-167, 1985.

Ramabadran, K. and Bansinath, M., A critical analysis of the experimental evaluation of nociceptive reactions in animals. *Pharmaceutical Res.*, 3: 263-270, 1986.

Reith, M.E.A., Meisler, B.E. and Lajtha, A., Locomotor effects of cocaine, cocaine congeners, and local anesthetics in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 23: 831-836, 1985.

Ritchie, J.M. e Greene, N.M., Anestésicos Locais. In: Goodman e Gilman (Eds) *As bases farmacológicas da terapêutica*, 8ª ed., Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan, 1991, p.205-218.

Ritz, M.C., Lamb, R.J., Goldberg, S.R. and Kuhar, M.J., Cocaine receptors on dopamine transporters are related to self-administration of cocaine. *Science*, 237: 1219-1223, 1987.

Ritz, M.C., Lamb, R.J., Goldberg, S.R. and Kuhar, M.J., Cocaine self-administration appears to be mediated by dopamine uptake inhibition. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. & Biol. Psychiat.*, 12: 233-239, 1988.

Rogério, R. and Takahashi, R.N., Anxiogenic properties of cocaine in the rat evaluated with the elevated plus-maze. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 43: 631-633, 1992a.

Rogério, R. and Takahashi, R.N., Anxiogenic action of acute but not repeated cocaine administration in handling-habituated mice in the plus-maze test. *Brazilian J. Med. Biol. Res.*, 25: 713-716, 1992b.

Rowlingson, J.C., Difazio, C.A., Foster, J. and Carron, H., Lidocaine as an analgesic for experimental pain. *Anesthesiology*, 52: 20-22, 1980.

Saravay, S.M., Marke, J., Steinberg, M.D. and Rabiner, C.J., "Doom anxiety" and delirium in lidocaine toxicity. *Am. J. Psychiatry*, 144: 159-163, 1987.

Scheel-Kruger, J., Braestrup, C., Nielsen, M., Golembiowska, K. and Mogilnicka, E., Cocaine: discussion on the role of dopamine in the biochemical mechanism of action. In: Ellinwood E.H. Jr., Kilbey M.M. (Eds) *Cocaine and other stimulants*. Plenum Press, New York p.373-407, 1977.

Scoles, M.T. and Siegel, S., A potential role of saline trials in morphine-induced place-preference conditioning. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 25, 1169-1173, 1986.

Seidman, M.H., Lau, C.E., Chen, R. and Falk, J.L., Orally self-administered cocaine: reinforcing efficacy by the place preference method. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 43: 235-241, 1992.

Silverman, P.B. and Schultz, K.A., Comparison of cocaine and procaine discriminative stimuli. *Drug Dev. Res.*, 16: 427-433, 1989.

Silverman, P.B., Cocaine and local anesthetics: stimulant activity in rats with nigral lesions. *Psychopharmacology*, 102: 269-272, 1990.

Sotgiu, M.L., Lacerenza, M. and Marchettini, P., Selective inhibition by systemic lidocaine of noxious evoked activity in rat dorsal horn neurons. *Neuroreport*, 2: 425-428, 1991.

Spyraki, C., Nomikos, G.G. and Varonos, D.D., Intravenous cocaine-induced place preference: attenuation by haloperidol. *Behavioural Brain Research*, 26: 57-62, 1987.

Tanelian, D.L. and MacIver, M.B., Analgesic concentrations of lidocaine suppress tonic A-delta and C fiber discharges produced by acute injury. *Anesthesiology*, 74: 934-936, 1991.

Van Dyke, C., Jatlow, P., Ungerer, J., Barash, P. and Byck, R., Cocaine and lidocaine have similar psychological effects after intranasal application. *Life Sci.*, 24: 271-274, 1979.

Wiechman, B.E., Wood, T.E. and Spratto, G.R., Locomotor activity in morphine-treated rats: effects of and comparisons between cocaine, procaine and lidocaine. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 15: 425-433, 1981.

Wiesenfeld-Hallin, Z. and Lindblom, U., The effect of systemic tocainide, lidocaine and bupivacaine on nociception in the rat. *Pain*, 23: 357-360, 1985.

Wise, R.A., Neural mechanisms of reinforcing actions of cocaine. In: Grabowski J. (Ed.) *Cocaine: pharmacology, effects and treatment of abuse*. NIDA Res. Monogr., v.50, 1984.

Wise, R.A. and Bozarth, M.A., A psychomotor stimulant theory of addiction. *Psychol. Rev.*, 94: 469-492, 1987.

Wise, R.A., Intravenous drug self-administration: a special case of positive reinforcement. In: Bozarth M.A. (Ed) *Methods of assessing the reinforcing properties of abused drugs*, p 117-141. New York, Springer-Verlag, 1987.

Wise, R.A. and Rompre, P.P., Brain dopamine and reward. *Ann. Rev. Psychol.*, 40: 191-225, 1989.

Wise, R.A., The neurobiology of craving: implications for the understanding and treatment of addiction. *J. Abnorm. Psychol.*, 97: 118-132, 1988.

Woolf, C.J. and Wiesenfeld-Hallin, Z., The systemic administration of local anaesthetics produces a selective depression of C-afferent fibre evoked activity in the spinal cord. *Pain*, 23: 361-374, 1985.

Woolverton, W.L. and Balster, R.L., Reinforcing properties of some local anesthetics in Rhesus monkeys. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 11: 669-672, 1979.

Woolverton, W.L. and Balster, R.L., Behavioral pharmacology of local anesthetics: reinforcing and discriminative stimulus effects. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 16: 491-500, 1982.

Yang, X.M., Gorman, A.L., Dunn, A.J. and Goeders, N.E., Anxiogenic effects of acute and chronic cocaine administration: neurochemical and behavioral studies. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 41: 643-650, 1992.

Yokel, R.A. and Pickens, R., Self-administration of optical isomers of amphetamine and methyl-amphetamine by rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 187: 27-33, 1973.

Yoshimura, Y., Dohi, T., Tanaka, K. and Tsujimoto, A., Changes in convulsion susceptibility of lidocaine by alteration of brain catecholaminergic functions. *Japan J. Pharmacol.*, 56: 85-91, 1991.

Zacny, J.P. and Woolverton, W.L., Discriminative stimulus properties of local anesthetics in d-amphetamine and pentobarbital-trained pigeons. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 33: 527-531, 1989.