

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

CORRELAÇÃO ENTRE OS EFEITOS COMPORTAMENTAIS DA FLUOXETINA
E DA DESIPRAMINA E A SENSIBILIDADE NOCICEPTIVA EM
CAMUNDONGOS

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-
Graduação em Farmacologia da
Universidade Federal de Santa Catarina
como requisito parcial para obtenção do
título de Mestre em Farmacologia.

Orientador: Dr. Reinaldo Naoto Takahashi

RUBENS RODRIGUES FILHO

FLORIANÓPOLIS

1998

RODRIGUES F^o, Rubens. *Correlação entre os efeitos comportamentais da fluoxetina e da desipramina e a sensibilidade nociceptiva em camundongos*. Florianópolis, 1998. 82 p. Dissertação (mestrado em Farmacologia) - Curso de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal de Santa Catarina.

Orientador: Prof. Dr. Reinaldo Naoto Takahashi
Defesa: 09.10.98

A correlação entre os efeitos comportamentais de drogas antidepressivas e a sensibilidade nociceptiva em camundongos, foi investigado por meio da administração [aguda] dos antidepressivos [fluoxetina] e [desipramina], respectivamente, inibidores preferenciais de recaptação de serotonina e de noradrenalina. As medidas comportamentais avaliadas foram: atividade locomotora, tempo de imobilidade no teste da natação forçada e as respostas ansiolíticas/ansio gênicas no labirinto em cruz elevado. Os efeitos antinociceptivos dos antidepressivos foram avaliados com os testes do "tail-flick", da placa quente e da formalina. Os resultados obtidos demonstraram que ambos os antidepressivos, na dose de 40 mg/kg causaram uma redução significativa da atividade locomotora; assim, esta dose foi descartada dos demais experimentos. A fluoxetina e a desipramina, nas doses de 2,5 a 20 mg/kg, não modificaram as respostas avaliadas nos testes da natação forçada e do labirinto em cruz elevado, entretanto, induziram efeitos antinociceptivos significantes no teste da placa quente, com as doses de 10 e 20 mg/kg, e, no teste da formalina, com todas as doses testadas. As respostas antinociceptivas foram dissociadas de outras alterações comportamentais dos antidepressivos. O possível envolvimento de sítios medulares na [analgesia] induzida por antidepressivos foi avaliado nos testes do "tail-flick" e da formalina. Somente a desipramina (7,6 e 15,2 µg/µl) induziu analgesia no teste da formalina. Também foi examinada a correlação entre os níveis basais de [emocionalidade] e a sensibilidade nociceptiva. Os camundongos foram [selecionados] no teste da natação forçada e denominados de camundongos "não-deprimidos", "intermediários" e "deprimidos". Os animais selecionados foram avaliados nos testes da formalina e da placa quente. As respostas analgésicas foram significantes nos teste da formalina para os camundongos "não-deprimidos" e "deprimidos", quando estes foram tratados com fluoxetina e desipramina (5 mg/kg). No teste da placa quente, somente os camundongos chamados de "deprimidos" exibiram antinocicepção significativa, com ambos os antidepressivos (10 e 20 mg/kg). Em conclusão, os resultados obtidos indicaram que a fluoxetina e a desipramina induzem antinocicepção significativa dissociada de outros efeitos comportamentais destas drogas em camundongos normais. Os efeitos antinociceptivos obtidos com camundongos selecionados evidenciaram a relevância dos níveis basais de emocionalidade na sensibilidade nociceptiva.

[aguda] [fluoxetina] [desipramina] [analgesia] [emocionalidade] [selecionados]

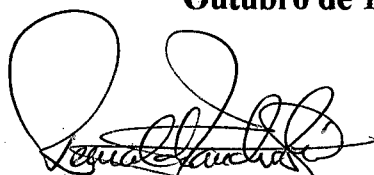
**“CORRELAÇÃO ENTRE OS EFEITOS COMPORTAMENTAIS
DA FLUOXETINA E DA DESIPRAMINA E A
SENSIBILIDADE NOCICEPTIVA EM CAMUNDONGOS”**

POR

RUBENS RODRIGUES FILHO

**Dissertação julgada e aprovada em sua
forma final pela Banca Examinadora em
sessão de defesa pública em 09 de
Outubro de 1998.**

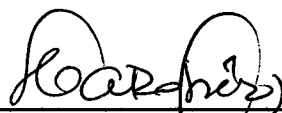
Banca Examinadora:



**Reinaldo Naoto Takahashi
(FMC/UFSC-Membro Titular)**



**Marco Antonio C. Benedito
(UNIFESP/SP -Membro Titular)**



**Antônio de Pádua Carobrez
(FMC/UFSC-Membro Titular)**



**Prof. Dr. Giles Alexander Rae
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Farmacologia da UFSC**

Florianópolis, 09 de Outubro de 1998.

*Nada na vida
pode substituir a persistência:
nem o talento o fará,
pois o mundo está cheio
de homens de talento
fracassados;
nem a genialidade o fará,
pois gênios desprezados
são quase um provérbio;
nem o conhecimento o fará,
pois encontramos
muitos diplomados medíocres.
Só a persistência e a determinação
são onipotentes.*

Calvin Coolidge

A minha esposa Sônia e a minha filha Leticia, pelo carinho, por entenderem a minha ausência, mas, sobretudo, por terem permanecido ao meu lado nesta difícil jornada.

AGRADECIMENTOS

A Deus por não ter me abandonado e ter-me dado forças para não fraquejar diante das dificuldades que se contrapuseram a minha caminhada.

A Sônia e a Letícia, que dividiram comigo as alegrias e as tristezas, não me deixando desistir e ajudando sempre para que eu pudesse concretizar mais este sonho.

A meus pais, que muito se sacrificaram para que eu chegasse até aqui.

Ao professor Reinaldo Naoto Takahashi, que me aceitou como seu orientando; pela orientação científica deste trabalho, sem a qual eu não o teria concluído; pelo repasse de toda a sua experiência e conhecimento; pela preocupação com minha formação científica e, sobretudo, pelo respeito e amizade que me dedicou durante todo o período de convivência.

Ao professor Calixto, que nos emprestou o aparelho de placa quente, facilitando a execução de uma importante parte deste trabalho.

Aos professores Yara e Pádua, que me ajudaram com a estatística.

À professora Clarmi, que, com a sua arte de remanejar palavras e corrigir erros ortográficos, tornou este trabalho mais bonito aos olhos de quem o ler.

À Cleonice, que, com sua habilidade artística, me ajudou na confecção do material didático.

A todos os professores do Curso de Pós-Graduação em Farmacologia, que sempre estiveram ao meu lado eliminando dúvidas, transmitindo conhecimento e tomando a convivência a mais agradável possível.

A todos os funcionários, pelo carinho e amizade e por nunca terem medido esforços em atender minhas solicitações.

A todos os colegas do Curso de Pós-Graduação, que, com seu respeito, amizade e solidariedade fizeram com que eu me sentisse em minha própria casa.

Aos colegas de laboratório, Monique, Alvorita, Solange, George, Marcelo, Geraldo e Cristiane, que compartilharam comigo essa difícil caminhada, auxiliando sempre de alguma forma na elaboração deste trabalho.

Aos meus colegas de turma, Marcos, Sandro, Gilboé, Irinéia, Tânia, Marta, Rose e Josélia, que sempre me acolheram; pelo companheirismo, respeito e repasse de informações, permitindo que eu crescesse junto com eles e não desistisse diante das dificuldades encontradas.

Aos animais que passaram pelas minhas mãos e doaram suas vidas, não só para que eu realizasse este trabalho, mas também em prol da ciência.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS E TABELAS.....	ix
RESUMO.....	xi
1- INTRODUÇÃO.....	1
2- OBJETIVOS.....	16
3- MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
3.1- Animais.....	17
3.2- Vias de administração.....	17
3.3- Drogas.....	18
3.4- Aparelhos e procedimentos.....	19
3.4.1- <i>Teste de atividade locomotora</i>	19
3.4.2- <i>Teste da natação forçada</i>	19
3.4.3- <i>Teste do labirinto em cruz elevado ("plus-maze")</i>	20
3.4.4- <i>Medidas da antinocicepção</i>	21
a) Teste do "tail-flick".....	21
b) Teste da placa quente.....	22
c) Teste da formalina.....	23
3.5- Influência da seleção prévia dos animais no teste da natação forçada nas medidas de nocicepção.....	25
3.6- Análise estatística.....	26
4- RESULTADOS.....	27
4.1- Teste de atividade locomotora.....	27

4.2- Teste da natação forçada.....	29
4.3- Teste do labirinto em cruz elevado.....	29
4.4- Nocicepção avaliada pelo teste do “tail-flick”.....	32
4.5- Nocicepção avaliada pelo teste da placa quente.....	32
4.6- Respostas antinociceptivas avaliadas com o emprego do teste da formalina.....	35
4.7- Efeitos da administração i.t. da fluoxetina e da desipramina nas respostas antinociceptivas avaliadas nos testes do “tail-flick” e da formalina..	37
4.8- Influência da seleção prévia dos animais no teste da natação forçada sobre as medidas de nocicepção.....	40
4.8.1- Teste da formalina.....	41
4.8.2- Teste da placa quente.....	41
5- DISCUSSÃO.....	46
6- CONCLUSÕES.....	62
7- ABSTRACT.....	64
8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66

LISTA DE ABREVIATURAS

AMPA	α -amino-3-hidroxi-5-metil-isoxazol
BK	bradicinina
CGRP	peptídeo relacionado ao gene da calcitonina
cm	centímetro
DA	dopamina
e.p.m.	erro padrão da média
HIS	histamina
i.p.	intraperitoneal
i.t.	intratecal
kg	quilograma
mg	miligrama
mM	milimolar
MRV	medula rostro ventral
NMDA	N-metil-D-aspartato
NMR	núcleo magno da rafe
NOR	noradrenalina
PGs	prostaglandinas
s	segundos
s.c.	subcutânea
SP	substância P
°C	graus centígrados
μ g	micrograma
μ l	microlitro
5-HT	serotonina

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1- Efeitos da administração aguda intraperitoneal da fluoxetina e da desipramina sobre a atividade locomotora dos camundongos.....	28
Figura 2- Efeitos da administração aguda intraperitoneal da fluoxetina e da desipramina sobre o tempo de imobilidade dos camundongos, no teste da natação forçada.....	30
Figura 3- Efeitos da administração aguda intraperitoneal da fluoxetina e da desipramina sobre a percentagem do número de entradas ou do tempo de permanência dos camundongos nos braços abertos do labirinto em cruz elevado.....	31
Figura 4- Efeitos da administração aguda intraperitoneal da fluoxetina e da desipramina em camundongos, no teste do “tail-flick”.....	33
Figura 5- Efeitos da administração aguda intraperitoneal da fluoxetina e da desipramina em camundongos, no teste da placa quente.....	34
Figura 6- Efeitos antinociceptivos da administração aguda intraperitoneal da fluoxetina e da desipramina em camundongos, no teste da formalina.....	36
Figura 7- Efeitos da administração aguda intratecal da fluoxetina e da desipramina em camundongos, no teste do “tail-flick”.....	38
Figura 8- Efeitos da administração aguda intratecal da fluoxetina e da desipramina em camundongos, no teste da formalina.....	39
Tabela 1- Seleção dos camundongos de acordo com os resultados do tempo de imobilidade no teste da natação forçada.....	40
Figura 9- Efeitos da administração aguda intraperitoneal da fluoxetina e	

da desipramina em camundongos selecionados no teste da natação forçada, e avaliados no teste da formalina.....	43
Figura 10- Efeitos da administração aguda intraperitoneal da fluoxetina e da desipramina em camundongos selecionados no teste da natação forçada e avaliados no teste da placa quente (condição experimental de “não-deprimidos”).....	44
Figura 11: Efeitos da administração aguda intraperitoneal da fluoxetina e da desipramina em camundongos selecionados no teste da natação forçada e avaliados no teste da placa quente (condição experimental de “intermediários”).....	45
Figuras 12: Efeitos da administração aguda intraperitoneal da fluoxetina e da desipramina em camundongos selecionados no teste da natação forçada e avaliados no teste da placa quente (condição experimental de “deprimidos”).....	46

RESUMO

A proposta do presente estudo foi correlacionar os efeitos comportamentais de drogas antidepressivas e a sensibilidade nociceptiva em camundongos. Foram administrados nos animais agudamente os antidepressivos fluoxetina e desipramina, respectivamente, inibidores preferenciais de recaptção da serotonina e da noradrenalina. Foram, então, avaliadas as seguintes medidas comportamentais: atividade locomotora, tempo de imobilidade no teste da natação forçada e as respostas ansiolíticas/ansiógênicas no labirinto em cruz elevado. Os efeitos antinociceptivos dos tratamentos realizados foram avaliados com os testes do "tail-flick", da placa quente e da formalina. A medida da atividade locomotora revelou, com ambas as drogas, na dose mais elevada (40 mg/kg), uma redução significativa na atividade; assim, esta dose foi descartada dos experimentos subsequentes. A fluoxetina e a desipramina, nas doses de 2,5 a 20 mg/kg, não modificaram as respostas avaliadas nos testes da natação forçada e do labirinto em cruz elevado. Ambos os antidepressivos induziram, porém, efeitos antinociceptivos significantes: no teste da placa quente, com as doses de 10 e 20 mg/kg, e, no teste da formalina, com todas as doses testadas. Essas respostas antinociceptivas foram dissociadas de outros efeitos comportamentais dos antidepressivos. Para investigar o possível envolvimento de sítos medulares nos efeitos antinociceptivos destes compostos, a fluoxetina e a desipramina foram injetadas intratecalmente e os animais foram avaliados nos testes do "tail-flick" e da formalina. Somente a desipramina (7,6 e 15,2 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) foi capaz de induzir antinocicepção no teste da formalina. Além disso, foi examinada a correlação entre os níveis basais de

emocionalidade e a sensibilidade nociceptiva. Os camundongos foram selecionados no teste da natação forçada e chamados de camundongos “não-deprimidos”, “intermediários” e “deprimidos”. Após a seleção, os animais foram avaliados nos testes da formalina e da placa quente. Os camundongos “não-deprimidos” e “deprimidos” mostraram respostas analgésicas que foram significantes no teste da formalina, quando tratados com fluoxetina e desipramina (5 mg/kg). Porém, no teste da placa quente, somente os camundongos chamados “deprimidos” mostraram analgesia significativa, com ambos os antidepressivos (10 e 20 mg/kg). Em conclusão, os resultados obtidos indicaram que a fluoxetina e a desipramina induzem analgesia significativa dissociada de outros efeitos comportamentais destas drogas em camundongos normais. Os efeitos antinociceptivos obtidos com camundongos selecionados evidenciaram a relevância dos níveis basais de emocionalidade na sensibilidade nociceptiva.

1- INTRODUÇÃO

Conceitua-se a dor como uma percepção altamente complexa de uma sensação aversiva e desagradável em uma região específica do corpo. Pode ocorrer por nocicepção, quando é decorrente da ativação de nociceptores, e por deafferentação, quando ocorre em uma área que foi parcial ou totalmente desnervada (SAKATA e GOZZANI, 1994). Também pode apresentar-se nas formas aguda e crônica. Na dor aguda, existe uma causa bem definida, com um curso temporal característico que desaparece com a cura do dano. O rápido início da dor é referido como componente fásico, enquanto a fase insidiosa é persistente e referida como componente tônico. O componente tônico propicia repouso, cuidados e proteção à área lesada, facilitando a cura. Na dor crônica, o componente tônico pode persistir mesmo após a cura do dano (MELZACK e WALL, 1983). Além disso, existem evidências indicando que a dor tônica é modulada diferentemente da dor fásica gerada por um estímulo breve de alta intensidade (ABBOTT et alli, 1982; RYAN et alli, 1985).

A dor envolve vários processos fisiológicos e farmacológicos. Basicamente dois processos estão envolvidos: um processo periférico, relacionado com a detecção e a transmissão da informação relacionada ao dano potencial ou real do tecido, e um processo central, comandado pela resposta cerebral para esta informação (KANJHAN, 1995). Além disso, receptores, vias de transmissão e de modulação, como também diferentes substâncias, estão direta ou indiretamente envolvidos nos processos dolorosos (MELZACK e WALL, 1983). Em geral, tais receptores, chamados de nociceptores, estão localizados em várias partes do corpo

e representam ramos terminais especializados das fibras nervosas sensoriais. Os nociceptores caracterizam-se por conter uma estrutura particular, específica, necessária para transformar o estímulo em impulso nervoso (JESSELL e KELLY, 1991). O calor, o frio, a pressão, a distensão e os estímulos químicos podem, direta ou indiretamente, ativar os nociceptores (BESSOU e PERL, 1969; LICO, 1979; HANDWERKER e REEH, 1994).

Sabe-se que, na área vizinha a uma lesão celular, no momento em que esta ocorre, há a liberação de substâncias químicas endógenas, como, por exemplo, bradicinina (BK), prostaglandinas (PGs), leucotrienos, histamina (HIS), serotonina (5-HT), substância P (SP), íon hidrogênio e outras, produzindo a sensação dolorosa (BESSON e CHAOU DI, 1987; RAJA et alli, 1988; WOOLF, 1989).

Os nociceptores transmitem, então, os impulsos nervosos para a medula espinhal através de três tipos distintos de fibras nervosas: as fibras A β , mielinizadas e de grande diâmetro, sendo capazes de conduzir rapidamente o estímulo doloroso; as fibras A δ , também de condução rápida, normalmente pequenas e pobremente mielinizadas (GEORGOPOULOS, 1976, 1977); e, finalmente, as fibras C, pequenas e não mielinizadas, responsáveis pela condução lenta do estímulo doloroso (ADRIAENSEN et alli, 1983; RAJA et alli, 1988; COHEN e PERL, 1990). Esse estímulo doloroso faz com que células localizadas no corno dorsal da medula espinhal liberem mediadores químicos diretamente envolvidos na transmissão do impulso doloroso, como a substância P e o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), que são neuropeptídeos, e os aminoácidos excitatórios, como o glutamato, que atuam como neurotransmissores, dependendo de um receptor específico no sistema nervoso central (JACKSON et alli, 1995). A

liberação destes neurotransmissores resulta na ativação de um segundo neurônio e também das vias ascendentes, que transmitem a dor para os centros supra-espinhais (BESSON e CHAOUDI, 1987; RAJA e MEYER, 1988; WOOLF, 1989; HALEY et alli, 1990).

A transferência de informações nociceptivas entre a medula espinhal e níveis supra-segmentares sofre alterações intensas devido à participação de influências modulatórias da dor, e um destes mecanismos modulatórios ocorre na lâmina II do corno dorsal da medula espinhal.

A modulação da dor é, portanto, um processo dinâmico que envolve interações contínuas entre o complexo ascendente e os sistemas descendentes (MELZACK e DENNIS, 1978). As fibras periféricas A β ativam as células da lâmina II, e estas bloqueiam a transferência das informações entre as fibras aferentes nociceptivas e os neurônios da medula espinhal. Por outro lado, a modulação da dor feita pelas vias descendentes ocorre a partir de diversas estruturas, como a substância cinzenta periaquedutal, o tálamo, o hipotálamo, o núcleo caudado, o núcleo magno da rafe, o núcleo gigantocelular e outras (DUGGAN e MORTON, 1988; WILLIS, 1988), com a liberação de neurotransmissores inibitórios, como a serotonina, a noradrenalina, a encefalina (HERTZ e MILLAN, 1988; ZEMLAN et alli, 1988; BONICA, 1990) e outros opióides endógenos (DICKENSON, 1995),

A serotonina pertence ao grupo das aminas biogênicas, junto com as catecolaminas: noradrenalina e dopamina (DA). Está amplamente distribuída pelo sistema nervoso central onde encontra-se relacionada em várias funções fisiológicas. Isso ocorre devido ao grande número de subtipos de receptores para este neurotransmissor (BENTLY e BARNES, 1995). Embora a 5-HT tenha sido

considerada importante no controle da nocicepção, somente com a descoberta desses múltiplos subtipos de receptores é que a complexidade do seu papel pôde ser esclarecido. Vários tipos de receptores de serotonina estão diferentemente acoplados a segundos mensageiros ou a canal iônico, os quais estão co-localizados em um único neurônio, cuja ativação está provavelmente associada com papéis funcionais opostos (SCHREIBER e De VRY, 1993). Assim, dependendo do tipo de receptor ativado, a serotonina pode induzir não somente antinocicepção, mas também ações pró-nociceptivas (CESSELIN et alli, 1994). Alterações na concentração cerebral da serotonina causadas pelo aumento ou pela redução do precursor resultam em analgesia (LIN et alli, 1980) e em hiperalgesia (LYTLE et alli, 1975), respectivamente.

As fibras serotoninérgicas descendentes originam-se do núcleo magno da rafe (NMR) da medula rostro-ventral (MRV) e promovem uma extensa inervação do corno dorsal da medula espinhal, com numerosas varicosidades e maior número de fibras nas lâminas superficiais I e II. Essas lâminas recebem um "input" de fibras aferentes primárias (A δ e C), mediando, dessa forma, a informação nociceptiva (KWAIT and BASBAUM, 1992). As fibras aferentes primárias contêm SP e glutamato, cujas ações são mediadas pelos receptores de neurocininas e do NMDA/AMPA, respectivamente (BESSON and CHAOU DI, 1987; DRAY et alli, 1994). As vias serotoninérgicas descendentes modulam a atividade das projeções neuronais, tanto diretamente como por meio de interneurônios, por exemplo, interneurônios inibitórios GABAérgicos (BESSON and CHAOU DI, 1987; Le BARS, 1988; ALHAIDER et alli, 1991).

A noradrenalina (NOR) é a catecolamina, predominante no sistema nervoso central e também está envolvida na modulação descendente da nocicepção. Os sistemas noradrenérgicos caracterizam-se anatomicamente por um conjunto de fibras que se originam a partir de neurônios no tronco cerebral e projetam-se através de uma rede divergente e complexa para todo o sistema nervoso central, promovendo suas funções, dentre elas o controle da nocicepção (McGEER et alli, 1987). A principal fonte da noradrenalina no sistema nervoso central é o *locus coeruleus*, que contém a maior quantidade de corpos celulares noradrenérgicos no cérebro. Tal estrutura é responsável pela produção de aproximadamente 70% da noradrenalina do sistema nervoso central (SIMSON e WEISS, 1988).

Os neurônios do *locus coeruleus* são particularmente responsivos aos estímulos nocivos. Estudos realizados demonstraram que, mesmo nos animais anestesiados, estímulos como o pinçamento da cauda, da pata, do nervo ciático ou choque elétrico nas patas causam ativação do *locus coeruleus*, ainda quando os seus neurônios não estejam sensíveis a estímulos não-nocivos (FOOTE et alli, 1983). Tais dados indicam que o *locus coeruleus* participa do processamento do estímulo doloroso e, portanto, no processo de antinocicepção (JONES e GEBHART 1986, 1988). Sugerem também a existência de um sistema coerúleo-noradrenérgico que, a partir da ativação do *locus coeruleus* por um estímulo nocivo, leva à liberação de noradrenalina e à diminuição da sensação de dor (VALENTINO e ASTON-JONES, 1995).

Vários trabalhos experimentais foram realizados em seres humanos e em animais com o objetivo de avaliar os diferentes sistemas neurotransmissores envolvidos na transmissão do impulso doloroso. Da mesma forma, as propriedades

analgésicas das diferentes drogas utilizadas no alívio da dor e a relação destas com outras doenças, incluindo a depressão e a ansiedade vêm sendo estudadas.

Acredita-se que existe uma relação entre dor crônica e depressão, sugerindo-se que resultam de um mecanismo bioquímico comum (MAGNI, 1987). Por essa razão é que os antidepressivos podem ser utilizados no alívio da dor, mesmo quando não existe nenhuma evidência de depressão clínica (FEINMANN, 1985). Entretanto os resultados dos estudos realizados são conflitantes, e os mecanismos de ação envolvidos ainda não são claros (LUND et alli, 1989, 1990, 1992). Os principais mecanismos que determinam a ação de um antidepressivo se relacionam a mudanças bioquímicas de aminas biogênicas no sistema nervoso central, principalmente pela interferência com a recaptação da serotonina ou da noradrenalina pela membrana neuronal (FULLER, 1981; VAN PRAAG, 1983; ROSENBLATT et alli, 1984). Além disso, como mencionado anteriormente, os sistemas serotoninérgico e noradrenérgico estão envolvidos na modulação neuroquímica da transmissão da dor (JENSEN e YAKSH, 1984; OLLAT et alli, 1989; FASMER et alli, 1989; KILPATRICK et alli, 1990; TURA e TURA, 1990; CRISP et alli, 1991). Essas evidências dão suporte à suposição de participação da serotonina e da noradrenalina como importantes neurotransmissores, tanto nos mecanismos de ação antidepressiva como na analgesia (SIERRALTA et alli, 1995). Por outro lado, várias evidências sugerem que existe uma relação neuroquímica entre depressão e ansiedade, e que os antidepressivos podem ser usados no tratamento de outras disfunções mentais além da depressão (TOLLEFSON, 1995; BOURIN et alli, 1996), como a desordem obsessiva, a desordem de pânico e

distúrbios da alimentação (BOYER, 1992; TOLLEFSON, 1995; WONG et alli, 1995).

Na prática clínica, a eficácia dos antidepressivos no alívio da dor parece depender do seu tipo. Em vários tipos de desordens dolorosas em humanos, incluindo dores crônicas de cabeça, dor facial, dor cervical, dor lombar, dor da artrite, neuralgia pós-herpética, neuropatia diabética, úlcera péptica e dor do câncer, o uso de antidepressivos tem proporcionado resultados satisfatórios (ROSENBLATT et alli, 1984; MAGNI, 1991). Todavia vários autores sugerem que o efeito possa dever-se a uma melhora do estado de humor (VALVERDE, 1994).

Entretanto, a ação analgésica dos antidepressivos pode ser independente dos seus efeitos antidepressivos, considerando-se que existem trabalhos demonstrando que os efeitos analgésicos ocorrem antes dos efeitos antidepressivos (DAVIS et alli, 1977), e, também, que doses baixas de antidepressivos (McFARLANE et alli, 1986) com níveis séricos baixos (CASAS et alli, 1995) determinam analgesia. Além disso, alguns trabalhos têm demonstrado que os antidepressivos aliviam a dor em pacientes não deprimidos (SHARAV et alli, 1987; LEIJON e BOVIE, 1989), e que os efeitos analgésicos são obtidos somente após alguns dias de tratamento (LUND et alli, 1991).

Os conhecimentos atuais dos mecanismos de ação analgésica dos antidepressivos resultam principalmente dos experimentos realizados com animais, porém muitos dos testes usados para determinar a atividade antinociceptiva em animais não fornecem informações sobre os aspectos emocionais da dor (CASAS et alli, 1995). Quando se comparam os animais com os seres humanos, não fica claro se a percepção da dor tem o mesmo padrão de intensidade, e se as vias de

transmissão de mensagens nociceptivas, neurotransmissores cerebrais e receptores são similares. Sabe-se, no entanto, que os seres humanos podem expressar e distinguir uma grande variedade de sensações dolorosas, enquanto os animais podem exibir somente distúrbios autonômicos e/ou somatomotores. As respostas somatomotoras são mais frequentemente empregadas na análise experimental da dor. Algumas dessas respostas são, por exemplo, os testes do "tail-flick" e das contorções abdominais (RAMABADRAN e BANSINATH, 1986).

Os estudos com animais também mostram que os antidepressivos, quando administrados agudamente, apresentam uma grande variedade de efeitos na nocicepção (ESCHALIER et alli, 1981; RIGAL et alli, 1983; ANSUATEGUI et alli, 1989; GOLDSTEIN et alli, 1990; ARDID et alli, 1992; FIALIP et alli, 1992). Isso pode refletir diferenças entre drogas e doses, mas também diferenças entre testes, uma vez que as discrepâncias no efeito analgésico apresentado pelos antidepressivos podem dar-se devido ao uso de diferentes testes para quantificar a dor (LEE e SPENCER, 1977; DENNIS e MELZACK, 1980; FASMER et alli, 1989; ARDID et alli, 1991). Além disso, principalmente os antidepressivos tricíclicos, como, por exemplo, a imipramina e a amitriptilina (TANGRI et alli, 1966), em nível experimental, mostram reduzir tanto a inflamação aguda quanto a crônica (BUTLER et alli, 1985; MICHELSON et alli, 1994). A atividade antiinflamatória da clorimipramina, um antidepressivo clássico, e da fluoxetina, um antidepressivo atípico, conhecidos por inibirem a recaptção da serotonina, foram demonstradas no modelo de inflamação induzida por levedura de cerveja na pata de ratos (BIANCHI et alli, 1994).

Os mecanismos da ação antiinflamatória dessas drogas parecem, no entanto, diferir parcialmente, pois o efeito da fluoxetina é bloqueado em animais

adrenalectomizados e hipofisectomizados (BIANCHI et alli, 1994), o que não ocorre com a clorimipramina. Portanto, tanto os neurotransmissores como os hormônios podem estar envolvidos no efeito antiinflamatório das drogas antidepressivas. Essa ação também pode estar relacionada com a capacidade dos antidepressivos em modular respostas imunes (MICHELSON et alli, 1994; SACERDOTE et alli, 1994) ou inibir a síntese de prostaglandinas (KRUPP e WEST, 1975).

Para avaliar-se o efeito analgésico dos antidepressivos, é importante que se avalie também a relação entre as doses utilizadas para induzir analgesia e os efeitos sobre outros parâmetros comportamentais, como a atividade locomotora, a ação antidepressiva e os possíveis efeitos ansiolíticos ou ansiogênicos dessas drogas.

Além disso, a importância da variabilidade individual também deve ser considerada ao desenvolverem-se estudos em que se empregam modelos animais (DEAKIN e GRAEFF, 1991).

Os antidepressivos podem atuar sobre a atividade locomotora espontânea dos animais, induzindo sedação. Por exemplo, um dos efeitos secundários da amitriptilina, inibidor de recaptção da serotonina e da noradrenalina, sobre a atividade locomotora é a sedação (BLACKWELL, 1987). Esse efeito pode levar à interpretação errônea dos resultados obtidos em outros testes comportamentais, como os de analgesia.

A relação entre o efeito analgésico e o efeito antidepressivo pode ser avaliada com o emprego do teste da natação forçada, também conhecido como “desespero comportamental” ou “desamparo aprendido (PORSOLT et alli, 1977,1978). É um modelo preditivo que foi desenvolvido para avaliar a atividade antidepressiva dos

antidepressivos em humanos (REDROBE e BOURIN, 1997), sendo relativamente seletivo para drogas antidepressivas, porque poucas outras drogas psicoativas causam efeitos similares (BORSINI e MELI, 1988).

Segundo PORSOLT e colaboradores (1977), o teste fundamenta-se na observação do tempo de imobilidade de camundongos, que pode ser reduzida pelo uso de antidepressivos, tornando os animais mais ativos. Mostra-se sensível aos efeitos de todas as principais classes de drogas antidepressivas. Estudos demonstraram que o uso de antidepressivos que inibem seletivamente a recaptção da noradrenalina, como desipramina e maprotilina (DETKE et alli, 1997), inibidores de recaptção da serotonina, tais como femoxetina, fluoxetina (PORSOLT et alli, 1979), sertralina e paroxetina (DETKE et alli, 1997), reduziram o tempo de imobilidade em ratos. Utilizando o mesmo tipo de animais, PORSOLT e colaboradores (1978) demonstraram que apenas uma injeção de imipramina reduziu o tempo de imobilidade de maneira dose-dependente, porém os efeitos foram mais acentuados após duas ou três administrações da droga, efetuadas no período de 24 horas (BORSINI e MELI, 1988).

Entretanto outros estudos relataram que os efeitos induzidos pelos inibidores seletivos de recaptção da serotonina não são fielmente detectados com o emprego desse teste (DETKE et alli, 1995) e concluíram que os inibidores seletivos de recaptção da serotonina são falso-negativos (PORSOLT 1990; PORSOLT et alli, 1991; PORSOLT e LENEGRE, 1992).

Além disso, existe uma correlação significativa entre a dose na qual os antidepressivos são clinicamente efetivos e aquelas que produzem efeitos comportamentais no teste da natação forçada (DETKE et alli, 1997). Clinicamente

os efeitos terapêuticos dos antidepressivos em pacientes humanos deprimidos só ocorrem após várias semanas de administração (FRAZER, 1994). Entretanto, em experimentos laboratoriais utilizando o teste da natação forçada, os antidepressivos tem sido efetivos mesmo após administração única. Esta inconsistência é talvez a única característica divergente para validar o teste da natação forçada como um modelo neurobiológico de depressão (DETKE et alli, 1997).

Porém, quando se utilizam antidepressivos para obter-se alívio da dor, é importante que esta propriedade seja dissociada da ação antidepressiva. Assim, utilizando modelos animais, CASAS e colaboradores (1995) demonstraram, por meio do teste da natação forçada, que as propriedades analgésicas da amitriptilina se deram independentes de sua ação antidepressiva.

Outros estudos demonstraram ainda que situações de ansiedade e medo podem aumentar sensação da dor (DELLEMIJN e FIELDS, 1994). As propriedades ansiolíticas ou ansiogênicas das drogas podem ser avaliadas pelo comportamento dos animais no teste do labirinto em cruz elevado ("plus-maze") (BENJAMIN et alli, 1990).

O plus-maze é um teste que foi desenvolvido por MONTGOMERY (1958). PELLOW e colaboradores (1985) realizaram uma série de experimentos validando o procedimento como um modelo animal de ansiedade em ratos, e, posteriormente, LISTER (1987) validou o teste para camundongos. Esse modelo tomou-se muito popular nos últimos anos, em parte porque é simples, rápido e parece ser sensível aos efeitos de agentes tanto ansiolíticos quanto ansiogênicos (LISTER, 1990). Drogas que induzem efeitos ansiolíticos em seres humanos produzem nos animais um aumento proporcional de entradas nos braços abertos e do tempo de

permanência nos braços abertos do labirinto em cruz elevado, enquanto drogas ansiogênicas produzem efeitos opostos (BENJAMIN et alli, 1990).

Em geral, os testes de ansiedade não têm detectado efeito ansiolítico em drogas antidepressivas (FILE, 1990). A imipramina, aplicada em ratos, tanto de forma aguda quanto crônica, não tem determinado alteração significativa na ansiedade, no teste do labirinto em cruz elevado (PELLOW et alli, 1985; BRILEY et alli, 1986; FILE e JOHNSTON, 1987; VASAR et alli, 1993), o que também se deu quando camundongos foram submetidos a igual procedimento (RODGERS et alli, 1997). Resultados semelhantes também foram obtidos com a administração aguda de desipramina e amitriptilina (BRILEY et alli, 1986; DURCAN et alli, 1988). Já a fluoxetina administrada agudamente em ratos, mostrou, em alguns estudos, atividade ansiogênica, em outros, não produziu efeito (RODGERS e COLE, 1994).

BODNOFF e colaboradores (1988) estudaram a ansiedade, utilizando modelos animais, e concluíram que os antidepressivos adquirem propriedades ansiolíticas somente após tratamento crônico (BOURIN et alli, 1996).

Somente alguns estudos têm levado em consideração que, assim como os seres humanos, os animais também possuem características individuais, representadas por suas variações genéticas, que precisam ser consideradas quando se executam os protocolos experimentais. Por exemplo, no caso da ansiedade, sabe-se que, em uma amostra aleatória de seres humanos, ocorrem níveis variáveis de ansiedade, mas somente uma reduzida minoria por ela é perturbada (JANKLE et alli, 1979). Se a ansiedade destes indivíduos difere quantitativa e, também, qualitativamente do restante da população, tal fato

demonstra a necessidade de se considerar a ampla variação dos comportamentos apresentados por uma amostra de indivíduos.

É inquestionável a constatação de que os indivíduos ditos normais podem reagir diferentemente a situações estressantes, assim como em resposta às drogas (JANKLE et alli, 1979). LISTER (1990) demonstrou que a eficácia das drogas ansiolíticas não é aparente em uma amostra de voluntários humanos considerados normais, evidencia-se naqueles clinicamente ansiosos.

A variação de resposta (intensidade e/ou qualidade) comportamental pode ocorrer entre diferentes indivíduos, como também em situações diversas vividas pelo mesmo indivíduo. Alguns estudos utilizando o labirinto em cruz elevado investigaram o estado de ansiedade em ratos e constataram que envolve os mesmos substratos neurobiológicos acionados na morbidade da ansiedade humana (DEAKIN e GRAEFF, 1991).

Os trabalhos desenvolvidos por HARRO e colaboradores (1990) demonstraram diferenças na atividade exploratória de ratos no teste do labirinto em cruz elevado, refletindo mudanças no seu estado de ansiedade. De acordo com a resposta comportamental apresentada nesse teste, ratos podem ser classificados em animais “ansiosos” e “não-ansiosos”. Ratos “ansiosos” apresentam uma atividade exploratória baixa, e um baixo número de receptores benzodiazepínicos no córtex frontal, comparados com ratos “não-ansiosos”.

Trabalhos prévios realizados neste laboratório confirmaram os resultados de HARRO e colaboradores, em que ratos Wistar foram selecionados em “ansiosos” e “não-ansiosos”, de acordo com a atividade exploratória no labirinto em cruz elevado (ROGÉRIO e TAKAHASHI, 1992).

Situação semelhante deve, provavelmente, ocorrer também com a depressão. Assim, quando os camundongos são submetidos ao teste da natação forçada, tomando-se como base o tempo de imobilidade, pode-se dividi-los em grupos distintos. De maneira análoga ao que ocorre com a ansiedade, possivelmente também podemos ter camundongos classificados como “não-deprimidos” e “deprimidos”. Tal aspecto torna-se importante para ratificar as suposições de que o efeito analgésico dos antidepressivos pode ser dissociado do seu efeito antidepressivo.

A seleção dos animais destinados ao experimento possibilita, portanto, distribuí-los em grupos que se tornam mais homogêneos, trazendo subsídios para um melhor entendimento dos comportamentos expressados como, por exemplo, na nocicepção.

Como mencionado anteriormente, depressão e dor podem estar relacionadas (MAGNI, 1987). Além disso, os antidepressivos têm sido utilizados como analgésicos, em animais, quando não existem manifestações comportamentais características de depressão. A caracterização da influência genética e a classificação dos animais pode, portanto, contribuir para uma melhor resposta analgésica induzida por antidepressivos em diferentes modelos indutores de dor.

Os dados da literatura proporcionam poucas informações sobre os aspectos emocionais envolvidos na analgesia induzida por antidepressivos (CASAS et alli, 1995). Assim considerando que os modelos animais usados para avaliar a atividade analgésica são inadequados na avaliação de outras medidas comportamentais manifestadas, o presente estudo foi desenvolvido para avaliar a possível correlação entre os efeitos comportamentais dos antidepressivos fluoxetina e

desipramina, respectivamente, inibidores preferenciais de recaptção da serotonina e da noradrenalina, e a sensibilidade nociceptiva em camundongos. Foram utilizados os testes de atividade locomotora, da natação forçada, do labirinto em cruz elevado e os testes nociceptivos do "tail-flick", da placa quente e da formalina.

2- OBJETIVOS

- Investigar a possível correlação existente entre os efeitos na estimulação locomotora, como também os efeitos antidepressivos, ansiolíticos ou ansiogênicos da fluoxetina e da desipramina, administradas i.p., com a antinocicepção em diferentes modelos experimentais de analgesia em camundongos.

- Verificar a participação de sítios medulares nas respostas analgésicas induzidas pela fluoxetina e pela desipramina, administradas por via intratecal, empregando os testes do "tail-flick" e da formalina.

- Avaliar a correlação e a sensibilidade à nocicepção entre os efeitos antinociceptivos da fluoxetina e da desipramina, administradas por via i.p., nos testes da formalina e da placa quente, com o nível de imobilidade basal de camundongos previamente selecionados no teste da natação forçada.

3- MATERIAIS E MÉTODOS

3.1- Animais

Foram utilizados camundongos albinos suíços machos, pesando entre 30 e 40 gramas, com idades entre 2,5 e 3,5 meses, provenientes do biotério da Universidade Federal de Santa Catarina. Os animais foram mantidos em caixas de plástico de 40 cm x 17 cm x 34 cm, com serragem, em grupos de 15 a 20, em temperatura controlada de $23 \pm 1^\circ\text{C}$, com ciclo de claro/escuro de 12 horas (6 -18 h) e com livre acesso à água e à comida, exceto durante as sessões de teste. Antes do início de cada sessão experimental, realizada entre 7 e 17 horas, foram aclimatizados no laboratório, pelo período de pelo menos 1 hora. Utilizaram-se grupos diferentes de animais para cada teste.

3.2- Vias de administração

Nos diferentes experimentos realizados foram utilizadas as vias intraperitoneal (i.p.) e/ou intratecal (i.t.).

Para a administração i.t., empregou-se um suporte convexo sobre o qual os camundongos foram colocados em decúbito ventral, o que facilitou a administração das drogas ou da solução salina. Inicialmente, os camundongos foram anestesiados superficialmente com éter etílico, com o objetivo de facilitar a administração i.t., e, em seguida, foram colocados sobre o suporte. Uma agulha de insulina (13 x 3,8 B-D) foi conectada, por meio de um cateter (tubo de polietileno), a uma seringa Hamilton de 10 μl . Foi esta, então, inserida no canal medular entre as vértebras dorsais L₅ e L₆ (HYLDEN e WILCOX, 1980), por onde os antidepressivos e a solução salina

foram administrados. O correto local da punção lombar foi previamente determinado com o auxílio do corante azul de Evans.

3.3- Drogas

Foram utilizadas basicamente a fluoxetina HCl (SIEGFRIED AG., Suíça) e a desipramina HCL (RBI, MA. U.S.A.). Além destas drogas utilizaram-se as seguintes substâncias: solução salina, formaldeído (Merck, Rio de Janeiro, Brasil), solução tampão fosfatada (PBS - pH 7,6: NaCl 137, KCl 2 mM e tampão fosfato 10 mM), azul de Evans 5% e Tween 80.

A fluoxetina HCl e a desipramina HCL foram homogeneizadas com 1 gota de Tween 80 e, em seguida, dissolvidas em salina estéril (0,9%) até completar o volume desejado. Os controles foram injetados com solução salina mais 1 gota de Tween 80.

As drogas antidepressivas (fluoxetina e desipramina), bem como a solução salina, foram administradas por via i.p., em um volume de 0,1 ml de droga para cada 10 gramas de peso do animal. Já para o tratamento pela via i.t., administrou-se fluoxetina, desipramina ou solução salina, em um volume total de 5 μ l por camundongo.

A solução aquosa de formalina a 2,5% (0,92% de formaldeído) foi preparada utilizando-se PBS como solvente, e administrada em um volume de 20 μ l, por via subcutânea (s.c.), na superfície intraplantar da pata posterior direita.

3.4- Aparelhos e procedimentos

3.4.1-Teste de atividade locomotora

Para avaliar os efeitos induzidos pela fluoxetina ou pela desipramina sobre a atividade locomotora, os camundongos foram colocados individualmente em gaiolas de movimentação de 40 cm x 12 cm x 20 cm, constituídas de três pares de células fotoelétricas que registram o número de vezes que o camundongo cruza o feixe luminoso (atividade locomotora horizontal). O tempo total para a realização do experimento foi de 60 minutos. Durante esse tempo, foram feitos registros parciais a cada 15 minutos. A solução salina e as drogas foram administradas por via i.p. no início do teste (tempo zero). Utilizaram-se as doses de 2,5; 5; 10; 20 e 40 mg/kg, tanto para fluoxetina quanto para desipramina.

3.4.2- Teste da natação forçada

O teste da natação forçada, validado como um modelo neurobiológico de depressão (BORSINI e MELI, 1988), foi utilizado de modo similar ao descrito por PORSOLT e colaboradores (1977). Os camundongos foram colocados individualmente em um recipiente de vidro transparente (25 cm de altura, 10 cm de diâmetro) contendo 10 cm de água potável mantida em temperatura de 23 a 25° C. A duração do teste foi de 6 minutos, sendo o tempo de imobilidade registrado somente nos 4 minutos finais. O camundongo foi considerado em estado de imobilidade quando permanecia flutuando na posição vertical ou fazia apenas os movimentos necessários para manter a cabeça acima do nível da água (REDROBE et alli, 1996). Todos os animais foram submetidos a uma sessão pré-teste, realizada 24 h antes,

com duração de 10 minutos, nas mesmas condições experimentais empregadas na sessão de teste. A fluoxetina e a desipramina foram administradas i.p., nas doses de 2,5; 5; 10 e 20 mg/kg, 30 min antes do início do teste.

3.4.3- Teste do labirinto em cruz elevado (“plus-maze”)

Este modelo foi usado para avaliar as possíveis propriedades ansiolíticas ou ansiogênicas da fluoxetina e da desipramina. O “plus-maze” consiste em dois braços abertos e opostos, 30 cm x 5 cm, e dois braços fechados e também opostos, 30 cm x 5 cm x 15 cm, elevados a 38,5 cm do chão. Os braços fechados foram pintados de preto. O teste se baseia na aversão natural que os camundongos demonstram pelos dois braços abertos e elevados do labirinto, quando comparados com os dois braços fechados (LISTER, 1987).

No experimento, o camundongo é posicionado no centro do labirinto, e o número de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos e fechados são registrados por um período de 5 minutos. Dois índices de ansiedade foram utilizados: o número de entradas nos braços abertos, expresso em percentagem dividindo-se o número de entradas nos braços abertos pelo número total de entradas (aberto + fechado) e multiplicando-se o resultado por 100. O tempo de permanência nos braços abertos, também foi expresso em percentagem, dividindo-se o tempo gasto nos braços abertos pelo tempo total (aberto + fechado) e multiplicando-se o resultado por 100 (PELLOW et alli, 1985; LISTER, 1987). Considerou-se que o animal estava nos braços abertos ou fechados quando colocava as quatro patas dentro de um dos braços. Com o objetivo de eliminar odores que pudessem interferir

no comportamento dos animais, foi utilizada uma solução de etanol a 10%, para limpar o aparelho antes da colocação de cada um deles.

A fluoxetina e a desipramina foram administradas i.p. 30 minutos antes do início do teste, nas doses de 2,5; 5; 10 e 20 mg/kg.

3.4.4- Medidas da antinocicepção

a) Teste do “tail- flick” (estímulo térmico)

O possível efeito antinociceptivo da fluoxetina e da desipramina foi avaliado no teste do “tail-flick”. Este teste, sensível às drogas que atuam no sistema nervoso central, tornou-se um procedimento para a investigação padronizada de drogas analgésicas, tanto em ratos quanto em camundongos. É baseado em um estímulo fásico de alta intensidade (TJØLSEN et alli 1992), e a resposta ao “tail-flick” não envolve um alto grau de coordenação motora-sensorial. Embora exista um reflexo medular de pequeno grau, esta resposta está normalmente sob o controle fisiológico de centros supra-medulares (RAMABADRAN e BANSINATH, 1986). Utilizou-se o aparelho do “tail-flick” (Albarsch, Brasil), para medir em segundos (s) o tempo de reação dos animais à exposição ao feixe de luz (90 watts) que incide sobre sua cauda, de acordo com o método que foi descrito por D’AMOUR e SMITH (1941) e adaptado neste laboratório (RIGON e TAKAHASHI, 1996). Normalmente, os animais reagem ao estímulo térmico (feixe luminoso) retirando sua cauda do contato com a luz.

No dia do experimento, cada camundongo foi confinado dentro um tubo plástico, com a cauda exposta. A resposta foi medida três vezes, com intervalo de 1

minuto entre uma e outra exposição (CASAS et alli, 1995). O tempo máximo de cada exposição foi de 30 s e as respostas antinociceptivas foram avaliadas aos 0; 15; 30 e 45 minutos após a administração por via i.p. de cada droga ou solução salina. Foram utilizadas as doses de 2,5; 5; 10 e 20 mg/kg, tanto para a fluoxetina quanto para a desipramina.

Para a via i.t. ambos os antidepressivos foram administrados nas doses de 0,76; 7,6 e 15,2 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. Cinco minutos após a punção lombar, já recuperados da anestesia, os camundongos foram submetidos ao teste térmico na cauda com o aparelho do "tail-flick". O tempo de latência foi determinado de maneira idêntica ao descrito para a administração i.p. Este procedimento foi repetido aos 30, 45 e 60 minutos após cada tratamento.

b) Teste da placa quente (estímulo térmico)

O teste da placa quente, de maneira geral, apresenta as mesmas características e sensibilidade do teste do "tail-flick". Entretanto, depende de uma resposta mais complexa e integrada do animal experimental, refletindo processos que ocorrem em um nível mais elevado do sistema nervoso central (RAMABADRAN e BANSINATH, 1986). Neste teste, o estímulo é aplicado nas patas do animal, que pode mover-se livremente dentro do aparelho de contenção. Para a realização dos experimentos, os animais foram colocados individualmente dentro de um cilindro de acrílico transparente, sobre a superfície de uma placa de metal previamente aquecida a $60 \pm 0,5$ °C (CASAS et alli, 1995). Utilizou-se o aparelho de placa quente fornecido pela Ugo Basile (Varese, Italia, Modelo DS 37).

O tempo que o camundongo colocado sobre a placa aquecida levou para lambe as patas dianteiras (latência) foi medido em segundos e considerado como um indicativo de nocicepção, conforme descrito anteriormente (EDDY e LEIMBACK, 1953). O tempo máximo de exposição de cada camundongo no aparelho de placa quente foi de 30 s, para evitar danos teciduais (MICÓ et alli, 1997). As respostas antinociceptivas foram avaliadas aos 0; 15; 30 e 45 minutos após a administração por via i.p. de cada droga ou da solução salina. Foram utilizadas as doses de 2,5; 5; 10 e 20 mg/kg, tanto para a fluoxetina quanto para a desipramina.

c) Teste da formalina (estímulo químico)

Este teste foi introduzido por DUBUISSON e DENNIS (1977), que o utilizaram em ratos e gatos, e ganhou grande popularidade como um modelo de dor tônica inflamatória (DETWEILER et alli, 1995). O teste da formalina, por outro lado, mede a resposta para um estímulo nociceptivo de longa duração e pode servir, portanto, como um modelo semelhante à dor clínica (ROSLAND et alli, 1990), sendo a formalina uma substância útil para a obtenção de inflamação neurogênica e dor contínua (SHIBATA et alli, 1989).

A injeção subcutânea da formalina diluída produz uma resposta dolorosa bifásica (DUBUISSOM e DENNIS, 1977). A fase inicial ou primeira fase, com duração de 0 a 5 minutos é transitória e atribuída à estimulação de nociceptores periféricos pela formalina; subsequentemente, há um período de 10 a 15 minutos com pouco ou nenhum comportamento sugestivo de nocicepção; e a fase tardia ou segunda fase, inicia-se aproximadamente 15 a 20 minutos após a injeção de

formalina, dura entre 20 e 40 minutos, sendo atribuída a uma resposta de origem inflamatória (HUNSKAAR e HOLE, 1987; ROSLAND et alli, 1990).

Para avaliar o possível efeito antinociceptivo da fluoxetina e da desipramina neste modelo, utilizou-se um funil de vidro, com 17 cm de diâmetro, onde, antes de serem testados, os animais foram mantidos durante 5 minutos, para permitir a adaptação ao novo ambiente (SHIBATA et alli, 1989). Atrás do funil, colocou-se um espelho, em ângulo de 45°, para facilitar a observação das respostas.

Os antidepressivos ou a solução salina foram administrados por via i.p., nas doses de 2,5; 5; 10 e 20 mg/kg, 30 minutos antes da injeção de formalina. Como descrito em um trabalho anterior (BITTENCOURT e TAKAHASHI, 1997), cada camundongo recebeu 20 μ l de formalina a 2,5%, por via s.c., na superfície intraplantar da pata posterior direita, sendo, após, recolocado no ambiente experimental anteriormente conhecido. Os camundongos foram observados durante 30 minutos, e o tempo que cada animal permaneceu lambendo a pata injetada com formalina foi considerado um indicativo de nocicepção (WHELLER et alli, 1988).

Para a administração i.t., utilizou-se o procedimento descrito anteriormente. A fluoxetina e a desipramina foram administradas nas doses de 1,9; 3,8; 7,6 e 15,2 μ g/ μ l. Após 15 minutos, os camundongos receberam uma injeção intraplantar de formalina a 2,5% na pata posterior direita e foram avaliados durante 30 minutos.

3.5- Influência da seleção prévia dos animais no teste da natação forçada sobre as medidas de nocicepção

Nesta etapa do trabalho experimental, procurou-se correlacionar os efeitos antinociceptivos da fluoxetina e da desipramina com o nível de imobilidade basal dos camundongos no teste da natação forçada (modelo animal de depressão). O procedimento foi idêntico ao descrito anteriormente, porém, na sessão de teste, os animais foram marcados para possibilitar a sua identificação posterior, e nenhuma droga foi administrada. Dessa forma, o tempo de imobilidade registrado durante 240 segundos representou a sensibilidade de cada animal em relação ao teste realizado. Como os tempos de imobilidade obtidos com os camundongos testados não obedeciam a uma distribuição normal, tomaram-se como base os limites de confiança de 95%, e dividiram-se os camundongos em três grupos: aqueles cujo tempo de imobilidade registrado estava entre 0 e 162 segundos (limite de confiança abaixo de 95%) foram chamados de “não-deprimidos” e aqueles com tempo de imobilidade entre 181 e 240 segundos (limite de confiança acima de 95%) foram denominados de “deprimidos”. Os animais que apresentaram tempos entre estas duas medidas (163-180 segundos) foram chamados de “intermediários”. Após a seleção, os animais foram reagrupados, retomando a sua colônia original, e, uma semana após, foram submetidos a um teste nociceptivo.

Para o teste da formalina, as respostas antinociceptivas induzidas pela fluoxetina ou pela desipramina, administradas 15 minutos antes por via i.p., foram registradas durante 30 minutos. Foi utilizada a dose de 5 mg/kg, tanto para fluoxetina quanto para desipramina. Entretanto, para o teste da placa quente, as respostas antinociceptivas foram avaliadas aos 0; 15; 30 e 45 minutos após a

administração por via i.p. de cada droga ou da solução salina. Foram utilizadas as doses de 5; 10 e 20 mg/kg, para ambos os antidepressivos.

3.6- Análise estatística

Os resultados foram expressos por meio da média \pm erro padrão da média (e.p.m.) para os diferentes grupos experimentais. Diferenças entre os grupos tratados e os respectivos controles foram determinadas por meio de análise de variância (ANOVA) de uma e de duas vias, e complementadas pelo teste de NEWMAN-KEULS, quando necessário. ANOVA de uma via foi empregada para analisar os testes de atividade locomotora, da natação forçada, do labirinto em cruz elevado e da formalina. Os testes do "tail-flick" e da placa quente foram analisados com o emprego da ANOVA de duas vias com medidas repetidas. Os valores de "p" menores que 0,05 foram considerados como estatisticamente significantes.

4 - RESULTADOS

4.1- Teste de atividade locomotora

Este experimento teve como objetivo investigar se as diferentes doses da fluoxetina e/ou da desipramina seriam capazes de alterar a atividade locomotora dos camundongos tratados, causando estimulação ou sedação, e, também, permitir a seleção das doses que viriam a ser utilizadas nos demais experimentos. Foram utilizadas para ambos os antidepressivos as doses de 2,5; 5; 10; 20 ou 40 mg/kg.

Os efeitos da administração aguda i.p. da fluoxetina ou da desipramina no teste de atividade locomotora estão ilustrados na figura 1. A análise estatística efetuada com a ANOVA de uma via revelou efeito significativo entre os tratamentos [$F_{10,99} = 5,25$; $p < 0,0001$]. A análise subsequente, utilizando-se o teste de Newman-Keuls, revelou, com a fluoxetina e a desipramina, uma inibição estatisticamente significativa da atividade locomotora dos camundongos na dose maior (40 mg/kg), quando comparada ao respectivo controle ($p < 0,01$). A partir deste dado, a dose de 40 mg/kg foi excluída dos demais experimentos, tendo em vista que, nas outras doses testadas, nenhuma influência sobre a atividade locomotora foi observada.

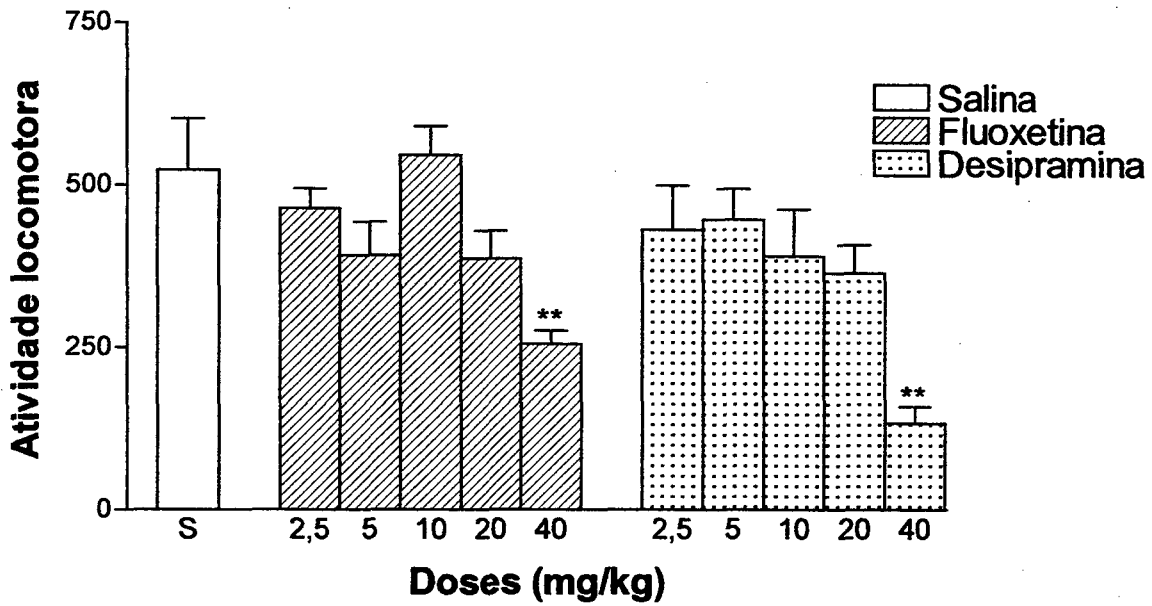


Figura 1: Efeitos da administração aguda intraperitoneal da fluoxetina, da desipramina ou da solução salina (S) sobre a atividade locomotora dos camundongos, 60 minutos após os tratamentos. Os resultados são expressos como média \pm e.p.m. de 10 animais por grupo. ** $p < 0,01$ em relação ao grupo controle. Teste de Neuman-Keuls.

4.2- Teste da natação forçada

Os efeitos da administração aguda i.p. da fluoxetina ou da desipramina, nas doses de 2,5; 5; 10 e 20 mg/kg, no teste da natação forçada, estão ilustrados na figura 2. A análise estatística efetuada com a ANOVA de uma via não revelou nenhum efeito significativo no tempo de imobilidade dos camundongos para os tratamentos com fluoxetina ou desipramina [$F_{8,81} = 0,97$; $p = 0,46$].

4.3- Teste do labirinto em cruz elevado

Para avaliar o potencial ansiolítico ou ansiogênico da fluoxetina ou da desipramina, administraram-se as doses de 2,5; 5; 10 e 20 mg/kg nos camundongos, que, a seguir, foram submetidos ao labirinto em cruz elevado.

Os efeitos da administração aguda i.p. da fluoxetina ou da desipramina estão ilustrados na figura 3. A análise estatística efetuada com a ANOVA de uma via não revelou nenhum efeito significativo nos índices de ansiedade, ou seja, no percentual de entrada nos braços abertos [$F_{8,81} = 0,92$; $p = 0,50$] e no tempo gasto nos braços abertos do labirinto [$F_{8,81} = 1,03$; $p = 0,41$], demonstrando que nas doses testadas esses antidepressivos parecem não alterar os níveis basais de ansiedade dos camundongos testados. Entretanto, com a fluoxetina, houve uma tendência de redução no percentual de tempo gasto nos braços abertos do labirinto, principalmente na dose de 10 mg/kg, quando comparado ao grupo controle.

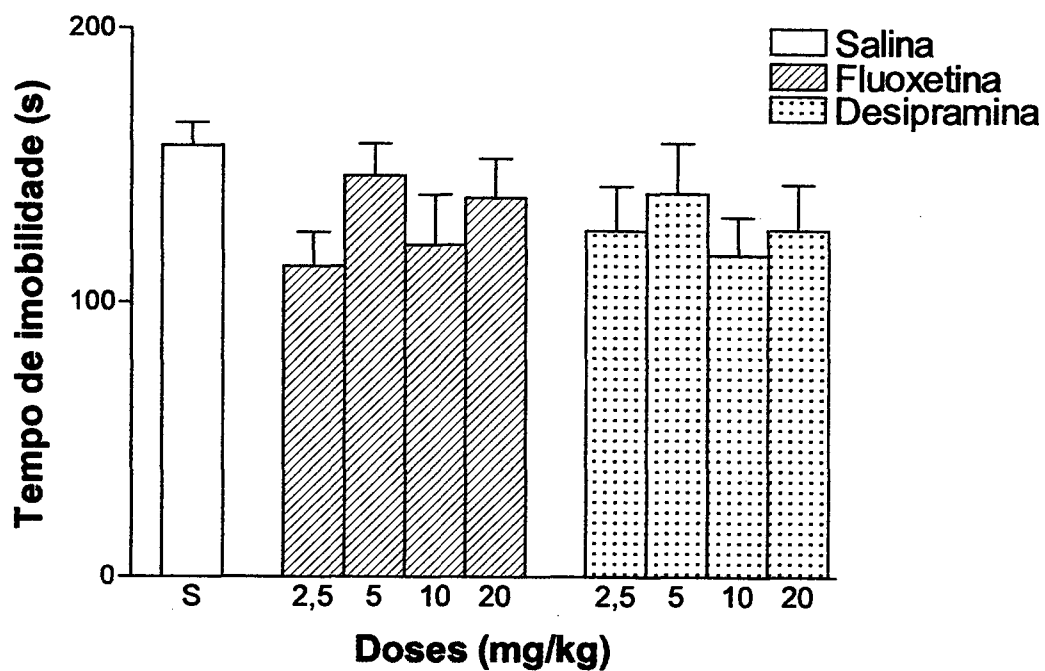


Figura 2: Efeitos da administração aguda intraperitoneal da fluoxetina, da desipramina ou da solução salina (S) sobre o tempo de imobilidade dos camundongos, no teste da natação forçada. Os resultados são expressos como média \pm e.p.m. de 10 animais por grupo.

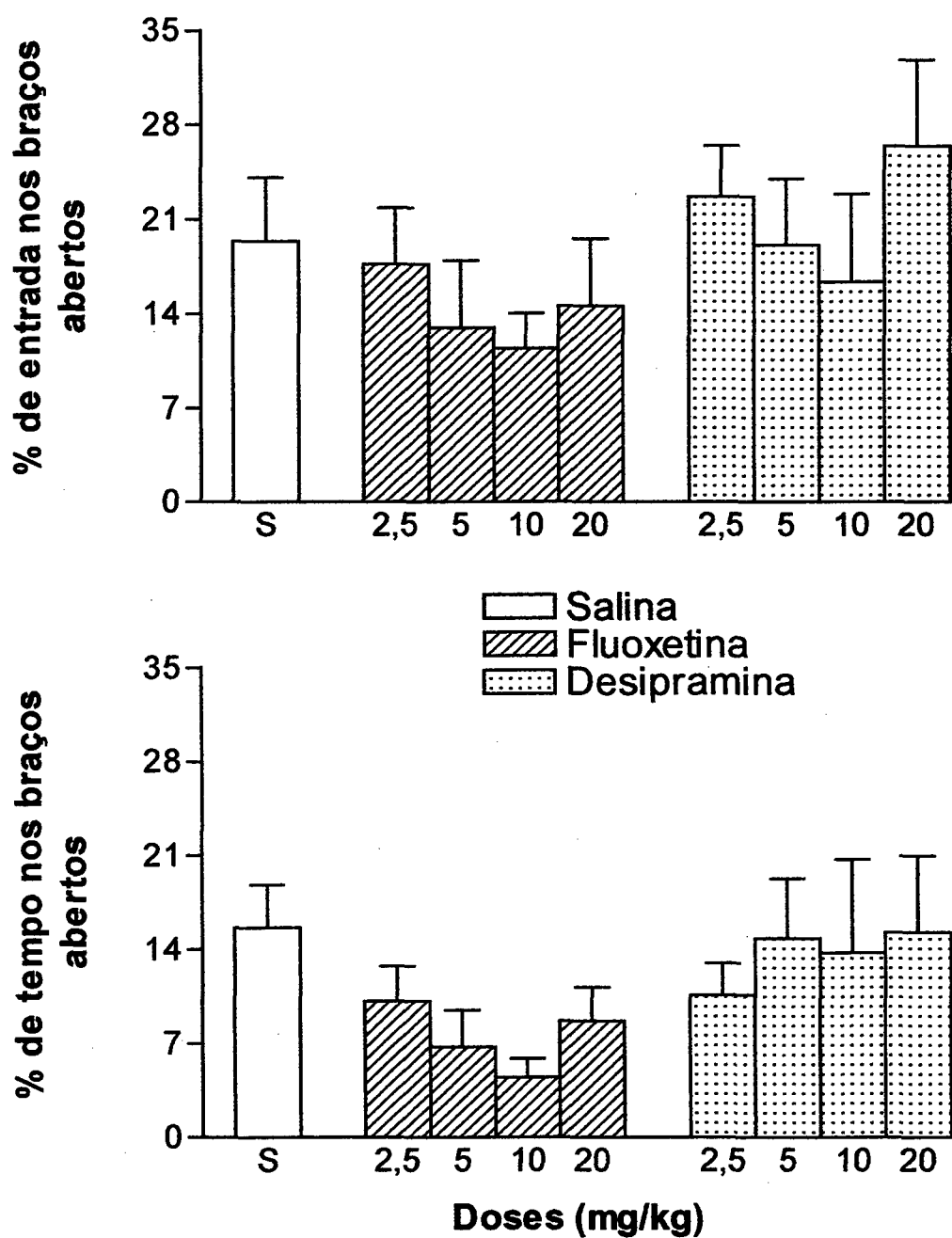


Figura 3: Efeitos da administração aguda intraperitoneal da fluoxetina, da desipramina ou da solução salina (S) sobre a percentagem do número de entradas ou do tempo de permanência nos braços abertos do labirinto em cruz elevado. Os resultados são expressos como média \pm e.p.m. de 10 animais por grupo.

4.4- Nociceção avaliada pelo teste do “tail-flick”

Os efeitos da administração aguda i.p. da fluoxetina ou da desipramina, nas doses de 2,5; 5; 10 e 20 mg/kg no teste do “tail-flick” estão ilustrados na figura 4. A análise estatística efetuada com a ANOVA de duas vias, com medidas repetidas, não revelou nenhum efeito significativo nas respostas dos camundongos tratados, quando comparados aos respectivos controles [$F_{24,243} = 1,21$; $p = 0,23$].

4.5- Nociceção avaliada pelo teste da placa quente

Os efeitos da administração aguda i.p. da fluoxetina ou da desipramina no teste da placa quente, estão ilustrados na figura 5. A análise estatística efetuada com a ANOVA de duas vias, com medidas repetidas, revelou efeito significativo entre os tratamentos: [$F_{24,243} = 3,71$; $p < 0,001$]. A análise subsequente, utilizando o teste de Newman-Keuls, revelou, com o uso da desipramina, um aumento estatisticamente significativo e dose-dependente da latência para as respostas evocadas pelos camundongos testados com as doses maiores (10 e 20 mg/kg) a partir dos 15 minutos. Com relação à fluoxetina, o aumento significativo da latência ocorreu aos 15 minutos e 30 minutos, com as doses de 10 e 20 mg/kg, e aos 45 min, somente com a dose de 10 mg/kg. Esses resultados demonstram efeito antinociceptivo tanto para fluoxetina quanto para desipramina.

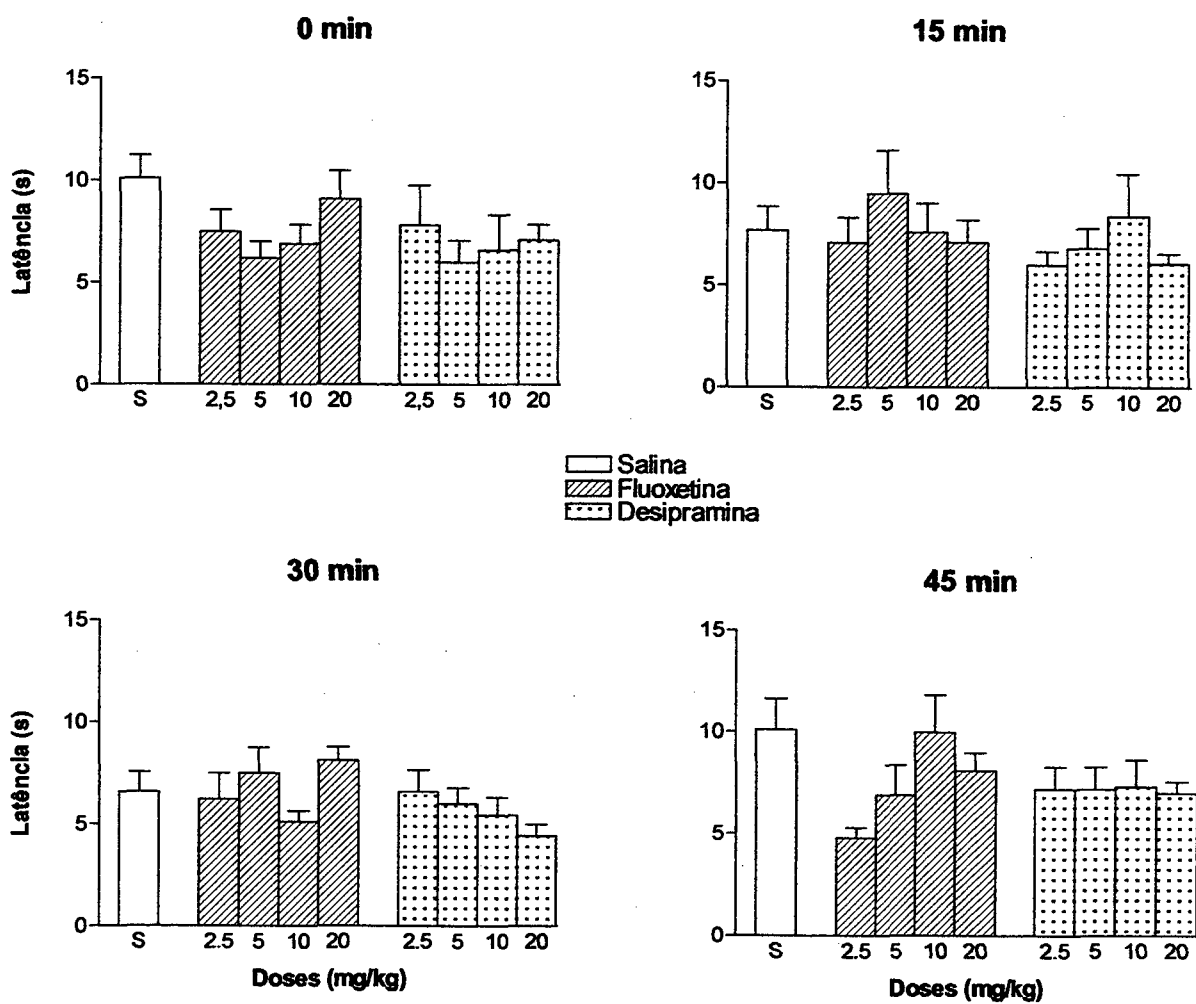


Figura 4: Efeitos da administração aguda intraperitoneal da fluoxetina, da desipramina ou da solução salina (S) em camundongos, no teste do "tail-flick", aos 0; 15; 30 e 45 minutos após os tratamentos. Os resultados são expressos como média \pm e.p.m. de 10 animais por grupo.

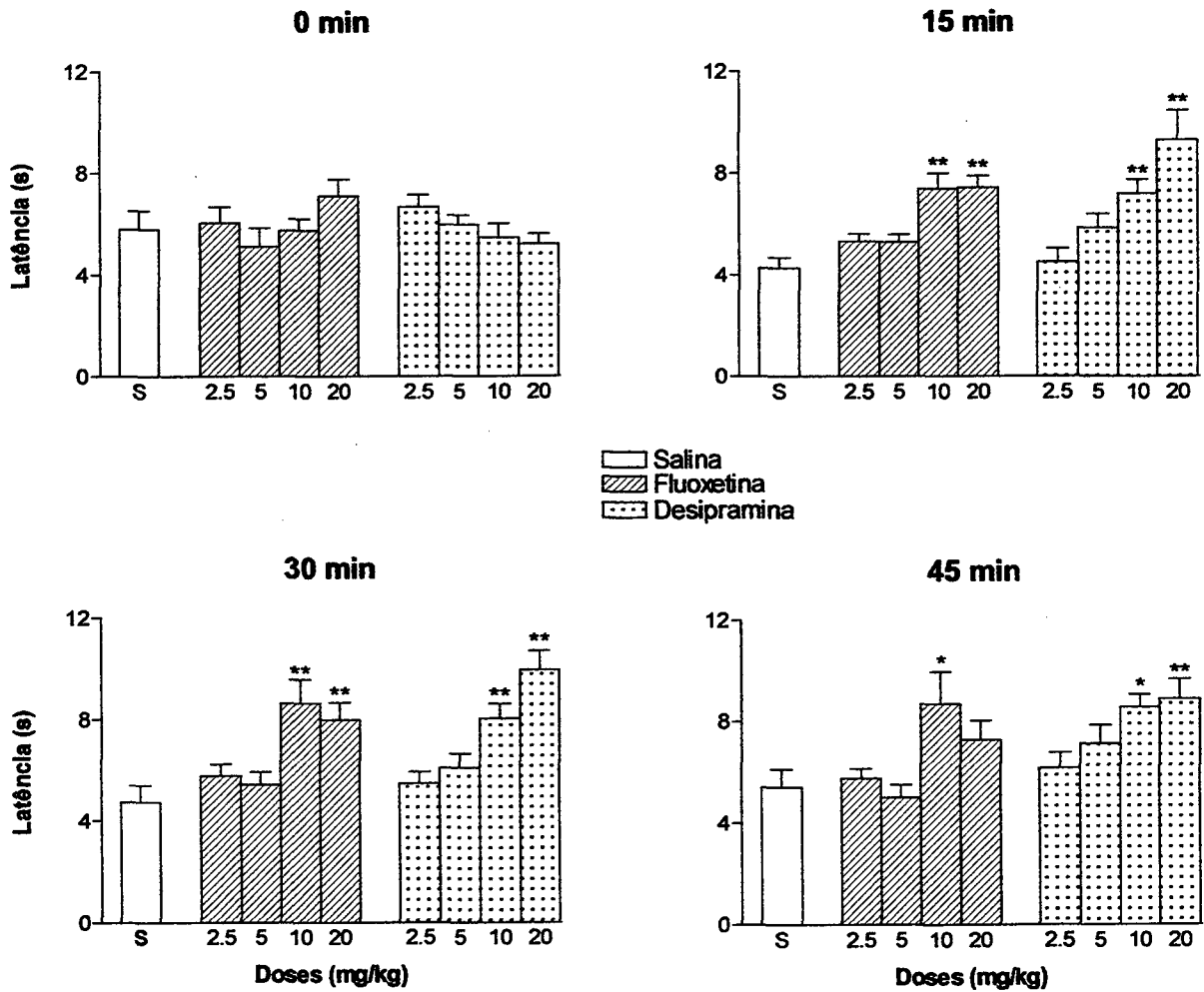


Figura 5: Efeitos da administração aguda intraperitoneal da fluoxetina, da desipramina ou da solução salina (S) em camundongos, no teste da placa quente, aos 0; 15; 30 e 45 minutos após os tratamentos. Os resultados são expressos como média \pm e.p.m. de 10 animais por grupo. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$ em relação ao grupo controle. Teste de Newman-Keuls.

4.6- Respostas antinociceptivas avaliadas com o emprego do teste da formalina

Os efeitos da administração aguda i.p. da fluoxetina ou da desipramina no teste da formalina estão ilustrados na fig. 6. A análise estatística efetuada com a ANOVA de uma via revelou efeito significativo entre os tratamentos: [$F_{8,54} = 6,92$; $p < 0,0001$], na primeira fase, e [$F_{8,54} = 8,30$; $p < 0,0001$], na segunda fase do teste. A análise subsequente, utilizando-se o teste de Newman-Keuls, revelou, com a fluoxetina e a desipramina, em todas as doses testadas, uma redução estatisticamente significativa do tempo de lambida da pata em que se injetou a formalina, e que foi dose-dependente, principalmente para a fluoxetina, na segunda fase do teste ($p < 0,05$). Esses resultados demonstram um acentuado efeito antinociceptivo para os tratamentos realizados, principalmente na segunda fase do teste.

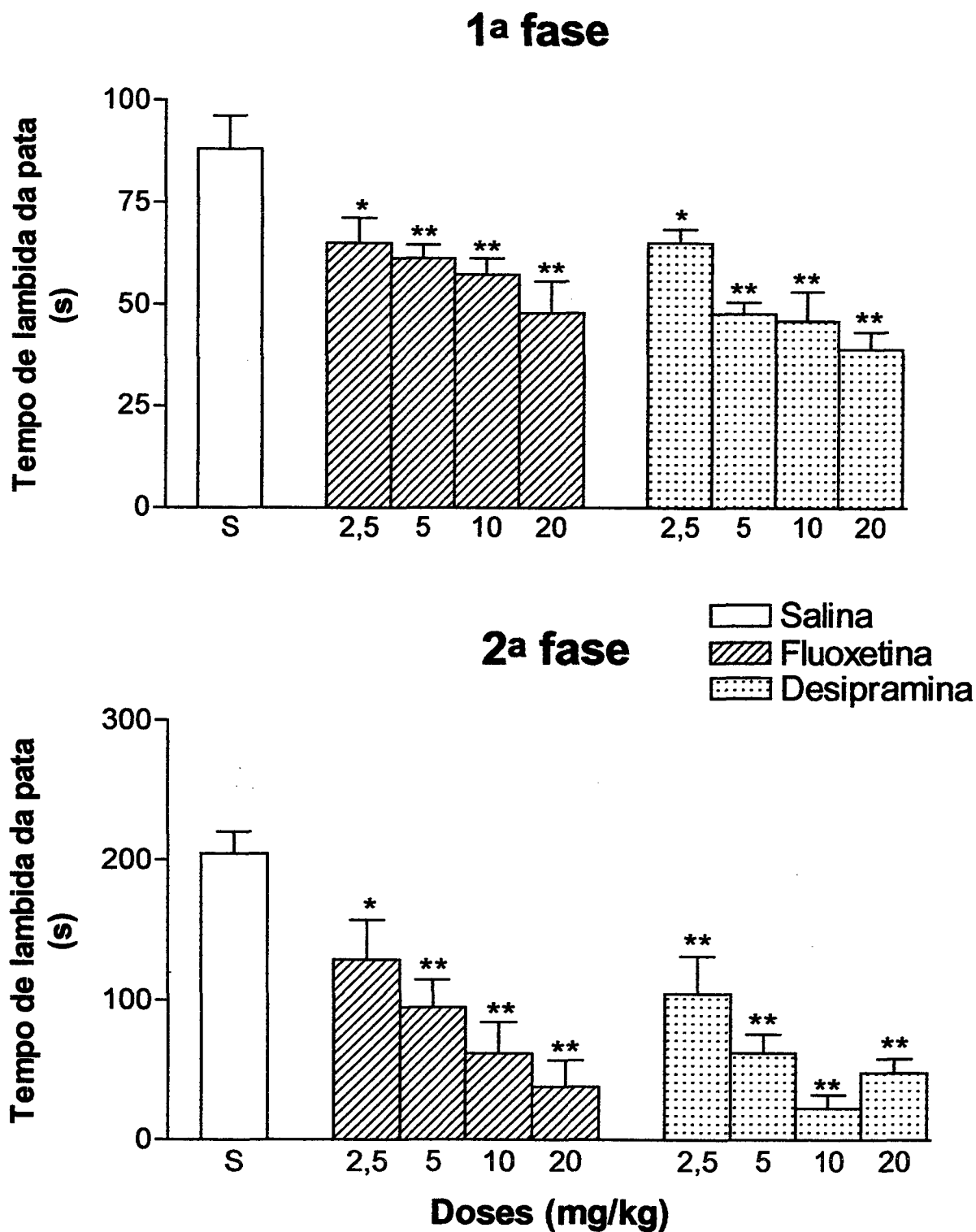


Figura 6: Efeitos antinociceptivos da administração aguda intraperitoneal da fluoxetina, da desipramina ou da solução salina (S) em camundongos, na primeira e segunda fases do teste da formalina. Os resultados são expressos como média \pm e.p.m. de 10 animais por grupo. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$ em relação ao grupo controle. Teste de Newman-Keuls.

4.7- Efeitos da administração i.t. da fluoxetina e da desipramina nas respostas antinociceptivas avaliadas nos testes do “tail-flick” e da formaiina

Os efeitos da administração aguda i.t. da fluoxetina ou da desipramina, nos testes do “tail-flick” e da formalina estão ilustrados, respectivamente, nas figuras 7 e 8. No teste do “tail-flick”, a análise estatística efetuada com a ANOVA de duas vias, com medidas repetidas, não revelou nenhum efeito significativo nas respostas dos camundongos tratados, quando comparados aos respectivos controles [$F_{18,126} = 0,78$; $p = 0,71$]. Entretanto o aumento não significativo do tempo de latência sugere uma tendência à analgesia observado com as doses menores, aos 30 e 45 minutos, principalmente para a fluoxetina.

Para o teste da formalina, a análise estatística efetuada com a ANOVA de uma via não revelou efeito significativo na primeira fase do teste [$F_{8,54} = 1,34$; $p = 0,24$]. Entretanto, na segunda fase, as respostas dos grupos tratados com a desipramina foram diferentes daquelas do respectivo grupo controle [$F_{8,54} = 2,66$; $p = 0,01$]. Posteriormente, os resultados da segunda fase foram analisados com o teste de Newman-Keuls, que revelou uma redução estatisticamente significativa do tempo de lambida da pata do animal tratado com as doses de 7,6 e 15,2 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ($p < 0,05$), demonstrando um efeito antinociceptivo.

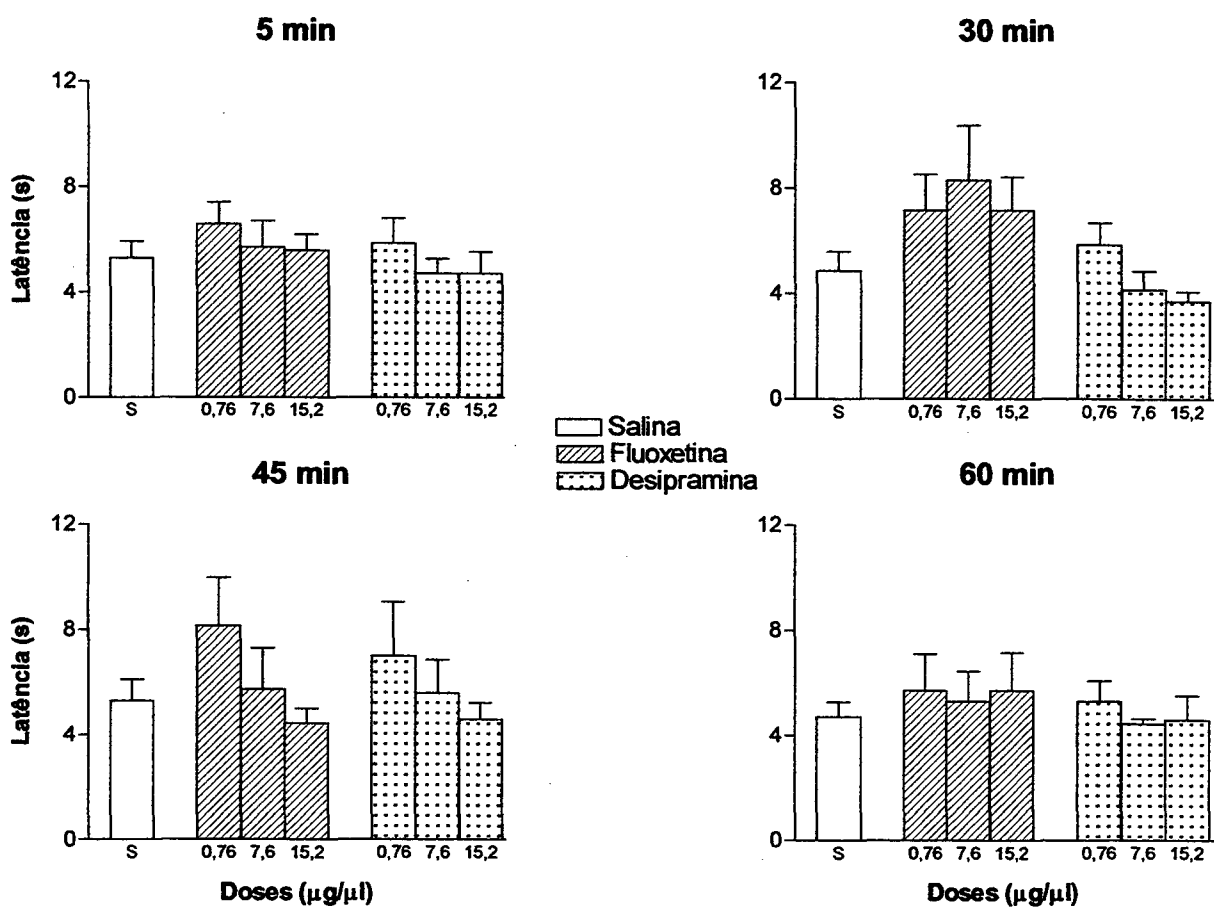


Figura 7: Efeitos da administração aguda intratecal da fluoxetina, da desipramina ou da solução salina (S) em camundongos, no teste do "tail-flick" aos 5; 30; 45 e 60 minutos após os tratamentos. Os resultados são expressos como média \pm e.p.m. de 7 animais por grupo.

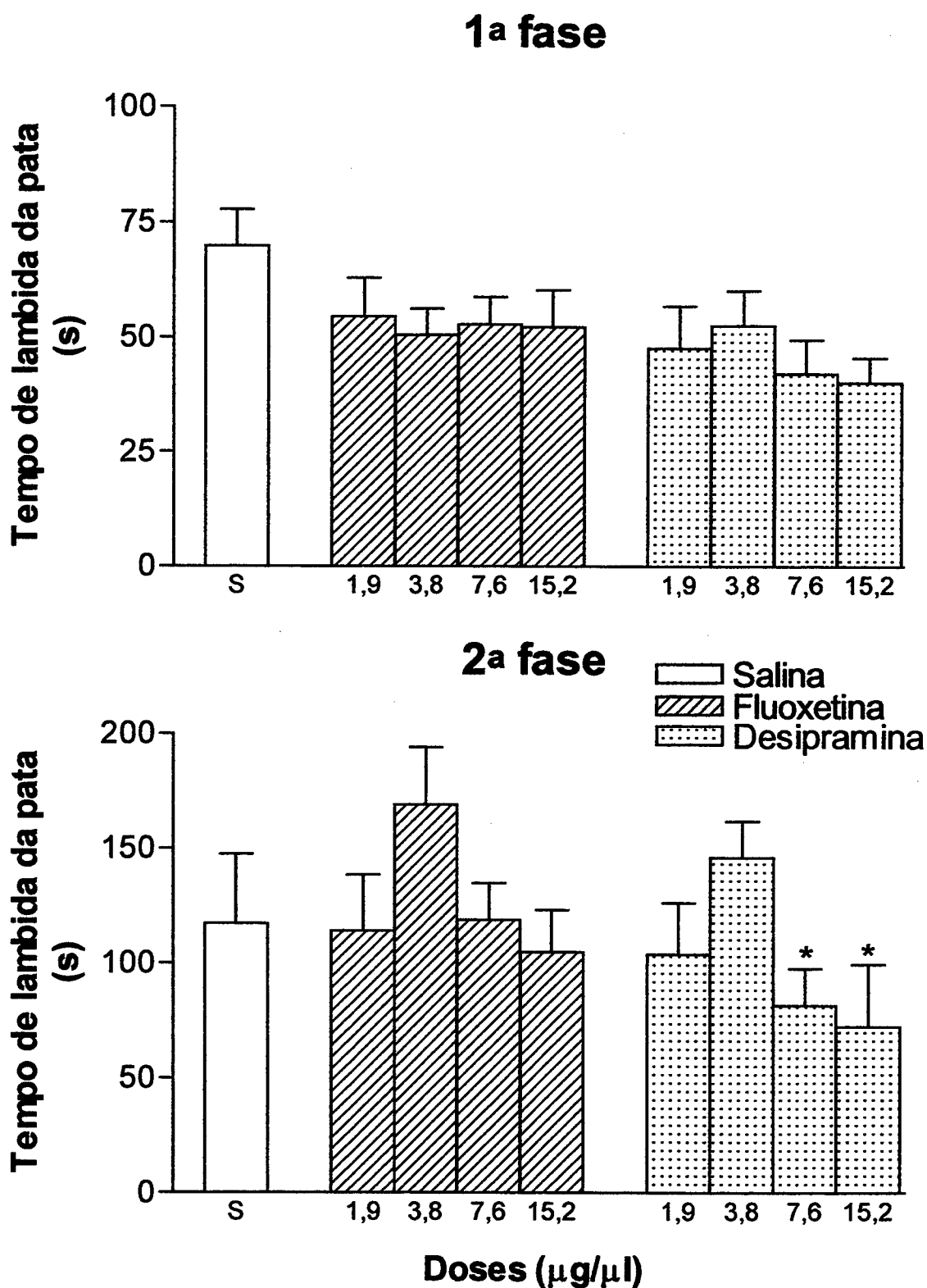


Figura 8: Efeitos da administração aguda intratecal da fluoxetina, da desipramina ou da solução salina (S) em camundongos, na primeira e na segunda fase do teste da formalina. Os resultados são expressos como média \pm e.p.m. de 7 animais por dose. * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle. Teste de newman-Keuls.

4.8- Influência da seleção prévia dos animais no teste da natação forçada nas medidas de nociceção

Após a seleção e separação dos camundongos em grupos que foram classificados como “não-deprimidos”, “intermediários” e “deprimidos” (tabela 1), a análise estatística efetuada com a ANOVA de uma via revelou diferenças significantes entre os grupos [$F= 271,65$, $p < 0,0001$]. A análise subsequente, utilizando-se o teste de Newman-Keuls, mostrou redução e aumento, respectivamente, no tempo de imobilidade dos camundongos dos grupos “não-deprimidos” e “deprimidos”, estatisticamente significantes, quando comparados ao grupo “intermediário”.

A partir dessa avaliação inicial, os animais dos diferentes grupos foram submetidos aos testes da formalina e da placa quente.

Tabela 1- Seleção dos camundongos de acordo com os resultados do tempo de imobilidade no teste da natação forçada. Os resultados são expressos como média \pm e.p.m.

Grupos	Tempo (s)	Nº de camundongos
“Não-deprimidos”	109,4 \pm 4,5 **	70
“Intermediários”	172,8 \pm 0,7	70
“Deprimidos”	200,3 \pm 1,7 **	70
Total	161,0 \pm 3,1	210

** Diferença significativa em relação ao grupo “intermediário”, $p < 0,01$. Teste de Newman-Keuls.

4.8.1- Teste da formalina

Os efeitos da administração aguda i.p. da fluoxetina ou da desipramina na dose de 5 mg/kg, no teste da formalina, em camundongos previamente selecionados estão ilustrados na fig. 9. A análise estatística efetuada com a ANOVA de uma via revelou, na segunda fase do teste, efeito significativo entre os tratamentos, nos grupos de animais considerados “não-deprimidos” [$F_{2,18} = 4,85$; $p = 0,02$] e “deprimidos” [$F_{2,18} = 6,70$; $p = 0,006$]. A análise subsequente, utilizando o teste de Newman-Keuls, revelou, com a fluoxetina e a desipramina, na segunda fase do teste, uma redução estatisticamente significativa do tempo de lambida da pata em que se injetou a formalina, nos grupos “não-deprimidos” e “deprimidos” ($p < 0,05$) quando comparados aos respectivos controles, sugerindo um efeito antinociceptivo dos tratamentos. Além disso foram comparados os controles dos três grupos experimentais e a análise estatística efetuada pela ANOVA de uma via revelou, na segunda fase do teste, uma diferença significativa entre eles [$F_{2,18} = 9,75$; $p = 0,001$]. A análise subsequente, utilizando o teste de Newman-Keuls revelou um aumento estatisticamente significativo do tempo de lambida da pata dos animais controles nos grupos “não-deprimidos” e “deprimidos” ($p < 0,01$) quando comparados aos controles do grupo “intermediário”.

4.8.2- Teste da placa quente

Os efeitos da administração aguda i.p. da fluoxetina ou da desipramina, no teste da placa quente, em camundongos previamente selecionados, estão ilustrados nas figuras 10; 11 e 12. A análise estatística efetuada com a ANOVA de duas vias

com medidas repetidas revelou um efeito significativo entre os tratamentos [$F_{18,126} = 1,40$; $p < 0,14$]. A análise posterior, utilizando o teste de Newman-Keuls, revelou com a fluoxetina e com a desipramina, nas doses de 10 e 20 mg/kg, um aumento estatisticamente significativo do tempo de latência, aos 30 min, no grupo de animais denominados de “deprimidos” ($p < 0,05$), demonstrando um efeito antinociceptivo para os tratamentos. Neste teste os animais “deprimidos” pareceram mais susceptíveis aos efeitos analgésicos dos antidepressivos.

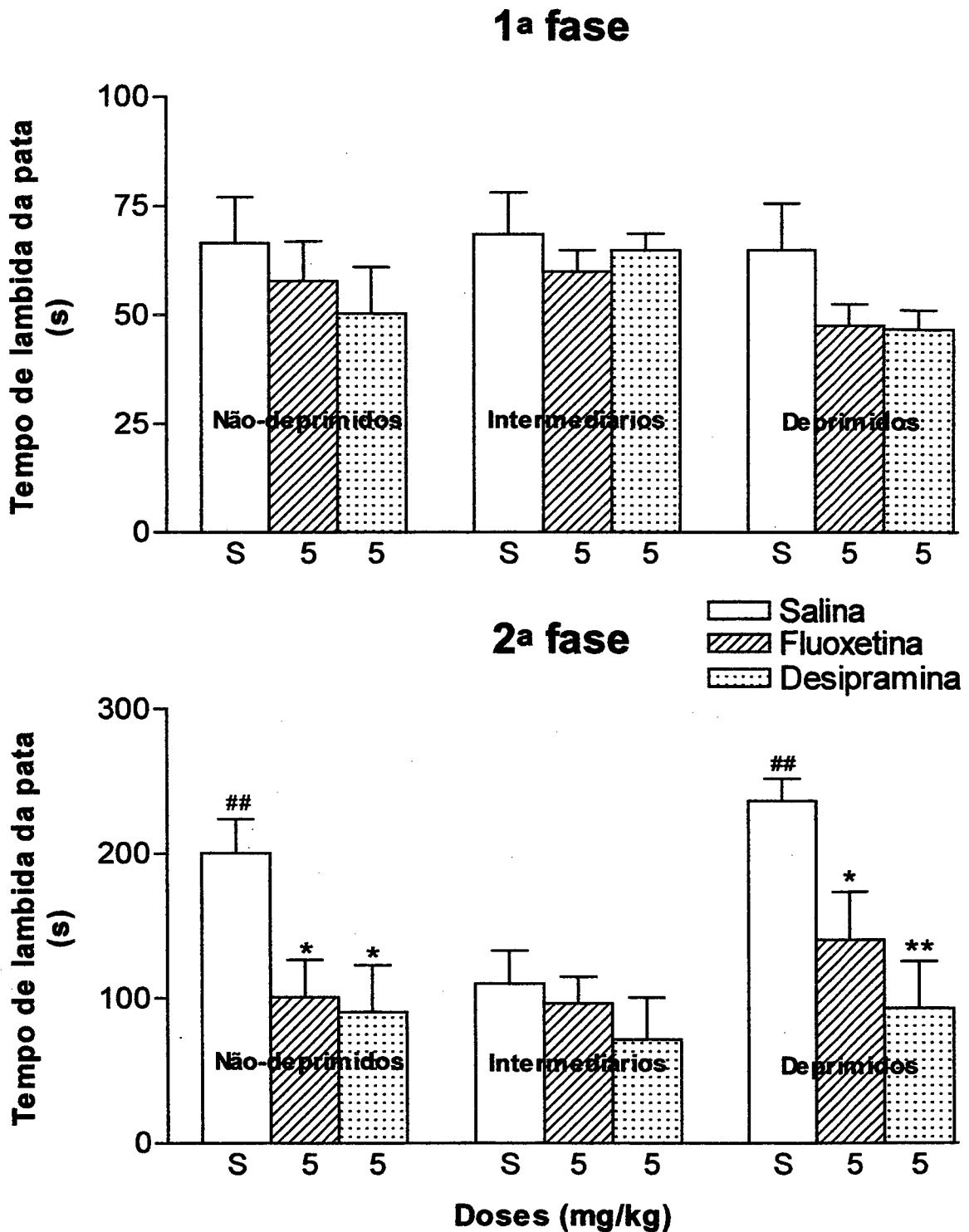


Figura 9: Efeitos da administração aguda intraperitoneal da fluoxetina, da desipramina ou da solução salina (S) em camundongos selecionados no teste da natação forçada e avaliados no teste da formalina, 15 minutos após os tratamentos. Os resultados são expressos como média \pm e.p.m. de 7 animais por grupo. ** $p < 0,01$ e * $< 0,05$ em relação ao respectivo grupo controle e ## $p < 0,01$ em relação do controle do grupo intermediário. Teste de Newman-Keuls.

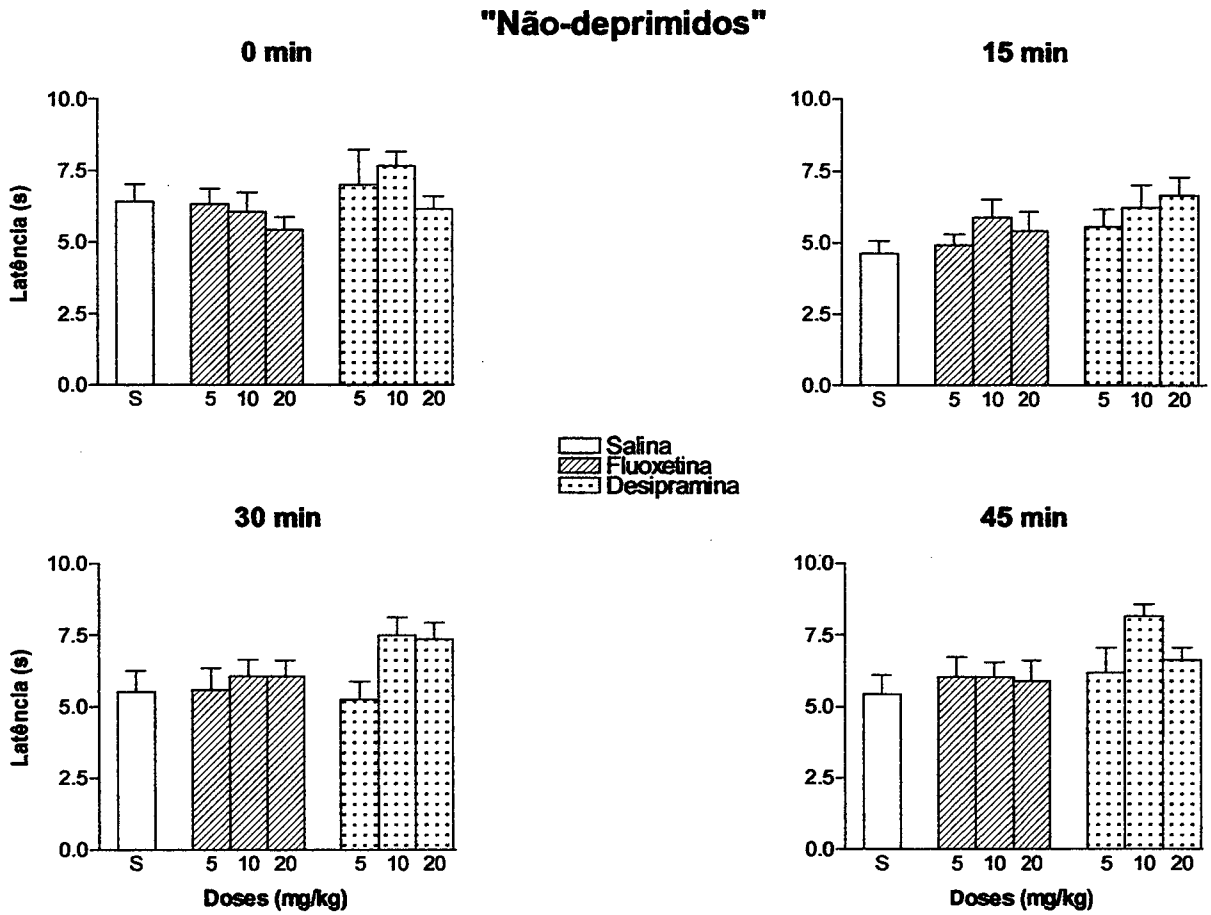


Figura 10: Efeitos da administração aguda intraperitoneal da fluoxetina, da desipramina ou da solução salina (S) em camundongos, selecionados no teste da natação forçada e avaliados no teste da placa quente. Os resultados são expressos como média \pm e.p.m. de 7 animais por grupo.

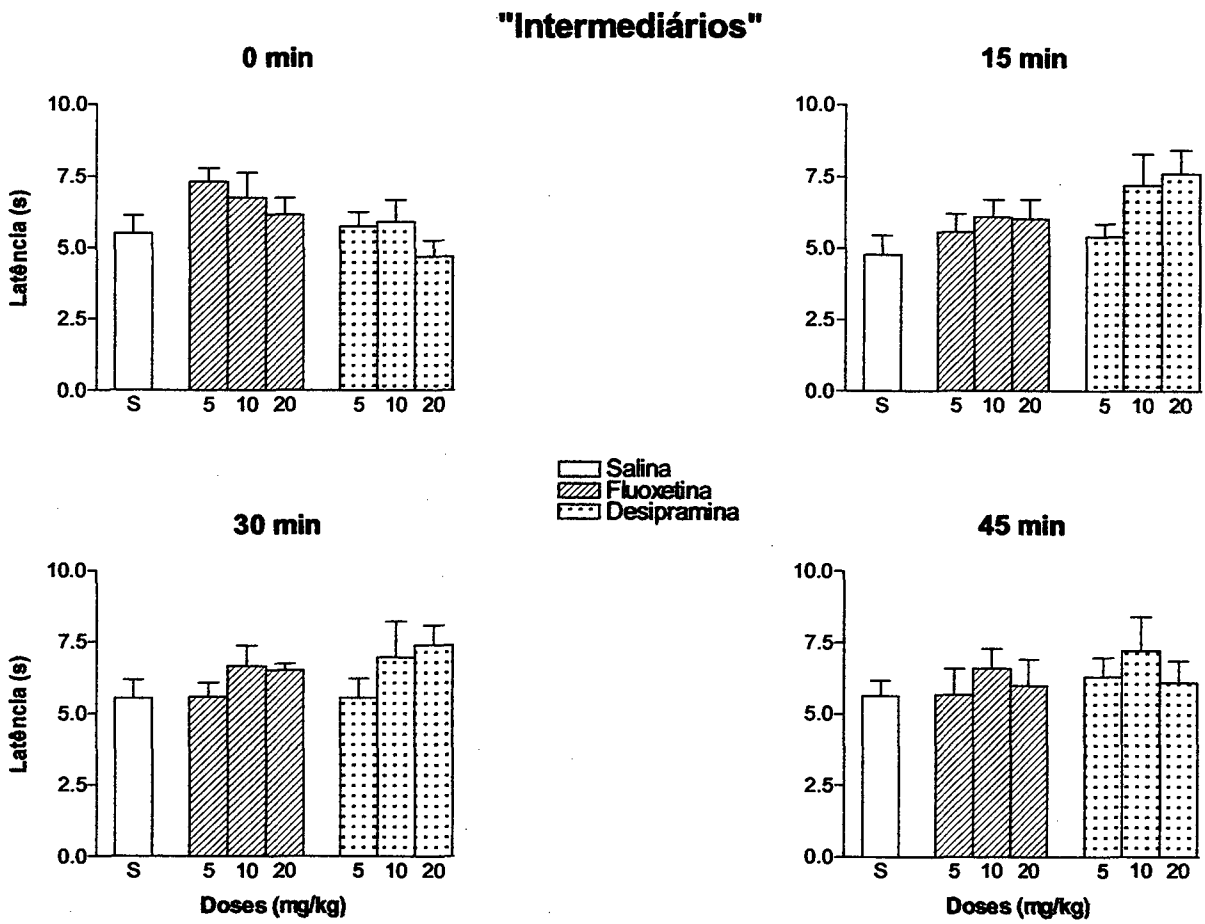


Figura 11: Efeitos da administração aguda intraperitoneal da fluoxetina, da desipramina ou da solução salina (S) em camundongos, selecionados no teste da natação forçada e avaliados no teste da placa quente. Os resultados são expressos como média \pm e.p.m. de 7 animais por grupo.

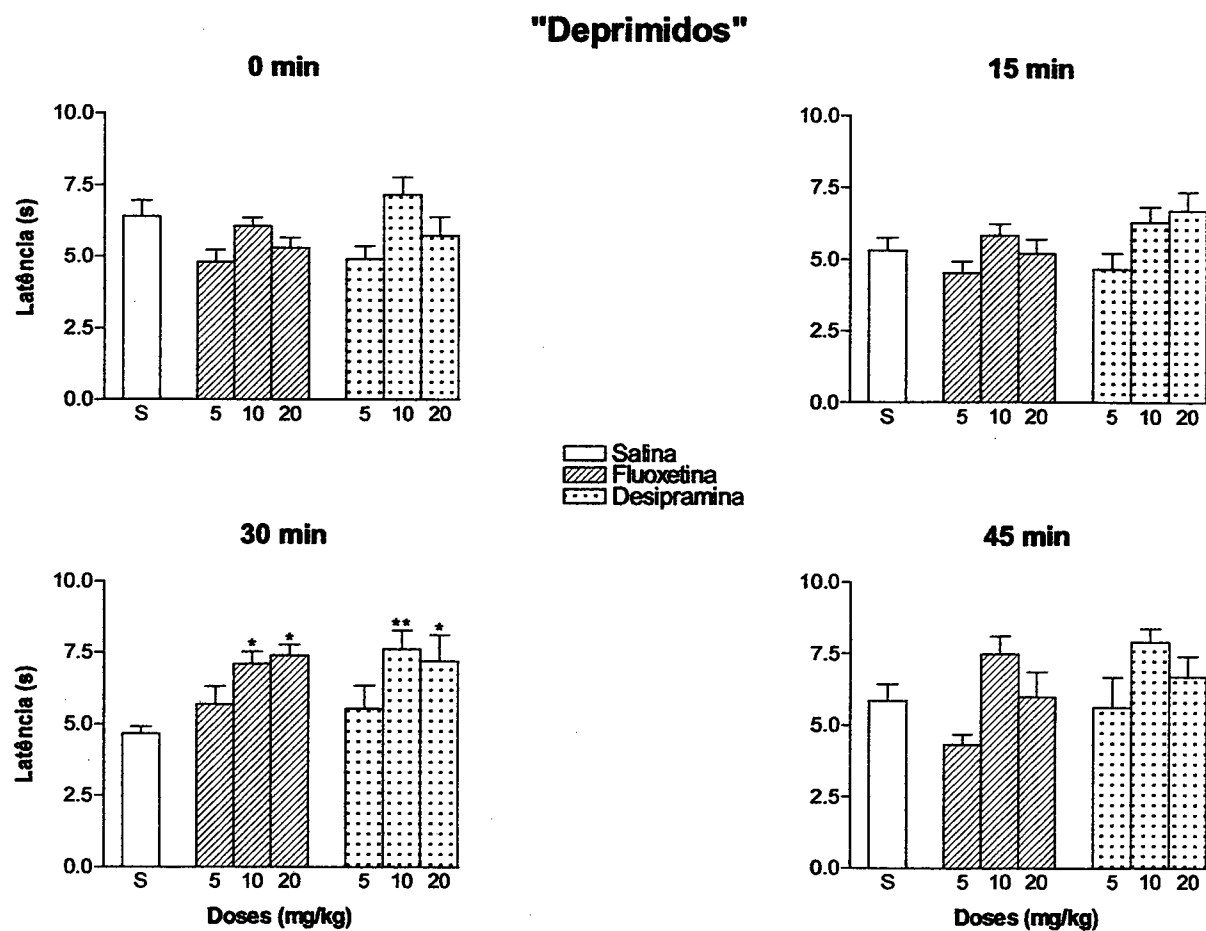


Figura 12: Efeitos da administração aguda intraperitoneal da fluoxetina, da desipramina ou da solução salina (S) em camundongos, seleccionados no teste da natação forçada e avaliados no teste da placa quente. Os resultados são expressos como média \pm e.p.m. de 7 animais por grupo. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$ em relação ao grupo controle. Teste de Newman-Keuls.

5- DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo demonstraram que o tratamento agudo com os antidepressivos fluoxetina e desipramina, inibidores de recaptção da serotonina e da noradrenalina, respectivamente, administrados por via intraperitoneal, induziram efeitos analgésicos nos modelos da placa quente e da formalina, dissociados dos efeitos comportamentais avaliados nos testes da natação forçada e do labirinto em cruz elevado. Além disso, a desipramina administrada por via intratecal induziu antinocicepção na segunda fase do teste da formalina, sugerindo o envolvimento de sítios medulares nas respostas analgésicas dos antidepressivos. Outro aspecto importante e relevante foi a analgesia significativa obtida nos testes da formalina e da placa quente, quando foram utilizados grupos de camundongos selecionados pelo teste da natação forçada e classificados segundo seu nível de imobilidade basal.

Estes achados confirmam e estendem outros estudos que demonstraram que a administração aguda de antidepressivos causou efeitos antinociceptivos em diferentes modelos experimentais de dor aguda, tanto em camundongos quanto em ratos (ESCHALIER et alli, 1981; RIGAL et alli, 1983; ANSUATEGUI et alli, 1989; GOLDSTEIN et alli, 1990; ARDID et alli, 1992; FIALIP et alli, 1992).

Também estão parcialmente de acordo com aqueles que demonstraram não estar o efeito analgésico de antidepressivos como a amitriptilina relacionado com seu efeito antidepressivo (ACTON et alli, 1992; CASAS et alli, 1995). Além disso fluoxetina e a desipramina, que atuam em sistemas neurotransmissores distintos, induziram respostas muito semelhantes quando foram comparadas entre si, em

cada teste realizado. Entretanto, nos testes nociceptivos, as respostas analgésicas parecem ser influenciadas pelo tipo de estímulo empregado para induzir dor e também pelo nível basal de emocionalidade dos grupos de animais estudados.

A seguir serão detalhadas, as possíveis implicações dos resultados obtidos, levando em consideração a sequência do delineamento experimental efetuado.

Dados da literatura demonstraram que os antidepressivos podem induzir tanto sedação quanto estimulação. Esse perfil farmacológico bifásico é dependente da dose utilizada (BOURIN et alli, 1996). Observa-se, além disso, que o efeito sedativo induzido pelos antidepressivos pode estar envolvido com seus efeitos analgésicos (CASAS et alli, 1995), o que demonstra a importância de se descartarem as doses que causem incoordenação motora, quando se avalia a antinocicepção induzida por antidepressivos.

A fluoxetina e a desipramina, na dose de 40 mg/kg, induziram um acentuado efeito sedativo nos camundongos testados, quando avaliados no teste de atividade locomotora. Em virtude disso, esta dose foi descartada dos demais testes comportamentais, evitando-se, dessa maneira, interpretações errôneas dos resultados obtidos. Selecionadas as doses, os efeitos antidepressivos e ansiolíticos ou ansiogênicos da fluoxetina e da desipramina foram avaliados, respectivamente, com o uso dos testes da natação forçada e do labirinto em cruz elevado.

Admite-se que o tempo de imobilidade dos camundongos no teste da natação forçada constitui uma resposta comportamental relativamente específica e geralmente reduzida, de maneira significativa, pela maioria dos antidepressivos, incluindo os classificados como tricíclicos, atípicos e, ainda, os inibidores da monoaminoxidase (PORSOLT et alli, 1977; FILE e TUCKER, 1986; BOURIN et alli,

1991). Entretanto, a constatação de que tanto a fluoxetina quanto a desipramina foram ineficazes em reduzir o tempo de imobilidade pode estar relacionada com a seleção das doses utilizadas e/ou com o esquema de administração, como por exemplo, administração aguda ou crônica e também uma ou mais administrações diárias. Na verdade, a redução do tempo de imobilidade parece ser obtido quando os compostos são utilizados em doses altas (PORSOLT et alli, 1979), que podem reduzir a atividade locomotora dos animais (PORSOLT et alli, 1978).

Estudos anteriores demonstraram que a fluoxetina administrada em ratos pode ser inefetiva (PAUL et alli, 1990; MAJ et alli, 1992) ou apresentar um perfil dose-resposta curioso no teste da natação forçada, onde doses consideradas baixas (3-10 mg/kg) aumentam a duração da imobilidade (GORKA et alli, 1979); entretanto doses consideradas altas (20-80 mg/kg) induzem uma diminuição linear no tempo de imobilidade, chegando a uma redução de até 50% deste tempo quando utilizada na dose máxima (GORKA et alli, 1979; PORSOLT et alli, 1979). Em nossos experimentos foram utilizadas doses que variaram entre 2,5 e 20 mg/kg, não sendo observados aumento ou redução do tempo de imobilidade dos camundongos tratados quando comparados com os seus respectivos controles. Além disso, algumas doses de certos tipos de antidepressivos só produzem efeitos anti-imobilidade significantes em camundongos quando combinadas com outras drogas, como, por exemplo, a clonidina (MALINGE et alli, 1988; BOURIN et alli, 1991) e o lítio (NIXON et alli, 1994). Alguns estudos anteriores realizados com roedores (JALFRE e HAEFELY, 1971) demonstraram que os antidepressivos, tanto no teste da natação forçada quanto no uso clínico, possuem efeitos superiores àqueles obtidos com uma única dose, quando administrados em doses múltiplas (tratamento

subcrônico). PORSOLT e colaboradores (1978) demonstraram que a imipramina, em dose única, reduziu o tempo de imobilidade dos ratos testados, demonstrando que os antidepressivos podem ser injetados de forma aguda neste modelo experimental, entretanto, a redução da imobilidade parece ser ainda mais acentuada quando os antidepressivos são administrados de forma crônica, por várias semanas (OVERSTREET, 1993).

Segundo DELGADO e colaboradores (1991, 1993), geralmente, a depleção de precursores de serotonina leva à recidiva clínica em pacientes deprimidos que estejam sendo tratados com inibidores seletivos de recaptção da serotonina. Esta depleção, todavia, não determina nenhuma alteração naqueles pacientes tratados com inibidores seletivos de recaptção da noradrenalina. Esses resultados sugerem que os sistemas neurotransmissores serotoninérgico e noradrenérgico produzem contribuições distintas para a eficácia terapêutica dos antidepressivos. Os resultados que obtivemos no teste da natação forçada, utilizando camundongos, demonstraram que tanto a fluoxetina quanto a desipramina apresentaram um perfil de resposta muito semelhante em todas as doses testadas, sugerindo que tanto os antidepressivos que inibem a recaptção da serotonina quanto os que inibem a recaptção da noradrenalina induzem efeitos através de um mecanismo de ação comum a ambos.

É evidente que modelos animais de depressão como a natação forçada representam uma supersimplificação da alta complexidade da depressão em humanos, entretanto, os resultados obtidos por DUNCAN e colaboradores (1985) sugerem que os animais, assim como os seres humanos, possuem características individuais e que a utilização de animais selecionados, como, por exemplo,

“deprimidos” e “não-deprimidos”, pode proporcionar a obtenção de informações mais úteis para o entendimento dos mecanismos de ação dos antidepressivos na analgesia. A existência de diferenças individuais é apontada na literatura, geralmente relacionando tais diferenças à resposta ao uso de drogas e levando à geração de linhagens geneticamente selecionadas (TERUEL et alli, 1991; STEWART et alli, 1993; ZHOU et alli, 1994; STEWART et alli, 1996; MÖLLER et alli, 1997).

Além disso, os resultados obtidos em trabalhos anteriores, utilizando o labirinto em cruz elevado, demonstraram que existe uma ampla variação dos níveis de ansiedade em uma população de ratos Wistar. Tal constatação pode sugerir uma possível heterogeneidade genética para respostas de ansiedade (HARRO et alli, 1990; ROGÉRIO e TAKAHASHI, 1992; SPANAGEL, 1995). Tanto a depressão como a ansiedade parecem aumentar a sensibilidade à nocicepção, justificando a importância de se utilizarem animais selecionados quando da avaliação das propriedades analgésicas de drogas, como os antidepressivos.

Com base nessas informações, o teste da natação forçada foi utilizado para selecionar os camundongos em grupos que foram classificados como “não-deprimidos”, “intermediários” e “deprimidos”. É importante lembrar que estes animais também poderiam ser chamados de mais estressados ou menos estressados, por exemplo. Os animais “não-deprimidos” apresentam um tempo de imobilidade relativamente baixo, ocorrendo o contrário com aqueles chamados de “deprimidos”. Como não foram encontrados parâmetros previamente estabelecidos para se fazer esta classificação, tomaram-se por base os limites de confiança de 95%. Os resultados obtidos com essa seleção demonstraram claramente que os

camundongos apresentam grande variabilidade no tempo de imobilidade no teste da natação forçada (BORSINI e MELI, 1988). A análise estatística realizada confirmou esta observação, pois foram encontradas diferenças significantes ao se compararem os animais do grupo "intermediário" com os animais dos grupos "não-deprimidos" e "deprimidos". Tais resultados assemelham-se aos obtidos em estudos desenvolvidos neste laboratório que demonstraram diferenças significantes entre os grupos de ratos classificados como "não-ansiosos", "intermediários" e "ansiosos" (BLATT, 1997).

Como mencionado anteriormente, as situações de ansiedade também estão relacionadas com o limiar nociceptivo, e os efeitos das drogas antidepressivas sobre o comportamento dos animais no labirinto em cruz elevado são contraditórios. Vários estudos demonstraram que tanto efeitos ansiolíticos quanto ansiogênicos são encontrados. Sugere-se que as razões de tais variações e, algumas vezes, de respostas paradoxais podem ser, pelo menos parcialmente, variações nas doses utilizadas ou no esquema de administração da droga (GRIEBEL et alli, 1997). Uma diferença importante entre o tratamento clínico das desordens de ansiedade e os estudos realizados com animais diz respeito à duração do tratamento, por exemplo, a tianepitina, um antidepressivo tricíclico, produz efeitos ansiolíticos em ratos no labirinto em cruz elevado, entretanto, após cinco dias de tratamento, o efeito desaparece (RODGERS et alli, 1997).

No presente estudo, a fluoxetina e a desipramina não foram capazes de alterar o comportamento dos camundongos testados no labirinto em cruz elevado, pois nenhuma diferença significativa foi obtida quando se comparou os grupos tratados e os respectivos controles quanto aos parâmetros: percentual do número de entradas

nos braços abertos e percentual de tempo de permanência nos braços abertos do labirinto.

Tem sido sugerido que os efeitos ansiolíticos dos antidepressivos são observados em vários modelos animais somente após o tratamento crônico (BODNOFF et alli 1988). As discrepâncias observadas nos efeitos dos antidepressivos também podem ser derivadas das doses utilizadas. A maprotilina, um inibidor seletivo de recaptção da noradrenalina, possui atividade ansiolítica no modelo do labirinto em cruz elevado quando testada em doses baixas (0,5 mg/kg), porém a fluvoxamina, inibidor seletivo de recaptção da serotonina, nas doses de 2 a 10 mg/kg, não apresentou nenhum efeito. Estes resultados sugerem que a obtenção de efeito ansiolítico é dependente não só do tipo de antidepressivo, mas também da dose utilizada. Fica claro, portanto, que muitas são as variáveis que podem influenciar os níveis basais de ansiedade ou as respostas das drogas no teste do labirinto em cruz elevado (RODGERS e COLE, 1994; RODGERS et alli, 1997).

Em resumo, as alterações comportamentais resultantes do uso de antidepressivos parecem ser dependentes da droga e da dose utilizada, como também do esquema de administração adotado. Os resultados do presente estudo sugerem que a fluoxetina e a desipramina não alteram as respostas comportamentais avaliadas com o uso dos testes da natação forçada e do labirinto em cruz elevado, quando administradas agudamente, em doses não sedativas. Este fato se torna relevante quando se utilizam os antidepressivos com finalidade analgésica, pois é possível dissociar tal efeito de outras alterações do comportamento.

As drogas antidepressivas induzem efeitos analgésicos em vários modelos de nocicepção. Tal resultado parece ser dependente dos níveis de serotonina e de noradrenalina livres no sistema nervoso central (SIERRALTA et alli, 1995).

Como mencionado, neste estudo, os efeitos analgésicos da fluoxetina e da desipramina foram obtidos com doses que não afetaram outros parâmetros comportamentais. Além disso, estes dados coincidem com aqueles de outros estudos demonstrando que o tipo de dor influencia fortemente o perfil farmacológico envolvido na sua modulação (OGREN e HOLM, 1980; GIBERT-RAHOLA et alli, 1991). Existem diferenças importantes no processamento e na modulação da dor causada por estímulos de diferentes modalidades (ACTON et alli, 1992), que podem influenciar as respostas dos animais quando estes são submetidos ao tratamento com antidepressivos (MICÓ et alli, 1992). Em relação às propriedades analgésicas dos antidepressivos, o percentual de resultados positivos obtidos de acordo com o estímulo empregado é o seguinte: químico > mecânico > elétrico > térmico (ESCHALIER et alli, 1992). Portanto, a eficácia dos antidepressivos no tratamento da dor crônica e possivelmente também na de caráter agudo depende basicamente da sua etiologia.

Os nossos resultados estão de acordo com esta escala, pois, no teste do " tail-flick", tanto a fluoxetina quanto a desipramina administradas por vias i.p. ou i.t. foram ineficazes em induzir analgesia, enquanto no teste da placa quente ambos os antidepressivos administrados por via i.p. causaram um aumento estatisticamente significativo, porém modesto, nas latências do tempo de reação. Embora utilizando o mesmo tipo de estímulo para induzir dor, a diferença entre os resultados obtidos

nos testes do “tail-flick” e da placa quente, pode ser uma função da própria característica do teste empregado.

O efeito obtido para uma estimulação nociva com o modelo do “tail-flick” é primariamente um reflexo medular, e este efeito não envolve um alto grau de coordenação motora-sensorial (RAMABADRAN e BANSINATH, 1986). Um grande número de estudos sugerem que vias serotoninérgicas rafe-espinhais descendentes inibem tonicamente o reflexo nociceptivo neste teste (EIDE e TJØLSEN, 1988). Desta maneira, o animal mantém a sua cauda mais tempo em contato com o feixe luminoso do aparelho.

Sendo a cauda a mais importante estrutura termorreguladora periférica, tanto do rato quanto do camundongo (RAND et alii, 1965; DAWSON et alii, 1979; BERRY et alii, 1984), o teste repetido em um curto intervalo de tempo entre uma e outra exposição pode aumentar a temperatura local e, portanto, diminuir a latência no teste de avaliação pelo “tail-flick” (RAMABADRAN e BANSINATH, 1986).

Entretanto, após administrar a fluoxetina e a desipramina, i.p., nas doses de 2,5; 5; 10 e 20 mg/kg, a cauda de cada camundongo foi submetida a apenas uma exposição, e os resultados obtidos não foram diferentes daqueles em que os animais foram expostos repetidas vezes, sugerindo que possíveis modificações na temperatura da pele da cauda parecem não influenciar as respostas para o “tail-flick” (resultados não mostrados).

Todavia, trabalhos anteriores utilizando ratos não detectaram alterações na latência quando a desipramina foi administrada agudamente, e as mudanças na temperatura da pele da cauda induzidas pela droga foram desconsideradas (LUND et alii, 1989).

Os resultados dos experimentos do trabalho aqui relatado estão, ainda de acordo com os resultados obtidos por LUND e colaboradores (1989) e OSSIPOV e colaboradores (1982) que demonstraram que a administração sistêmica da desipramina em doses que variaram de 2 a 25 mg/kg não apresentaram nenhum efeito antinociceptivo no teste do "tail-flick", e com aqueles obtidos por CASAS e colaboradores (1995), onde a amitriptilina induziu efeito antinociceptivo em camundongos somente com doses de 20 e 40 mg/kg. Desta forma parece que os antidepressivos só induzem analgesia nesse teste quando administrados em doses elevadas, as quais podem induzir sedação no animal e distorcer o resultado obtido.

Além disso, deve-se considerar que as mudanças na temperatura corporal e na nocicepção também são encontradas após stress crônico, apreensão e exposição do animal a um novo ambiente, podendo levar a um quadro de hiperalgesia e hipertermia induzida pela contenção (LUND et alli, 1989), como foi observado com as doses menores de fluoxetina (2,5 e 5 mg/kg), que pareceu causar hiperalgesia quando a avaliação foi feita 45 minutos após a administração da droga.

Os resultados obtidos sugerem, portanto, que o "tail-flick" não é um bom modelo para investigar as propriedades analgésicas de classes de antidepressivos como a fluoxetina e a desipramina.

Por outro lado, o teste da placa quente integra respostas mais complexas do animal experimental, refletindo processos que estão ocorrendo em níveis mais elevados do sistema nervoso central (RAMABADRAN e BANSINATH, 1986). Neste teste o componente estressor representado pela contenção está ausente, pois o animal pode se locomover dentro do aparato utilizado.

Os resultados obtidos em nossos experimentos, utilizando camundongos normais, demonstraram que ambos os antidepressivos, quando administrados por via i.p., causaram um aumento modesto, mas estatisticamente significativo, nas latências dos tempos de reação. Estes resultados estão de acordo com dados da literatura que demonstraram que inibidores seletivos da recaptação da 5-HT ou da NOR possuem efeitos analgésicos, quando avaliados no teste da placa quente (FASMER et alli, 1989; LUND et alli, 1989).

Quando se avaliou a influência dos níveis basais de responsividade em camundongos selecionados no teste da natação forçada, a fluoxetina e a desipramina induziram analgesia significativa, somente no grupo de animais selecionados como “deprimidos”, sugerindo que no teste da placa quente, principalmente, as características individuais dos animais podem influenciar tanto as reações nociceptivas como a susceptibilidade às propriedades analgésicas dos antidepressivos.

Portanto, neste estudo, os resultados obtidos com a utilização de testes térmicos sugerem que os antidepressivos tricíclicos e atípicos possuem propriedades antinociceptivas que são variáveis, pouco pronunciadas e que parecem ser dependentes das condições de realização do teste, da dose e da via de administração, do tipo de teste empregado, além das espécies animais utilizadas (SAWYNOK e REID, 1992).

Outro aspecto interessante e relevante que precisa ser considerado é a correlação existente entre a resposta analgésica obtida nos experimentos com testes químicos e aquela obtida na prática clínica quando se utilizam antidepressivos (CASAS et alli, 1995).

O teste da formalina é um modelo químico que envolve componentes centrais e periféricos, relevantes para o estudo da dor de longa duração (SUGIMOTO et alli, 1986). A dor é relativamente contínua por um período que varia de 1,5 a 2 horas, o que pode ser uma vantagem em certas situações experimentais (DUBUISSON e DENNIS, 1977). Neste teste, a dor e a analgesia podem ser observadas no contexto do comportamento do animal.

As duas fases do teste da formaiina são mediadas por diferentes agentes químicos. A primeira fase (aguda) é devida a um efeito direto da formalina sobre os nociceptores, sendo atribuída a dor de origem neurogênica. Este dado indica, experimentalmente, que a formalina promove a ativação de fibras C, e não de fibras aferentes A δ (HEAPY et alli, 1987). A segunda fase (tônica) é atribuída a dor de origem inflamatória (VACCARINO et alli, 1992) e sensibilização central na medula lombossacral (ELLIOTT et alli, 1995), entretanto, estas duas fases parecem depender uma da outra. Resultados experimentais têm indicado que a SP e a BK participam na primeira fase desta resposta, enquanto a HIS, a 5-HT, as PGs e a BK estão envolvidas na segunda fase (SHIBATA et alli, 1989). Sabe-se que a segunda fase do teste da formalina é acompanhada por edema de pata devido à liberação de mediadores inflamatórios (HUNSKAAR et alli 1985; HUNSKAAR e HOLE, 1987; MURRAY et alli 1988).

Comparando-se a analgesia induzida pela fluoxetina e pela desipramina, em testes térmicos e químicos, os nossos resultados mostraram que os efeitos analgésicos destes antidepressivos, administrados por via i.p. sobre camundongos normais, foram mais evidentes e significantes no teste químico da formaiina, confirmando dados da literatura que sugerem que os antidepressivos são mais

efetivos na nocicepção induzida por agentes químicos (ARDID et alli, 1992). Estes antidepressivos induziram analgesia significativa em ambas as fases do teste da formalina, demonstrando que são efetivos em bloquear a transmissão nociceptiva, tanto de origem neurogênica quanto inflamatória. Utilizando a via i.t. em camundongos normais, a desipramina induziu uma resposta antinociceptiva significativa somente na segunda fase do teste, sugerindo o envolvimento de sítios medulares na analgesia induzida pelos antidepressivos.

Curiosamente, utilizando camundongos previamente selecionados no teste da natação forçada, o efeito analgésico da fluoxetina e da desipramina, nos grupos de animais “não-deprimidos” e “deprimidos” só foi significativa na segunda fase do teste da formalina. Além disso, é importante ressaltar que a diferença estatística significativa entre os animais controles dos três grupos sugere que existem diferenças na sensibilidade nociceptiva, que são influenciadas pelo nível de emocionalidade dos animais.

Os trabalhos de ACTON e colaboradores (1992) demonstraram que o efeito analgésico da amitriptilina, no teste da formalina, deveu-se a uma ação antiinflamatória da droga. Nesse sentido, a amitriptilina e outros antidepressivos tricíclicos têm se mostrado efetivos no tratamento das condições dolorosas associadas com processos inflamatórios tais como a fibromialgia (CASAS et alli, 1995).

Tem sido demonstrado que diferentes drogas psicotrópicas inibem a síntese de prostaglandinas *in vitro*. Além disso, as monoaminas cerebrais podem estar envolvidas na atividade anti-inflamatória dos antidepressivos tricíclicos (BIANCHI et alli, 1995).

É possível que a nocicepção existente na pata inflamada pela injeção de formalina possa ativar um mecanismo de analgesia medular-supramedular-medular. Esta inibição descendente, distante do sitio de teste, ativada por um estímulo nocivo, envolve a liberação de monoaminas em nível medular (EISENACH e GEBHART, 1995). Dessa forma, antidepressivos como a fluoxetina e a desipramina podem ser efetivos no controle da dor inflamatória, em camundongos, pela inibição da recaptação da serotonina e da noradrenaiina.

Os resultados obtidos em todos os experimentos realizados em nosso estudo demonstraram, em cada teste, semelhança entre os efeitos da fluoxetina e da desipramina, sugerindo que existe um mecanismo de ação comum para ambos os antidepressivos, e, portanto, não sustentam a afirmação de que os inibidores de recaptação da serotonina como a fluoxetina, possuem efeitos antinociceptivos mais acentuados do que outros antidepressivos menos seletivos (AGGEL et alli, 1986).

Em uma recente revisão de STANFORD (1996), foram comparados os efeitos dos inibidores de recaptação da serotonina sobre a recaptação das catecolaminas. Quando foi comparada a inibição da recaptação da noradrenaiina pela fluoxetina e pela desipramina, pequena diferença nas potências destes dois compostos foi observada. Conseqüentemente, o exato mecanismo de ação envolvido nos efeitos analgésicos da fluoxetina e da desipramina relatados no presente estudo ainda não estão esclarecidos. Vários trabalhos têm demonstrado a participação de mecanismos opióides (ESCHALIER et alli, 1981; TAKAHASHI e PAZ 1987; VALVERDE et alli, 1994) ou monoaminérgicos, principalmente serotonina e noradrenaiina (ESCHALIER et alli, 1981; FASMER et alli, 1989; MICÓ et alli, 1997) nesses efeitos analgésicos. Entretanto, MJELLEM e colaboradores (1993)

sugeriram que a analgesia induzida pela desipramina pode envolver mecanismos associados ao receptor NMDA.

Em resumo, os resultados apresentados no presente estudo, demonstram que a fluoxetina e a desipramina, administradas em camundongos, possuem propriedades analgésicas e possivelmente também antiinflamatórias, que são dissociadas de seus efeitos sedativos, antidepressivos, ansiolíticos ou ansiogênicos. Estes efeitos parecem ser influenciados não só pelo tipo de estímulo que provoca a dor, mas também pelas características inerentes a cada animal. A seleção dos animais é, sem dúvida, um fator importante que pode contribuir para o esclarecimento dos mecanismos de ação dos antidepressivos na analgesia. O perfil similar das respostas induzidas por ambos os antidepressivos indica que não é possível distinguir um envolvimento predominante do sistema serotoninérgico ou noradrenérgico. Estes resultados, apesar de obtidos em experimentos com animais, contribuem, de alguma forma, com aqueles que demonstraram que os antidepressivos possuem propriedades analgésicas e podem ser usados como adjuvantes no alívio da dor ou como analgésicos em pacientes humanos.

6- CONCLUSÕES

- Os resultados deste estudo demonstraram que a fluoxetina e a desipramina podem induzir analgesia em diferentes modelos experimentais sem alterar as medidas comportamentais avaliadas com os testes de atividade locomotora, natação forçada e labirinto em cruz elevado.

- O efeito analgésico significativo obtido nos testes da formalina e da placa quente, utilizando camundongos normais, demonstram que a fluoxetina e a desipramina administradas i.p., são efetivas em induzir analgesia tanto em testes que utilizam estímulo térmico quanto químico. Esse efeito parece ser mais evidente quando a nocicepção é causada por estímulo químico.

- O resultado obtido com a desipramina administrada por via i.t. sugere também que mecanismos medulares estão envolvidos na analgesia, quando a dor é provocada por estímulo químico, mas não térmico.

- A analgesia significativa obtida nos testes da formalina e da placa quente, utilizando camundongos previamente selecionados no teste da natação forçada, sugere que o efeito analgésico da fluoxetina e da desipramina depende do tipo de estímulo empregado para induzir a dor (químico ou térmico), pois, no teste da formalina, este efeito foi significativo tanto em animais ditos "não-deprimidos" como "deprimidos", enquanto no teste da placa quente este efeito só ocorreu nos animais "deprimidos".

- A partir dos resultados obtidos com a seleção dos animais, empregando o teste da natação forçada, é possível sugerir que a susceptibilidade aos efeitos analgésicos dos antidepressivos é maior nos animais classificados de “deprimidos”.

- Em suma o presente estudo sugere que diferentes antidepressivos, como a fluoxetina e a desipramina, que atuam preferencialmente nos sistemas serotoninérgico e noradrenérgico, causam efeito analgésico significativo e possivelmente também efeito antiinflamatório, sem afetar outros parâmetros comportamentais. Estes efeitos parecem ser influenciados não só pelo tipo de estímulo empregado como também pelo nível basal de emocionalidade dos animais.

7- ABSTRACT

The purpose of the present study was to correlate the behavioural effects of antidepressant drugs and the vulnerability to nociception in mice. The antidepressants, fluoxetine and desipramine, a selective serotonin and noradrenaline reuptake inhibitor, respectively, were injected acutely. The following behavioural measures were recorded: locomotor activity, the immobility time in forced swimming test and anxiolytic/anxiogenic responses in the elevated plus-maze. The antinociceptive actions of the treatment were evaluated with the tail-flick, hot plate or formalin tests. The locomotor activity measures revealed that only the highest dose of both drugs (40 mg/kg) induced a significant decrease in activity, thus this dose was discarded for the subsequent experiments. Fluoxetine and desipramine ranging from 2,5 - 20 mg/kg did not change the responses examined in the forced swimming and the elevated plus-maze tests. However, both antidepressants induced significant antinociceptive effects in the hot plate method, at doses of 10 and 20 mg/kg and in the formalin test with all doses tested. Thus, these antinociceptive responses were dissociated from the other behavioural actions of antidepressants. To investigate the possible medular sites of antinociceptive effects of these compounds, fluoxetine and desipramine were injected intrathecally and examined in the tail-flick and formalin tests. Only desipramine (7,6 and 15,2 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) was able to induce antinociception in the formalin test. Further, the correlation between basal levels of emotionality and vulnerability to nociception was examined. Mice were selected in the forced swimming test and termed "non-depressed" and "depressed" mice. After that, the animals were evaluated in the formalin and the hot

plate tests. "Non-depressed" and "depressed" mice showed significant antinociceptive responses in the formalin test when treated with fluoxetine and desipramine (5 mg/kg). Moreover, only "depressed" mice showed analgesia following both antidepressants (10 and 20 mg/kg) in the hot plate test. In conclusion, these findings indicated that fluoxetine and desipramine induce significant analgesia dissociated from the other behavioural effects of these drugs in normal mice. In addition, the antinociceptive effects found with the selected mice provided evidence for the relevance of basal levels of emotionality in the vulnerability to nociception.

8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, F.V.; MELZACK, R.; SAMUEL, C. Morphine analgesia in the tail-flick and formalin pain test is mediated by different neuronal systems. **Exp. Neurol.** 75: 644, 1982.
- ACTON, J.; MCKENNA, J.; MELZACK, R. Amitriptyline produces analgesia in the formalin pain test. **Exp. Neurol.** 117: 94-96, 1992.
- ADRIAENSEN, H.; GYBEL, J.; HANDWERKER, H.O.; VAN HESS, J. Response properties of thin myelinated (A-delta) fiber in human skin nerves. **J. Neurophysiol.** 49: 111-122, 1983.
- AGEEL, A. M. Effects of desipramine and chlorimipramine on buprenorphine analgesia in mice. **Jap. J. Pharmacol.** 41: 139-145, 1986.
- ALHAIDER, A.A.; LEI, S.Z.; WILCOX, G.L. Spinal 5-HT₃ receptor-mediated antinociception: possible release of GABA. **J. Neurosci.** 11: 1881-1888, 1991.
- ANSUATEGUI, M.; NAHARRO, L.; FERIA, M. Noradrenergic and opioidergic influences on the antinociceptive effect of clomipramine in the formalin test in rats. **Psychopharmacol.** 98: 93-96, 1989.
- ARDID, D.; ESCHALIER, A.; LAVARENNE, J. Evidence for a central but not a peripheral analgesic effect of clomipramine in rats. **Pain.** 45: 95-100, 1991.
- ARDID, D.; MARTY, H.; FIALIP, J.; PRIVAT, A. M. ESCHALIER, A., LAVARENNE, J. Comparative effects of different uptake inhibitor antidepressants in two pain tests in mice. **Fundam. Clin. Pharmacol.** 6: 75-82, 1992.
- BENJAMIN, D.; LAL, H.; MEYERSON, L.R. The effects of 5-HT_{1B} characterizing agents in the mouse elevated plus-maze. **Life Sci.** 47: 195-203, 1990.
- BENTLEY, K.R.; BARNES, N.M. Therapeutic potential of serotonin 5-HT₃ antagonists in neuropsychiatric disorders. **CNS Drugs.** 3 (5), 1995.
- BERRY, J.J.; MONTGOMERY, L.D.; WILLIAMS, B.A. Thermoregulatory responses of rats to varying environmental temperatures. **Aviat. Space Environ. Med.** 55: 546-549, 1984.

- BESSON, J.M.; CHAOUDI, A. Peripheral and spinal mechanisms of nociception. **Physiol. Rev.** 67: 67-186, 1987.
- BESSOU, P.; PERL, E.R. Responses of cutaneous sensory units with unmyelinated fiber to noxious stimuli. **J. Neurophysiol.** 32: 1025-1043, 1969.
- BIANCHI, M.; SACERDOTE, P.; PANERAI, A.E. Clomipramine differently affects inflammatory edema and pain in the rat. **Pharmacol. Biochem. Behav.** 1037-1040, 1994.
- BIANCHI, M.; SACERDOTE, P.; PANERAI, A.E. Fluoxetine reduces inflammatory edema in the rat: involvement of the pituitary-adrenal axis. **Eur. J. Pharmacol.** 263: 81-84, 1994.
- BIANCHI, M.; ROSSONI, P.; SACERDOTE, P.; PANERAI, A.E.; BERTI, F. Effects of clomipramine and fluoxetine on subcutaneous carrageenin-induced inflammation in the rat. **Inflamm. Res.** 44: 466-469, 1995.
- BITTENCOURT, A. L.; TAKAHASHI, R. N. Mazindol and lidocaine are antinociceptives in the mouse formalin model: involvement of dopamine receptor. **Eur. J. of Pharmacol.** 330: 109-113, 1997.
- BLACKWELL, B. Side effects of antidepressant drugs. **Psychiat. Update.** 6: 724-745, 1987.
- BLATT, S. L. **Influência dos níveis basais de ansiedade no efeito reforçador e na memória social em ratos tratados com etanol.** Florianópolis, [Tese - Mestrado - Universidade Federal de Santa Catarina], 1997.
- BODNOFF, S.R.; SURANYI-CADOTTE, B.; AITKEN, D.H.; QUIRION, R.; MEANEY, M.J. The effects of chronic antidepressant treatment in an animal model of anxiety. **Psychopharmacol.** 95: 298-302, 1988.
- BONICA, J.J. The management of pain. Philadelphia. **Lea & Febiger**, 1990.
- BORSINI, F.; MELI, A. Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity? **Psychopharmacol.** 94: 147-160, 1988.
- BOURIN, M.; REDROBE, J. P.; HASCOET, M.; BAKER, G. B.; COLOMBEL, M. C. A schematic representation of the psychopharmacological profile of

- antidepressants. **Prog. Neuro-Psychopharmacol. & Biol. Psychiat.** 20: 1389-1402, 1996.
- BOURIN, M.; COLOMBEL, M.C.; MALINGE, M.; BRADWEJN, J. Clonidine as a sensitizing agent in the forced swimming test for revealing antidepressant activity. **J. Psychiatr. Neurosci.** 16: 199-203, 1991.
 - BOYER, W.F. Potential indications for the selective serotonin reuptake inhibitors. **Int. Clin. Psychopharmacol.** 6: 5-12, 1992.
 - BRILEY, M.; CHOPIN, P.; VEIGNER, M. The plus-maze test of anxiety: validation in different rat strains and effect of a wide variety of antidepressants. **Br. J. Pharmacol.** 87, 1986.
 - BUTLER, S.H.; WEIL-FUGAZZA, J.; GODEFROY, F.; BESSON, J. Reduction of arthritis and pain behavior following chronic administration of amitriptyline or imipramine in rats with adjuvant-induced arthritis. **Pain.** 23: 159-175, 1985.
 - CASAS, J.; GIBERT-RAHOLA, J.; CHOVER, A. J.; MICÓ, J. A. Test-dependent relationship of the antidepressant and analgesic effects of amitriptyline. **Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol.** 17: 583-588, 1995.
 - CESSÉLIN, F.; LAPORTE, A.M.; MIQUEL, M.C.; BOURGOIN, S.; HAMON, M. Serotonergic mechanisms of pain control. In: G. F. Gebhart; D.L. Hammond and T.S. Jensen (Eds). *Proceedings of the 7 th World Congress on Pain*, 2: 669-695, 1994.
 - COHEN, R.H.; PERL, E.R. Contributions of arachidonic acid derivatives and substance P to the sensitization of cutaneous nociceptors. **J. Neurophysiol.** 64: 457-464, 1990.
 - CRISP, T.; STAFINSKY, J. L.; SPANOS, L. J.; URAM, M.; PERNI, V. C.; DONEPUDI, H. B. Analgesic effects of serotonin and receptor-selective serotonin agonists in the rat spinal cord. **Gen. Pharmacol.** 22: 247-251, 1991.
 - D'AMOUR, F.E.; SMITH, D.L. A method for determining loss of pain sensation. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 72: 74-79, 1941.

- DAVIS, J.; LEWIS, S.; GERICH, J.; KAPLAN, R.; SCHULTZ, T.; WALLIN, J. Peripheral diabetic neuropathy treated with amitriptyline and fluphenazine. *Jama*. 238: 2291, 1977.
- DAWSON, N.J.; KEBER, A.W. Physiology of heat loss from an extremity: the tail of the rat. *Clin. Exp. Pharmac. Physiol.* 6: 69-80, 1979.
- DEAKIN, J.F.W.; GRAEFF, F.G. 5-HT and mechanisms of defence. *J. of Psychopharmacol.* 5: 305-315, 1991.
- DELGADO, P.L.; PRICE, L.H.; MILLER, H.L.; SALOMON, R.M.; LICIANO, J.; KRYSTAL, J.H.; HENINGER, G.R.; CHARNEY, D.S. Rapid serotonin depletion as a provocative challenge test for patients with major depression: relevance to antidepressant action and the neurobiology of depression. *Psychopharmacol. Bull.* 27: 321-330, 1991.
- DELGADO, P.L.; MILLER, H.L.; SALOMON, R.M.; LICIANO, J.; HENINGER, G.R.; GELENBERG, A.J.; CHARNEY, D.S. Monoamines and the mechanism of antidepressant action: effects of catechoamine depletion on mood of patients treated with antidepressants. *Psychopharmacol. Bull.* 29: 389-396, 1993.
- DELLEMIJN, P.L.I.; FIELDS, H.L. Do benzodiazepines have a role in chronic pain management?. *Pain*. 57: 137-152, 1994.
- DENNIS, S.G.; MELZACK, R. Pain modulation by 5-hydroxytryptaminergic agents and morphine as measured by three pain tests. *Exp. Neurol.* 69: 260-270, 1980.
- DETKE, M.J.; JOHNSON, J.; LUCKI, I. Acute and chronic antidepressant drug treatment in the rat forced swimming test model of depression. *Exp. and Clin. Psychopharmacol.* 2: 107-112, 1997.
- DETKE, M.J.; RICKELS, M.; LUCKI, I. Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacol.* 121: 66-72, 1995.
- DETWEILER, D.J.; ROHDE, D.S.; BASBAUM, A I. The development of opioid tolerance in the formalin test in the rat. *Pain*. 63: 251-254, 1995.
- DICKENSON, A.H. Central acute pain mechanisms. *Annals of Medicine*. 27: 223-227, 1995.

- DRAY, A.; URBAN, L.; DICKENSON, A. Pharmacology of chronic pain. **Trends Pharmacol. Sci.** 15: 190-197, 1994.
- DUBUISSON, D.; DENNIS, S.G. The formalin test: a quantitative study of the anaesthetic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. **Pain.** 4: 161-174, 1977.
- DUGGAN, A.W.; MORTON, C.R. Tonic descending inhibition and spinal nociceptive transmission. **Prog. Brain. Res.** 77: 193-207, 1988.
- DUNCAN, G.E.; PAUL, I.A.; HARDEN, T.K.; MUELLER, R.A.; STUMP, W.E.; BREESE, G.R. Rapid down regulation of beta adrenergic receptors by combining antidepressant drugs with forced swim: a model of antidepressant-induced neural adaptation. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 234: 402-408, 1985.
- DURCAN, M.J.; LISTER, R.G.; ECKARDT, M.J.; LINNOILA, M. Behavioural interactions of fluoxetine and other 5-hydroxytryptamine uptake inhibitors with ethanol in tests of anxiety, locomotion and exploration. **Psychopharmacol.** 96: 528-533, 1988.
- EDDY, N.B.; LEIMBACK, D. Synthetic anaesthetic II. Dithienylbutenyl and dithienylbutylamines. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 107: 385-393, 1953.
- EIDE, P.K.; TJØLSEN, A. Effects of serotonin receptor antagonists and agonists on the tail-flick response in mice involve altered tail-flick temperature. **Neuropharmacol.** 27: 889-893, 1988.
- ELLIOT, K. J.; BRODSKY, M.; HYNANSKY, AD.; FOLEY, C.M.; INTURRISI, E. Dextromethorphan suppresses both formalin-induced nociceptive behavior and the formalin-induced increase in spinal cord c-fos mRNA. **Pain.** 61: 401-409, 1995.
- ESCHALIER, A.; MONTASTRUC, J. L.; DEVOIZE, J.L.; RIGAL, F.; GAILLARD-PLAZA, G.; PECHADRE, J. C. Influence of naioxone and methysergide on the analgesic effect of clomipramine in rats. **Eur. J. Pharmacol.** 74: 1-9, 1981.
- ESCHALIER, A.; ARDID, D.; COUIDORE, F. Pharmacological studies of the analgesic effect of antidepressants. **Clin. Neuropharmacol.** 15 (suppl. 1): 373-374, 1992.

- EISENACH, J.C.; GEBHART, G.F. Intrathecal amitriptyline: Antinociceptive interactions with intravenous morphine and intrathecal clonidine, neostigmine, and carbamylchoiine in rats. **Anesthesiology**. 83: 1036-1054, 1995.
- FASMER, O. B.; HUNSKAAR, S.; HOLE, K. Antinociceptive effects of serotonergic reuptake inhibitors in mice. **Neuropharmacol**. 28: 1363-1366, 1989.
- FEINMANN, C., Pain relief by antidepressants: possible modes of action. **Pain**. 23: 1-8, 1985.
- FIALIP, J.; MARTY, H.; AUMAITRE, O.; BOUGEROLLE, A. M.; DORDAIN, G.; BERGER, J. A.; ESCHALIER, A. Antinociceptive activity of metopramine in mice. Relationship with its pharmacokinetic properties. **Life Sci**. 50: 161-168, 1992.
- FILE, S. E.; TUCKER, J. C. Behavioral consequences of antidepressant treatment in rodents. **Neuro. & Biobehav. Rev.** 10:123-134. 1986.
- FILE, S.E.; JOHNSTON, A.L. Chronic treatment with imipramine does not reverse the effects of 3 anxiogenic compounds in a test of anxiety in the rat. **Neuropsychobiol**. 17: 187-192, 1987.
- FILE, S.E. New strategies in the search for anxiolytics. **Drug Design and Delivery**. 5: 195-201, 1990.
- FOOTE, S.L.; BLOOM, F.E.; ASTON-JONES, G. Nucleus locus ceruleus: new evidence of anatomical and physiological specificity. **Physiol. Rev.** 63: 844-914, 1983.
- FRAZER, A. Antidepressant drugs. **Depression**. 2: 1-19, 1994.
- FULLER, R.W.G. Enhancement of monoaminergic neurotransmission by antidepressant drugs. In: Enna S.J.; Malick, J.B.; Richelson, E. (eds). **Antidepressants: neurochemicals, behavioral and clinical perspectives**. Raven Press. pp. 1-12, 1981.
- GEORGOPOULOS, A.P. Functional properties of primary afferent units probably related to pain mechanisms of primate glabrous skin. **J. Neurophysiol.** 39: 71-84, 1976.

- GEORGOPOULOS, A.P. Stimulus-response relations in high-threshold mechanothermal fibers innervating primate glabrous skin. **Brain Res.** 128: 547-553, 1977.
- GIBERT-RAHOLA, J.; CASAS, J.; GÓMEZ-CAMA, J.; ELORZA, J.; MICÓ, J. Serotonin and pain: Effect of fluvoxamine. In: Animal models in psychopharmacology. Oliver and Slagen (eds). **Birkhauser: Basel.** 435-43, 1991.
- GOLDSTEIN, F. J.; MALSEED, R.T.; NUTZ, J. F. Effects of chronic clomipramine on central DADLE antinociception. **Pain.** 42: 331-336, 1990.
- GORKA, Z.; WOJTASIK, H.; KWIATEK, H.; MAJ, J. Action of serotoninmimetics in the behavioural despair test in rats. **Commun. Psychopharmacol.** 3: 133-136, 1979.
- GRIEBEL, G.; RODGERS, R.J.; GHISLAINE, P.; SANGER, D.J. Risk assessment behaviour: Evaluation of utility in the study of 5-HT-related drugs in the rat elevated plus-maze test. **Pharmacol. Biochem. and Behav.** 57: 817-827, 1997.
- HALEY, J.E.; SULLIVAN, A.F.; DICKENSON, A.H. Evidence for spinal N-methyl-D-aspartate receptor involvement in prolonged chemical nociception in the rat. **Brain Res.** 518: 218-226, 1990.
- HANDLEY, S.L.; McBLANE, J.W. Opposite effects of fluoxetine in two animal models of anxiety. **Br. J. Pharmacol.** 107, 446p, 1992.
- HANDWERKER, H.O.; REEH, P.W. Nociceptors in animals. Peripheral neurons in nociception: physio-pharmacological aspects. J. M. BESSON, G. GUILBAUD, H. OLLAT. John Libbey Eurotext, Paris © pp. 1-12, 1994.
- HARRO, J.; KIIVET, R. A.; LANG, A.; VASAR, E. Rats with anxious or non-anxious type of exploratory behaviour differ in their brain CCK-8 and benzodiazepine receptor characteristics. **Behav. Brain Res.** 39: 63-71, 1990.
- HEAPY, C.G.; JAMIESON, A.; RUSSELL, N.J.W. Afferent C-fibre and a-delta activity in models of inflammation. **Br. J. Pharmacol.** 90: 164, 1987.

- HERTZ, A.; MILLAN, M.J. Endogenous opioid peptides in the descending control of nociceptive responses of spinal dorsal horn neurons. **Prog. Brain Res.** 77: 263-273, 1988.
- HUNSKAAR, S.; FASMER, O.B.; HOLE, K. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. **J. Neurosc. Meth.** 14: 69-76, 1985.
- HUNSKAAR, S.; HOLE, K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain.** 30: 103-114, 1987.
- HYLDEN, J.L.K.; WILCOX, G.L. Intrathecal morphine in mice: a new technique. **Eur. J. of Pharmacol.** 67: 313-316, 1980.
- JACKSON, D.L.; GRAFF, C.B.; RICHARDSON, J.D.; HARGREAVES, K.M. Glutamate participates in the peripheral modulation of thermal hyperaesthesia in rats. **Eur. J. of Pharmacol.** 284: 321-325, 1995.
- JALFRE, M.; HAEFELY, W. Effects of some centrally acting agents in rats after intraventricular injections of 6-hydroxydopamine, in: **6-Hydroxydopamine and catecholamine neurons**, eds. T. Malmfors and H. Thoenen. pp.333, 1971.
- JANKLE, W.; DEBUS, G.; LONGO, N. Differential psychopharmacology of tranquilizing and sedative drugs. In: Ban. T. A. et alii, **Modern problems in pharmacopsychiatry**. Karger, Basel. 14: 13-98, 1979.
- JENSEN, T. S.; YAKSH, T. L. Spinal monoamine and opiate systems partly mediate the antinociceptive effects produced by glutamate at brain stem sites. **Brain Res.** 321: 287-297, 1984.
- JESSEL, T.M.; KELLY, D.D. Pain and analgesia. In: **Principles of Neural Science** (KEEL, E.R.; SCHWARTZ, J.H.; JESSEL, T.M. eds) Appleton & Lange, pp. 385-399, 1991.
- JONES, S.L.; GEBHART, G.F. Characterization of coeruleo spinal inhibition of the nociceptive tail-flick reflex in the rat: mediation by spinal α_2 -adrenoceptors. **Brain Res.** 364: 315-330, 1986.
- JONES, S.L.; GEBHART, G.F. Inhibition of spinal nociceptive transmission from the midbrain, pons and medulla in the rat: activation of descending inhibition by morphine, glutamate and electrical stimulation. **Brain Res.** 460: 281-96, 1988.

- KANJHAN, R. Opioids and Pain. **Clin. and Exp. Pharmacol. and Physiol.** 22: 397-403, 1995.
- KILPATRICK, G. J.; BUNCE, K. T.; TYERS, M. B. 5-HT₃ receptors. **Med. Res. Ver.** 10: 441-475, 1990.
- KRUPP, P.; WEST, M. Inhibition of prostaglandin synthetase by psychotropic drugs. **Experientia.** 31: 330-331, 1975.
- KWAIT, G.C.; BASBAUM, A.I. The origin of brainstem noradrenergic and serotonergic projections to the spinal cord dorsal horn of the rat. **Somatosens. Mot. Res.** 9: 157-173, 1992.
- LEIJON, G.; BOVIE, J. Central post-stroke pain: a controlled trial of amitriptyline and carbamazepine. **Pain.** 36: 27-36, 1989.
- Le BARS, D. Serotonin and pain: In neuronal serotonin, (Osborne NN, Hamon M, eds). **Wiley and Sons.** pp. 171-230, 1988.
- LEE, R.; SPENCER, P.S.J. Antidepressants and pain: a review of pharmacological data supporting the use of certain tricyclics in chronic pain. **J. Int. Med. Res.** 5: 146-156, 1977.
- LICO, M.C. Mecanismos de dor e analgesia. Implicações terapêuticas. **Revisão de Medicina.** 10 (1-2): 11-23, 1979.
- LIN, M.T.; CHANDRA, A.; CHI, M.L.; KAU, C.L. Effects of increasing serotonergic activity in brain on analgesic activity in rats. **Exp. Neurol.** 68: 548-554, 1980.
- LISTER, R.G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacol.** 92: 180-185, 1987.
- LISTER, R. G. Ethologically-based animal models of anxiety disorders. **Pharmac. Ther.** 46: 321-340, 1990.
- LUND, A.; TJØLSEN, A.; HOLE, K. Desipramine in small doses induces antinociception in the increasing temperature hot-plate test, but not in the tail-flick test. **Neuropharmacol.** 28: 1169-1173, 1989.
- LUND, A.; TJØLSEN, A.; HOLE, K. The apparent antinociceptive effect of desipramine and zimelidine in the tail-flick test in rats is mainly caused by changes in tail skin temperature. **Pain.** 38: 65-69, 1989.

- LUND, A.; TJØLSEN, A.; HOLE, K. Antinociceptive effect of intrathecally administered desipramine and zimelidine in rats. **Neuropharmacol.** 29: 819-823, 1990.
- LUND, A.; MJELLEM-JOLY, N.; HOLE, K. Chronic administration of desipramine and zimelidine changes the behavioural response in the formalin test in rats. **Neuropharmacol.** 30: 481-487, 1991.
- LUND, A.; MJELLEM-JOLY, N.; HOLE, K. Desipramine, administered chronically, influences 5-hydroxytryptamine_{1A} receptors, as measured by behavioural tests and receptor binding in rats. **Neuropharmacol.** 31: 25-32, 1992.
- LYTLE, L.D.; MESSING, R.A.; FISHER, L.; PHEBUS, L. Effects of long-term corn consumption on brain serotonin and the response to electric shock. **Science.** 190: 692-694, 1975.
- MAGNI, G. On the relationship between chronic pain and depression when there is no organic lesion. **Pain.** 31: 1-21, 1987.
- MAGNI, G. The use of antidepressants in the treatment of chronic pain. **Drugs.** 42: 730-748, 1991.
- MAJ, J.; ROGOZ, Z.; SKUZA, G. The effects of combined treatment with MK-801 and antidepressant drugs in the forced swimming test in rats. **Pol. J. Pharmacol. Pharm.** 44: 217-226, 1992.
- MALINGE, M.; BOURIN, M.; COLOMBEL, M.C.; LAROUSSE, C. Additivity effects of clonidine and antidepressant drugs in the mouse forced swimming test. **Psychopharmacol.** 96: 104-109, 1988.
- McFARLANE, J.; JALALI, S.; GRACE, E. Trimipramine in rheumatoid arthritis: A randomized double-blind trial in relieving pain and joint tenderness. **Curr. Med. Res. and Opin.** 10: 89-93, 1986.
- McGEER, P.L.; ECLLES, J.E.; McGEER, E.G. Catecholamine neurons. In: **Molecular Biology of the Mammalian Brain**, 2^a edição, New York, Plenum Press. pp. 265-315, 1987.
- MELZACK, R.; DENNIS, S.G. Neurophysiological foundation of pain. In **The Psychology of pain** (ed. Sternbach R.A.) . Raven Press. pp. 1-26, 1978.

- MELZACK, R.; WALL, P. D. The challenge of pain. New York: Basic Book, 1983
- MICÓ, J. A.; BROCHET, D.; CASAS, J.; GIBERT-RAHOLA, J.; SIMON, P. Involvement of β -adrenoceptor in the antinociceptive effect of desipramine in mice. **Med. Sci. Res.** 20: 405-406, 1992.
- MICÓ, J. A.; GIBERT-RAHOLA, J.; CASAS, J.; ROJAS, O.; SERRANO, M. I.; SERRANO, J. S. Implication of β_1 - and β_2 -adrenergic receptors in the antinociceptive effect of tricyclic antidepressants. **Eur. Neuropsychopharmacol.** 7: 139-145, 1997.
- MICHELSON, D.; MISIEWICZ-POLTORAK, B.; RAYBOURNE, R.B.; GOLD, P.W.; STERNBERG, E.M. imipramine reduces the local inflammatory response to carragenin. **Agents Actions.** 42: 25-8, 1994.
- MJELLEM, N.; LUND, A.; HOLE, K. Reduction of NMDA-induced behaviour after acute and chronic administration of desipramine in mice. **Neuropharmacol.** 32: 591-595, 1993.
- MOLLER, C.; WIKLUND, L.; SOMMER, W.; THORSELL, A.; HEILIG, M. Decreased experimental anxiety and voluntary ethanol consumption in rats following central but not basolateral amygdala lesions. **Brain Res.** 760 (1-2): 94-101, 1997.
- MOLLER, C.; WIKLUND, L.; THORSELL, A.; HYYTIA, P.; HEILIG, M. Decreased measures of experimental anxiety in rats bred for high alcohol preference. **Alcohol Clin. Exp. Res.** 21 (4): 656-660, 1997.
- MONTGOMERY, K.C. The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory behaviour. **J. Comp. Physiol.** 48: 254-260, 1958.
- MURRAY, C.W.; PORRECA, F.; COWAN, A. Methodological refinements of the mouse paw formalin test - an animal model of tonic pain. **J. Pharmacol. Meth.** 20: 175-186, 1988.
- NIXON, M.K.; HASCOET, M.; BOURIN, M.; COLOMBEL, M.C. Additive effects of lithium and antidepressants in the forced swimming test: Further evidence for involvement of the serotonergic system. **Psychopharmacol.** 115: 59-64, 1994.

- OGGREN, S.; HOLM, A. Test-specific effects of the 5-HT reuptake inhibitors alaproclate and zimelidine on pain sensitivity and morphine analgesia. **J. Neural Transm.** 47: 253-271, 1980.
- OLLAT, H.; PARVEZ, S.; PARVEZ, H. Endogenous morphines and nociception. **Biog. Amines.** 6: 381-410, 1989.
- OSSIPOV, M.H.; MALSEED, R.T.; GOLDSTEIN, F.J. Augmentation of central and peripheral morphine analgesia by desipramine. **Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.** 259: 222-229, 1982.
- OVERSTREET, D.H. The Flinders sensitive line rats: a genetic animal model of depression. **Neurosci. Biobehav.** 17: 51-68, 1993.
- PAUL, I.A.; DUNCAN, G.E.; KUHN, C.; MUELLER, R.A.; HONG, J.; BREESE, G.R. Neural adaptation in imipramine-treated rats processed in forced swim test: assessment of time course, handling, rat strain and amine uptake. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 252: 997-1005, 1990.
- PELLOW, S.; CHOPIN, P.; FILE, S.E.; BRILEY, M. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **J. Neurosc. Methods.** 14: 149-167, 1985.
- PORSOLT, R.D.; LE PICHON, M.; JALFRE, M. Depression: A new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature.** 266: 730-732, 1977.
- PORSOLT, R.D.; BERTIN, A.; JALFRE, M. Behavioral despair in mice: A primary screening test for antidepressants. **Arch. Int. Pharmacodyn.** 229: 327-336, 1977.
- PORSOLT, R.D.; ANTON, G.; DENIEL, M.; JALFRE, M. Behavioral despair in rats: A new model sensitive to antidepressant treatments. **Eur. J. Pharmacol.** 47: 379-391, 1978.
- PORSOLT, R.D.; BERTIN, A.; BLAVET, N.; DENIEL, M.; JALFRE, M. Immobility induced by forced swimming in rats: effects of agents which modify central catecholamine and serotonin activity. **Eur. J. Pharmacol.** 57: 201-210, 1979.

- PORSOLT, R.D. Behavioral despair: present status and future perspectives. In: Leonard B.E.; Spencer P.J. (eds). **Antidepressants: thirty years on. CNS Publishers.** London. pp. 85-94, 1990.
- PORSOLT, R.D.; LENEGRE, A.; McARTHUR, R.A. Pharmacological models of depression. In: **Animal models in psychopharmacology.** B. Oliver. J. Slangen and J. Mos (eds). Birkhauser, Basel. pp. 137-159, 1991.
- PORSOLT, R.D.; LENEGRE, A. Behavioral models of depression. In: Elliot, J.M.; Heal, D.J.; Marsden, C.A. (eds). **Experimental approaches to anxiety and depression.** Wiley. New York. pp. 73-85, 1992.
- RAJA, S.N.; MEYER, R.A.; CAMPBELL, J.N. Peripheral mechanisms of somatic pain. **Anesthesiol.** 68: 571-590, 1988.
- RAMABADRAN, K.; BANSINATH, M. A critical analysis of the experimental evaluation nociceptive reactions in animals. **Pharmac. Res.** 3: 263-269, 1986.
- RAND, R.P.; BURTON, A.C.; ING T. The tail of the rat, in temperature regulation and acclimatization. **Can. J. Physiol. Pharmacol.** 43: 257-267, 1965.
- REDROBE, J.P.; MACSWEENEY, C.P.; BOURIN, M. The role of 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors in antidepressant drug actions in the mouse forced swimming test. **Eur. J. of Pharmacol.** 318: 213-220, 1996.
- REDROBE, J.P.; BOURIN, M. Partial role of 5-HT₂ and 5-HT₃ receptors in the activity of antidepressants in the mouse forced swimming test. **Eur. J. of Pharmacol.** 325: 129-135, 1997.
- RIGAL, F.; ESCHALIER, A.; DEVOIZE, J. L.; PECHADRE, J. C. Activities of five antidepressants in a behavioral pain test in rats. **Life Sci.** 32: 2965-2971, 1983.
- RIGON, A. R.; TAKAHASHI, R. N. The effects of systemic procaine, lidocaine and dimethocaine on nociception in mice. **Gen. Pharmacol.** 27: 647-650, 1996.
- RODGERS, R.J.; COLE, J.C. The elevated plus-maze: Pharmacology, methodology and ethology. **Ethology and Psychopharmacol.** pp. 9-43, 1994.

- RODGERS, R.J.; CUTLER, M.G.; JACKSON, J.E. Behavioural effects in mice of subchronic chlordiazepoxide, maprotiline and fluvoxamine. II. The elevated plus-maze. **Pharmacol. Biochem. and Behav.** 57: 127-136, 1997.
- RODGERS, R.J.; CUTLER, M.G.; JACKSON, J.E. Behavioural effects In mice of subchronic buspirone, ondansetron and tianeptine. II. The elevated plus-maze. **Pharmacol. Biochem. and Behav.** 56: 295-303, 1997.
- ROGÉRIO, R.; TAKAHASHI, R. N. Anxiogenic properties of cocaine in the rat evaluated with the elevated plus-maze. **Pharmacol. Biochem. And Behav.** 43: 631-633, 1992.
- ROSENBLATT, M.R.; REICH, J.; DEHRING, D. Tricyclic antidepressants in treatment of depression and chronic pain. **Anesth. Analg.** 63: 1025-1032, 1984.
- ROSLAND, J.H.; ARNE, T.; BJØRN, M.; HOLE, K. The formalin test in mice: effect of formalin concentration. **Pain.** 42: 235-242, 1990.
- RYAN, S.M.; WATKINS, L.R.; MAYER, D.J.; MAIER, S.F. Spinal pain suppression mechanisms may differ for phasic and tonic pain. **Brain Res.** 334: 172, 1985.
- SACERDOTE, P.; BIANCHI, M.; PANERAI, A.E. Clomipramine and nortriptyline but not fluoxetine and fluvoxamine inhibit human polymorphonuclear cell chemotaxis in vitro. **Gen. Pharmac.** 409-412, 1994.
- SAKATA, R.K.; GOZZANI, J.L. Fisiopatologia da dor. **Revista Brasileira de Medicina.** 51: 3-5, 1994.
- SAWYNOK, J.; REID, A. Desipramine potentiates spinal antinociception by 5-hydroxytryptamine, morphine and adenosine. **Pain.** 50: 113-118, 1992.
- SCHREIBER, R.; De VRY, J. 5-HT_{1a} receptor ligands in animal models of anxiety, impulsivity and depression: multiple mechanisms of actions ?. **Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiat.** 17: 87-104, 1993.
- SHARAV, Y.; SINGER, E.; SCHMIDT, E.; DIONNER, A.; DUBNER, R. The analgesic effect of amitriptyline on chronic facial pain. **Pain.** 31: 199-209, 1987.
- SHERRINGTON, C. The integrative action of the nervous system. N. York, Charles Scribner's Sons, 1906.

- SHIBATA, M.; OHKUBO, T.; TAKAHASHI, H.; INOKI, R. Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. **Pain**. 38: 347-352, 1989.
- SIERRALTA, F.; PINARDI, G.; MENDEZ, M.; MIRANDA, H. F. Interaction of opioids with antidepressant-induced antinociception. **Psychopharmacol**. 122: 374-378, 1995.
- SIMSON, P.E.; WEISS, J.M. Altered Activity of the locus coeruleus in an animal model of depression. **Neuropsychopharmacol**. 1: 287-295, 1988.
- SPANAGEL, R.; MONTKOWSKI, A.; ALLINGHAM, K.; STÓHR, T.; SHOAB, M.; HOLSBOER, F.; LANDGRAF, R. Anxiety: a potential predictor of vulnerability to the initiation of ethanol self-administration in rats. **Psychopharm**. 122: 369-373, 1995.
- STANFORD, S. C. Prozac: panacea or puzzle? **Tips**. v. 17, 1996.
- STEWART, R. B.; GATTO, G. J.; LUMENG, L.; LI, T. K.; MURPHY, J. M. Comparison of alcohol preferring (P) and non-preferring (NP) rats on tests of anxiety and for the anxiolytic effects of ethanol. **Alcohol**. 10 (1): 1-10, 1993.
- STEWART, R. B.; MURPHY, J. M.; McBRIDE, W. J.; LUMENG, L.; LI, T. K. Place conditioning with alcohol in alcohol-preferring and non-preferring rats. **Pharmacol. Biochem. and Behavior**. 53 (3): 487-491, 1996.
- SUGIMOTO, M.; KURAISHI, Y.; SATOH, M.; TAKAGI, H. Involvement of medullary opioid-peptidergic and spinal noradrenergic systems in the regulation of formalin-induced persistent pain. **Neuropharmacol**. 25: 481-485, 1986.
- TAKAHASHI, R. N.; PAZ, M. M. Influence of naloxone on analgesic effects of antidepressants in mice. **Brazilian J. Med. Biol. Res**. 20: 607-610, 1987.
- TANGRI, K.K.; SAXENA, P.R.; SETH, P.K.; BHARGAVA, K.P. Anti-inflammatory activity of imipramine and congeners. **Biochem. Pharmacol**. 15: 825-831, 1966.
- TERUEL, F. A.; ESCORIHUELA, R. M.; NUNEZ, N. F.; ZAPATA, A.; BOIX, F.; SALAZAR, W.; TOBENA, A. The early acquisition of two-way (shuttle-box)

- avoidance as an anxiety-mediated behavior: psychopharmacological validation. **Brain. Res. Bull.** 26 (1): 173-176, 1991.
- TJØLSEN, A; BERGE, O. G.; HUNSKAAR, S.; ROSLAND, J.H.; HOLE, K. The formalin test: an evaluation of the method. **Pain.** 51: 5-17, 1992.
 - TOLLEFSON, G. D. Selective serotonin reuptake inhibitors. **American Psychiatric Press.** Washington D C. pp. 161-182, 1995.
 - TURA, B.; TURA, S. The analgesic effect of tricyclic antidepressants. **Brain Res.** 518: 19-22, 1990.
 - VACCARINO, A.L.; MAREK, P.; LIEBESKIND, J.C. Stress-induced analgesia prevents the development of the tonic, late phase of pain produced by subcutaneous formalin. **Brain Res.** 572: 250-252, 1992.
 - VACCARINO, A.L.; MELZACK, R. Temporal processes of formalin pain: differential role of the cingulum bundle, fornix pathway and medial bulboreticular formation. **Pain.** 49: 257-271, 1992.
 - VALENTINO, R.J.; ASTON-JONES, G. Physiological and anatomical determinants of locus coeruleus discharge. In: Bloom, F.E. and KUPFER, D.J. **Psychopharmacol.** The Fourth generation of Progress, Raven Press, New York, pp. 371-85, 1995.
 - VALVERDE, O.; MICO, J.A.; MALDONADO, R.; MELLADO, M.; GIBERT-RAHOLA, J. Participation of opioid and monoaminergic mechanisms on the antinociceptive effect induced by tricyclic antidepressants in two behavioural pain tests in mice. **Prog. Neuro-Psychopharmacol. & Biol. Psychiat.** 18: 1073-1092, 1994.
 - VAN PRAAG, H.M. In search of the mode of action of antidepressants. **Neuropharmacology.** 22: 433-440, 1983.
 - VASAR, E.; HARRO, J.; LANG, A. et alii. Anti-exploratory effect of N-methyl-D-aspartate in elevated plus-maze: involvement of NMDA and CCK receptors. **Eur. Neuropsychopharmacol.** 3: 63-73, 1993.

- WHELLER, H.; PORRECA, F.; COWAN, A. Further development of the formalin test in rats as a tonic pain model. **FASEB J.** 2: 1391, 1988.
- WILLIS JR., W.D. anatomy and physiology of descending control of nociceptive responses of dorsal horn neurons: comprehensive review. **Prog. Brain Res.** 77: 1-29, 1988.
- WONG, D.T.; BYMASTER, F.P.; ENGLEMAN, E.A. Prozac (Fluoxetine, Lilly 110140), the first selective serotonin reuptake inhibitor and an antidepressant drug: Twenty years since its first publication. **Life Sci.** 57: 411-441, 1995.
- WOOLF, C.J. Recent advances in the pathophysiology of acute pain. **Br. J. Anesthesiol.** 63: 139-146, 1989.
- ZEMLAN, F.P.; BEHBEHANI, M.M.; MURPHY, R.M. Serotonin receptors subtypes and the modulation of pain transmission. **Prog. Brain Res.** 77: 349-355, 1988.
- ZHOU, F. C.; ZHANG, J. K.; LUMENG, L.; LI, T. K. Mesolimbic system in Alcohol-Preferring rats. **Alcohol.** 12 (5): 403-412, 1994.