

THEREZA CHRISTINA MONTEIRO DE LIMA NOGUEIRA

ESTRESSE E CONVULSÕES : PARTICIPAÇÃO DOS OPIÓIDES ENDÓGENOS



01802937

Tese apresentada ao  
Instituto de Ciências Biológicas da  
Universidade de São Paulo  
para obtenção do grau de  
Doutor em Ciências ( Fisiologia )

1989

"Para um grande sonho tornar-se verdadeiro,  
a primeira condição é ter uma grande capacidade de  
sonhar; a segunda é a perseverança - a fé no sonho."  
(Hans Selye)

" Eu sustento  
que a única finalidade da ciência  
está em aliviar  
a miséria da existência  
humana."  
(Bertolt Brecht)

"Diante dos acontecimentos de cada dia,  
numa época em que reina a confusão,  
em que corre sangue,  
em que se ordena a desordem,  
em que o arbitrário tem força de lei,  
em que a humanidade se desumaniza,  
não digam nunca: isto é natural!"

( Bertolt Brecht )

Ao Ze Carlos, Marianna e Mayara,  
pelo amor que me sustenta e  
pelas horas subtraídas de seu convívio.

A minha mãe, Merina, pela retaguarda silenciosa e indispensável, sem a qual esse trabalho não estaria concluído.

Ao meu pai, Edmundo, que mesmo sem estar presente fisicamente, foi meu sustentáculo espiritual nas horas de desânimo.

Meus agradecimentos :

Ao meu orientador, João Palermo Neto, pela confiança e liberdade.

Ao Giles, Gina, Pádua e Reinaldo, pela amizade, apoio, incentivo e sugestões.

Ao Prof. Dr. Fernando A. M. de Azeredo, do Departamento de Neurobiologia da Universidade Federal Fluminense, pelas críticas e pela cobrança.

Ao Prof. Dr. Pedro A. Barbetta, do Departamento de Ciências Estatísticas e da Computação, C.T.C., Universidade Federal de Santa Catarina, pela ajuda na execução da análise estatística dos dados.

A Bárbara A. Fernandes, Renate S. Ferreira, Susana M.D.B.Santos e Elizabet Ramos pelo auxílio na digitação dos resultados.

A Sandra R. Braga e ao Wulphrano P. de Macedo Neto, pela inestimável colaboração técnica.

Ao Amaro J. da Silva e Zeri P. da Cunha, pelos serviços de apoio no Biotério da Farmacologia.

Esta tese foi realizada nos laboratorios de Psicofarmacologia da Coordenadoria Especial de Farmacologia , Centro de Ciencias Biologicas da Universidade Federal de Santa Catarina.

O auxilio financeiro foi concedido pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Cientifico e Tecnol6gico ( CNPq - Processo 400954/83 - BF ) . A autora recebeu bolsa do CNPq como pesquisadora durante o periodo de execucao da parte experimental deste trabalho ( Proc. 300890/80 - BF ) .



## ÍNDICE

	PÁGINA
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. OBJETIVOS .....	16
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	17
3.1. Animais .....	17
3.2. Procedimentos Gerais .....	17
3.3. Avaliação da Susceptibilidade Convulsiva .....	18
3.3.1. Convulsões induzidas por estímulo audiogênico...	19
3.3.2. Convulsões induzidas por pentilenotetrazol .....	19
3.3.3. Convulsões induzidas por ácido 3-mercaptopropiônico .....	20
3.3.4. Convulsões induzidas por eletrochoque transcorneal .....	20
3.4. Avaliação da nocicepção .....	21
3.4.1. Método da placa-quente ("hot-plate") .....	21
3.4.2. Método das contorções abdominais ("writhing") induzidas por ácido acético .....	21
3.5. Drogas e vias de administração .....	22
3.6. Análise estatística .....	22
4. RESULTADOS	
4.1 Avaliação da Susceptibilidade Convulsiva .....	27
4.1.1. Convulsões induzidas por estímulo audiogênico ..	27
4.1.2. Convulsões induzidas por pentilenotetrazol .....	30
4.1.3. Convulsões induzidas por ácido 3-mercaptopropiônico .....	35

4.1.4. Convulsões induzidas por eletrochoque transcor- neal.....	40
4.1.5. Severidade das convulsões induzidas por diversos agentes .....	41
4.1.6. Letalidade promovida pelas diferentes metodolo- gias convulsivantes .....	46
4.2. Avaliação da nocicepção .....	50
5. DISCUSSÃO .....	59
6. CONCLUSÕES .....	74
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	



## 1. INTRODUÇÃO

A palavra estresse é usada no sentido biológico para descrever dor, sofrimento ou desconforto, podendo estar presente em várias condições. Não há, no entanto, qualquer medida de estresse objetiva disponível, não há nem mesmo uma ampla aceitação de seu significado. De forma geral, as pesquisas envolvendo condições de estresse enfocam respostas fisiológicas ou comportamentais de animais a uma ampla gama de estímulos, sem que sejam tentadas quaisquer interrelações entre as mesmas. Esse enfoque isolado de abordagens tem levado a diferentes conceitos e definições de estresse (HATTINGH, 1988).

As primeiras descrições de reações fisiológicas e comportamentais a estímulos nocivos foram feitas por SELYE (1936a) que, na época, as considerou características de todos os organismos superiores, denominando o conjunto dessas respostas de estresse. Posteriormente, o estresse foi redefinido como o conjunto de respostas estereotipadas, isto é, geneticamente determinadas e inespecíficas, emitidas por um animal como reação a situações de demanda (SELYE, 1951). Por essa definição, situações que aumentam a demanda interna do organismo são consideradas estressores. Este conceito é limitado, pois ignora a importância da percepção das respostas fisiológicas, as origens psicológicas e as consequências dessas respostas. MASON (1971), por sua vez, sugeriu que o estímulo fisiológico resulta numa resposta ao estresse somente por promover uma reação emocional. SELYE (1976)

menciona não apenas a interdependência dessas respostas fisiológicas e psicológicas, como também a impossibilidade de que uma ocorra sem a outra. O DORLAND'S MEDICAL DICTIONARY (1982) define o estresse como a soma de reações biológicas a qualquer estímulo adverso - físico, mental ou emocional, interno ou externo - que tende a perturbar a homeostase de um organismo. Quando inadequadas, estas reações compensatórias do estresse podem produzir vários distúrbios, fisiológicos e/ou psicológicos. Recentemente, VOGEL (1987) definiu como estresse o conjunto de respostas específicas morfológicas, bioquímicas, fisiológicas e/ou comportamentais de um organismo a eventos estressantes. Nesse sentido, esse autor enfatiza que uma definição absoluta de estresse requeriria atenção tanto ao contexto de seu uso quanto às suposições concernentes aos objetivos do estresse.

Embora por vezes as reações orgânicas ao estresse possam ser drásticas, elas apenas constituem modificações específicas que traduzem alguns dos sinais clássicos da "síndrome de adaptação geral" (GAS = "general adaptation syndrome") proposta por SELYE: hipertrofia adrenal, involução timo-linfática e aparecimento de úlceras gastro-duodenais (SELYE, 1936, a, b, c, 1943). Essas modificações ocorrem em animais experimentais expostos a uma variedade expressiva de fatores estressantes exógenos como imobilização, frio, calor, fome, sede, densidade populacional elevada, isolamento social e outros. Geralmente, ao término do evento estressante, a resposta evocada pelo mesmo finaliza, e o organismo retorna à sua condição de homeostase original.

Os primeiros estudos experimentais envolvendo condições de estresse enfocavam mais os seus aspectos neuroendócrinos do que o fenômeno em si. CANNON (1929, 1939) estudou o sistema simpático-adrenal, demonstrando não só a integração das respostas como o envolvimento da noradrenalina e adrenalina com o quadro. Baseando-se no conhecimento dos hormônios esteroidais e na identificação do ACTH (hormônio adeno-corticotrófico), SELYE (1936 c, 1955) propôs a conceituação da " reação de alarme " e da " síndrome de adaptação geral " (GAS) às situações ou condições estressantes. Estudos neurofisiológicos posteriores estabeleceram a existência de mecanismos reguladores situados no diencéfalo e mesencéfalo (HESS, 1947, 1963) e identificaram o hipotálamo como a estrutura de controle funcional da adeno-hipófise (HARRIS, 1955). Paralelamente, a descoberta do fator liberador de corticotrofina, CRF (SAFFRAN e SCHALLY, 1955), permitiu evidenciar a função fisiológica do sistema porta-hipotálamo-hipofisário, descrito anteriormente por HARRIS (1955). Esses e outros estudos (SOURKES, 1984; KANT et alii, 1985, 1987; ARMARIO et alii, 1986; MAIER et alii, 1986; HOLSON et alii, 1988) estabeleceram as importantes interrelações entre o estresse e a atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. O aumento da atividade desse eixo está inequívoca e criticamente envolvido na regulação das mudanças comportamentais e fisiológicas determinadas por fatores estressantes (MAIER et alii, 1986).

De outro lado, MASON (1971) mostrou a existência de padrões diferentes de respostas endócrinas a diversas condições de estresse, estabelecendo, desta forma, a especificidade das

respostas humorais. O estresse afeta diferentes indivíduos de maneiras distintas. As respostas que induz não são discretas nem tampouco padronizadas, mas individuais e específicas (MASON, 1971) e dependentes da natureza do estressor (SELYE, 1950).

As respostas biológicas ao estresse incluem alterações dos sistemas cardiovascular e imunológico, bem como modificações da atividade neuronal e do comportamento. Essa diversidade de efeitos do estresse dá uma indicação clara de sua importância como estímulo fisiológico. No entanto, as bases bioquímicas do estresse são pouco entendidas devido, talvez, a complexidade dos eventos deflagrados pelo estressor. Um evento primário de todas as formas de estresse é a secreção do hormônio adreno-corticotrófico (ACTH) da hipófise anterior. Liberado na corrente sanguínea, o ACTH estimula a glândula adrenal a produzir glicocorticóides, que mediam uma miríade de respostas biológicas subsequentes (REISINE et alii, 1986).

Aceita-se que a maioria dos sistemas bioquímicos e fisiológicos sejam afetados pelo estresse (ANISMAN, 1978; QUIRCE e MACIKEL, 1981; VOGEL, 1987). Assim, a exposição aguda a várias modalidades de estímulos estressantes induz respostas fisiológicas marcantes e altera profundamente os comportamentos subsequentes em muitas espécies, inclusive a humana (HATTINGH, 1986). Eventos estressantes, como a aplicação de eletrochoque as patas ou natação forçada, entre outros, promovem uma variedade de fenômenos como modificações da atividade locomotora (KATZ e MANICK, 1984), da temperatura corporal (APPELBAUM e HOLTZMAN, 1984, 1985; SINGER et alii, 1986) e a manifestação de catalepsia

(BHATTACHARYA e PARMAR, 1985). Tais mudanças devem-se a ativação do eixo hipofise-adrenal com elevação dos níveis plasmáticos de ACTH, corticosterona, e do opioide beta - endorfina (KEIM e SIGG, 1976; KATZ e MANICK, 1984; MAKARA, 1985; HOLSON et alii, 1986; AVANZINO et alii, 1987). Talvez por isso, dentre as alterações comportamentais mais relatadas como resposta a estressores, aparece a elevação do limiar nociceptivo, isto é, a analgesia (BODNAR et alii, 1980; AKIL et alii, 1984; Terman et alii, 1983, 1984, 1986; NABESHIMA et alii, 1985; AMIT e GALINA, 1986).

A analgesia associada a diversas condições de estresse é atenuada ou reduzida pelo pré-tratamento com antagonistas opiáceos como a naloxona e a naltrexona (BODNAR et alii, 1978; KATZ e BALDRIGHI, 1983; GIRARDOT e HOLLOWAY, 1984; KAMATA et alii, 1986). Outras evidências para a participação dos sistemas opióides na mediação da analgesia induzida por estresse incluem a demonstração do desenvolvimento de tolerância analgesica cruzada a morfina e da liberação de peptídeos opióides ou alteração dos seus conteúdos em cérebros de animais submetidos a diferentes formas de estresse. Entretanto, a analgesia induzida pelo estresse (SIA = "stress induced analgesia") parece ser complexa, pois diversos estressores experimentais podem ativar diferentes vias inibitórias da dor (WATKINS e MAYER, 1982). Neste sentido, a analgesia induzida pelo estresse de natação em água quente envolve vias opioidérgicas, enquanto que aquela promovida pela natação em água fria não é mediada por opióides endógenos (O'CONNOR e CHIPKIN, 1984). Também a aplicação de eletrochoque nas patas promove diferentes formas de analgesia, na dependência



das características físicas do estímulo e da região corporal estimulada. A analgesia causada por choque intermitente nas patas é bloqueada por naloxona e mostra tolerância cruzada com a morfina, indicando uma mediação endógena opioidérgica, enquanto que o choque contínuo nas patas induz uma analgesia de natureza não opióide de mesma magnitude (LEWIS et alii, 1980, 1981). WATKINS et alii (1982 a, b) demonstraram que o choque nas patas dianteiras produz analgesia reversível por naloxona e tolerância cruzada à morfina, enquanto que a aplicação do choque nas patas traseiras promove analgesia não mediada por vias opioidérgicas.

A severidade do estresse parece ser fundamental na determinação da base neuroquímica da analgesia induzida pelo eletrochoque inescapável ou pela natação. O aumento da severidade do estresse (duração ou intensidade do choque contínuo, duração da natação ou temperatura da água) produz uma alteração na mediação da analgesia resultante, de sistemas opióides para outros não opióides (TERMAN et alii, 1986). Esses e outros experimentos demonstram claramente que a analgesia induzida por estresse possui componentes opióides e/ou não opióides (BODNAR et alii, 1978; LEWIS et alii, 1980, 1981; CANNON et alii, 1984; LEVINE et alii, 1984; AMIT e GALINA, 1986; HNATOWICH et alii, 1986; KAMATA et alii, 1986; TERMAN et alii, 1986).

Parece inequívoco, pelo exposto, que algumas respostas ao estresse são moduladas, pelo menos em parte, por opióides endógenos (BAILEY e KITCHEN, 1987; PRZWELOCKI et alii, 1987; LIGHTMAN e YOUNG, 1987; ZAGON e McLAUGHLIN, 1989). O choque

elétrico nas patas altera tanto os níveis plasmáticos de beta-endorfina, como os hipotalâmicos de Leu-encefalina (ROSSIER et alii, 1977, 1978). Adicionalmente, já se mostrou também que a administração aguda de agonistas (KOKKA et alii, 1973; EISENBERG, 1985) e antagonistas opióides (EISENBERG, 1980; JEZOVA et alii, 1982; SIEGEL et alii, 1982) modulam tanto a secreção basal de corticosterona quanto aquela induzida pelo estresse.

Além de modularem o limiar doloroso, os opióides influenciam uma ampla variedade de funções como respiração, regulação do apetite, temperatura, atividade motora, sono, aprendizado e memória, estados de recompensa e prazer (OLSON et alii, 1987; WOOD e YENGAR, 1988; SIMON e HILLER, 1989). Os peptídeos opióides regulam múltiplas funções neuroendócrinas, e têm sido implicados na etiologia de diversos distúrbios psiquiátricos (ver OLSON et alii, 1987, para revisão). Alterações funcionais de mecanismos opióides parecem, também, desempenhar papéis relevantes na epilepsia, tanto humana quanto experimental (ver TORTELLA, 1988, para revisão).

O emprego de técnicas eletrofisiológicas tem demonstrado que os opióides inibem a atividade de neurônios corticais e subcorticais, tendo ação excitatória ao nível do hipocampo (NORTH, 1979; ILLES, 1982; DINGLELINE, 1985; CHAVKIN, 1988). A demonstração de que a administração intracerebral de peptídeos opióides acarreta fenômenos epileptiformes (URCA et alii, 1977; HENRIKSEN et alii, 1978), tem levado à sugestão de que os opióides endógenos desempenham funções neuromodulatórias na ontogênese e fisiopatologia das crises epileptiformes.

As propriedades convulsivantes dos opiáceos são conhecidas há pelo menos 160 anos (ORFILA et alii, 1829; BROWN e FRASER, 1868; HOTTA, 1932; VOLAVKA et alii, 1970). Assim, há descrições de manifestações convulsivas comportamentais e eletrográficas provocadas por opiáceos em coelhos (CORRADO e LONGO, 1961; ALBUS e HERZ, 1972) e em ratos (VERDEAUX e MARTY, 1954). Mais recentemente, URCA et alii (1977) e HENRIKSEN et alii (1978), mostraram que a administração intra-cerebroventricular de morfina ou metionina-encefalina em ratos produz crises epileptiformes comportamentais e eletrográficas, revertidas pelo antagonista opiáceo naloxona. Por sua vez, YOUNG e KHAZAN (1984) relataram efeitos eletrográficos diferenciais de antagonistas seletivos de receptores opióides dos tipos  $\mu$  ( $\mu$ ),  $\kappa$  ( $\kappa$ ) e  $\sigma$  ( $\delta$ ).

A administração sistêmica de morfina aumenta o potencial epileptogênico da pilocarpina em ratos de forma dose-dependente e sensível a bloqueio pela naloxona (TURSKI et alii, 1985). Existem também relatos de redução, por mecanismos opióides, do limiar de crises induzidas por pentilenotetrazol em ratos, camundongos e cães (PRZEWLOCKA et alii, 1983; FREY et alii, 1986), e alterações na severidade de crises audiogênicas em camundongos (SCHREIBER, 1979). Ratos injetados com naloxona ou naltrexona apresentam uma redução das crises comportamentais provocadas por abrasamento ("kindling") da amígdala. Ainda nesta espécie, a morfina potencia os eventos pós-ictais, fortalecendo a hipótese do envolvimento dos opióides endógenos no desenvolvimento e/ou manutenção do foco nas crises induzidas por abrasamento da

amígdala (STONE et alii, 1982; MANSOUR e VALESTEIN, 1984).

Vários estudos têm evidenciado as propriedades anticonvulsivantes dos opiáceos (PLOTNIKOFF, 1976; COWAN et alii, 1979; MELDRUM et alii, 1979; BAJOREK e LOMAX, 1982; COTTRELL et alii, 1988). Tais compostos podem aumentar o limiar para crises induzidas por fluorotil (ADLER et alii, 1976; COWAN et alii, 1981; TORTELLA et alii, 1981; TORTELLA e COWAN, 1982), pentilenotetrazol (PRZEWLOCKA et alii, 1983), eletrochoque máximo (BERMAN e ADLER, 1984; GARANT e GALE, 1985; PUGLISI-ALLEGRA et alii, 1984, 1985; OLIVERIO et alii, 1985) e outros modelos experimentais de epilepsia (CHEN et alii, 1976; MELDRUM et alii, 1979; SCHREIBER, 1979; MASSOTTI et alii, 1984; FREY, 1986). Os peptídeos opióides parecem também estar envolvidos nos fenômenos pós-ictais (BELENKY e HOLADAY, 1979; FRENK et alii, 1979; HOLADAY e BELENKY, 1980; MISLOBODSKY et alii, 1981; TORTELLA et alii, 1981; URCA et alii, 1981; CALDECOTT-HAZARD e LIEBESKIND, 1982; CALDECOTT-HAZARD, 1983; LEE e LOMAX, 1985; GUEDES et alii, 1987).

Por outro lado, URCA e FRENK (1980) estabeleceram que a morfina, dependendo das condições experimentais, possui tanto propriedades próconvulsivantes como anticonvulsivantes em ratos. Na verdade, já foi demonstrada a existência de um balanço entre as propriedades excitatórias e inibitórias dos opiáceos. Nesse contexto, COWAN et alii (1979), baseados na capacidade dos opiáceos em mudar o limiar de crises convulsivas induzidas por fluorotil em ratos, propuseram uma divisão dos mesmos nos seguintes grupos: aqueles com efeito anticonvulsivante, como o

levorfanol; com efeito proconvulsivante, como a meperidina, ou sem efeitos evidentes nas convulsões, como a etilcetociclazocina. Esses achados foram posteriormente estendidos por TORTELLA et alii (1981), que observaram que a administração intracerebroventricular de opióides como a beta-endorfina e a etorfina eleva o limiar das convulsões provocadas por fluorotil em ratos.

Outros estudos mostraram que a administração central de beta-endorfina, Leu-encefalina e Met-encefalina induz crises epileptiformes eletroencefalográficas não convulsivas, possivelmente de origem límbica, (URCA et alii, 1977; FRENK et alii, 1978; HENRIKSEN et alii, 1978). Nesse sentido, a administração intracerebroventricular de Leu-encefalina produz crises eletrográficas e alterações comportamentais que são abolidas por drogas anticonvulsivantes específicas para a epilepsia do tipo "pequeno mal" como etossuximida, ácido valproico e trimetadiona. Esses achados sugerem a possibilidade de um envolvimento dos sistemas encefalinérgicos também com este tipo de epilepsia (SNEAD III e BEARDEN, 1980). Por outro lado, o abrasamento da amígdala promove um aumento significativo nos conteúdos encefalinérgicos cerebrais (VINDROLA et alii, 1981; MCGINTY et alii, 1986). Finalmente, existem evidências mostrando um aumento nos níveis cerebrais de Met-encefalina após injeção intracerebral de ácido kainico. Tal fato pode estar relacionado às crises motoras recorrentes induzidas por esta excitotoxina (HONG et alii, 1980), que são potenciadas pela administração prévia de morfina (SZITRIHA et alii, 1986).

Por outro lado, o aumento nos níveis desses opióides em várias regiões cerebrais durante as convulsões parece resultar numa prevenção de convulsões subsequentes, o que significa dizer que os opióides podem desempenhar, ainda, um papel protetor nas convulsões, como anticonvulsivantes endógenos. Tal sugestão está de acordo com os achados de que altas doses de naloxona induzem um fenômeno epileptiforme, que foi atribuído, em parte, ao bloqueio de mecanismos protetores mediado pelos opióides endógenos (CHUGANI et alii, 1984) e, em parte, talvez, a uma ação antagonista da naloxona em receptores de GABA (DINGLELINE et alii, 1978; SAGRATELLA e MASSOTTI, 1982). O papel anticonvulsivante dos opióides endógenos foi fortalecido pela observação de que a injeção intracerebral de líquido cefalorraquidiano, retirado de ratos submetidos a convulsões generalizadas por eletrochoque, eleva significativamente os limiares para convulsões induzidas por fluorotil em ratos receptores. Essa atividade anticonvulsivante é inibida por antagonistas opióides e potenciada por inibidores de peptidases, reforçando a idéia do envolvimento dos sistemas opióides endógenos na mesma (TORTELLA et alii, 1985a). Os peptídeos opióides endógenos parecem exercer uma ação inibitória sobre descargas epilépticas também em humanos (MOLAIE e KADZIELAWA, 1989).

Tem sido proposto que as propriedades anticonvulsivantes dos opiáceos e opióides sejam mediadas primariamente via receptores delta ou kappa (PRZEWLOCKA et alii, 1983; TORTELLA et alii, 1983, 1985; PUGLISI-ALLEGRA et alii, 1986). No entanto, não

se pode descartar a possibilidade de interações funcionais entre outros tipos de receptores opióides na modulação do limiar para convulsões provocadas por fluorotil (PUGLISI-ALLEGRA et alii, 1984; TORTELLA e HOLADAY, 1984; TORTELLA et alii, 1985).

A morfina, em particular, quando administrada sistemicamente, parece ativar um sistema epileptogênico em áreas subcorticais, mediado por receptores opióides do tipo delta, além de, em altas doses, ativar um sistema convulsivante não específico localizado no córtex e medula espinhal, não mediado por receptores opióides (IKONOMIDOU-TURSKI et alii, 1987). Adicionalmente, estudos utilizando a administração central de agonistas seletivos de receptores opióides sugerem que as crises do tipo pequeno mal representem uma resposta específica da Leu-encefalina e do receptor delta (SNEAD III e BEARDEN, 1980), ao passo que as convulsões generalizadas produzidas por morfina envolveriam os receptores mu (SNEAD III e BEARDEN, 1982) e, possivelmente, delta (MAGNAN et alii, 1982; KOSTERLITZ, 1985). A respeito da participação de diversos tipos de receptores opiáceos na modulação de crises epileptiformes, há ainda a possibilidade da participação de receptores do tipo kappa (MANSOUR e VALENSTEIN, 1985).

LEE et alii (1984) propuseram que as propriedades anticonvulsivantes dos opióides possam estar relacionadas às suas ações depressoras gerais sobre o Sistema Nervoso Central ou aos seus efeitos comportamentais resultantes da redução de aferências sensoriais. Alternativamente, os mesmos autores propuseram que esses efeitos anticonvulsivantes possam estar, também,

relacionados a alterações nas condições de estresse. De fato, algumas observações sugerem que o estresse ambiental e as influências neuroendócrinas deste modulam as crises convulsivas em gerbils (BAJOREK, 1981). Sabe-se, ainda, que os opiáceos reduzem as respostas ao estresse (GEORGE e LOMAX, 1972) e que a beta-endorfina é liberada junto com o ACTH em resposta a condições estressantes (GUILLEMIN et alii, 1977; HOLADAY e LOH, 1979). A beta-endorfina, por sua vez, possui efeitos anticonvulsivantes em gerbils (BAJOREK e LOMAX, 1982) e, como outros opióides, atua nas vias endógenas relacionadas as respostas ao estresse.

A literatura é escassa e controvertida a respeito do relacionamento entre estresse e susceptibilidade convulsiva. Há relatos de uma maior ocorrência de crises durante os períodos de estresse em humanos (TEMKIN e DAVIS, 1984) e em alguns modelos animais (KOPELOFF et alii, 1954; WADA et alii, 1972; WARD, 1972). CAIN e CORCORAN (1984, 1985) mostraram que estímulos estressantes podem exacerbar as crises induzidas por abrasamento em ratos, efeito este inibido pela naloxona, sugerindo que mecanismos opióides endógenos desempenham papel relevante na modulação das crises convulsivas. Por outro lado, OLIVERIO et alii (1983) demonstraram que o estresse de imobilização reduz a susceptibilidade de camundongos a convulsões induzidas por eletrochoque máximo, sendo esse efeito também bloqueado pelo pré-tratamento dos animais com antagonistas opiáceos (PUGLISI-ALLEGRA et alii, 1984). Em concordância com esses achados, peptídeos opióides endógenos liberados durante o



estresse reduzem a incidência e a severidade de convulsões espontâneas em gerbils (BAJOREK et alii, 1984), sendo estes efeitos sensíveis ao bloqueio por naloxona.

Os resultados conflitantes dos poucos estudos disponíveis tentando correlacionar diversas condições de estresse e sensibilidade convulsiva, aliados a complexidade da modulação do fenômeno convulsivo pelos sistemas opióides endógenos, levaram-nos ao estudo aqui apresentado. Nele, avaliamos a influência de duas modalidades de estresse, diferentes do ponto de vista comportamental: uma passiva, a imobilização a 4°C; outra ativa, a natação a 20°C, na susceptibilidade a convulsões induzidas por diferentes metodologias em camundongos. Estas metodologias são, por sua vez, modelos experimentais clássicos de epilepsias, do tipo 'grande mal' (eletrochoque transcorneal máximo) e 'pequeno mal' ou crises de ausência (químicochoque por pentilenotetrazol). O ácido 3-mercapto-propiónico tem sua atividade convulsiva atribuída a seu efeito inibitório sobre a síntese do ácido gama-amino-butírico (GABA; MARLEY et alii, 1986), enquanto que as convulsões desencadeadas audiogenicamente parecem estar relacionadas às monoaminas cerebrais (BIZIÈRE e CHAMBON, 1987).

Paralelamente, estudamos o limiar nociceptivo de animais submetidos às mesmas modalidades de estresse, avaliados por duas metodologias, a saber: o estímulo térmico numa placa-quente (mediado por ativação de receptores opióides do tipo mu) e o estímulo químico produzido pelo ácido acético (mediado provavelmente por receptores opióides do tipo mu e kappa). Como o fenômeno de analgesia induzida por estresse é bastante conhecido,

esse estudo paralelo foi conduzido para nos assegurar de que as situações experimentais empregadas promovessem uma condição de estresse efetiva. Assim, embora cientes de que a influência dos peptídeos opióides sobre a sensibilidade convulsiva parece ser mediada pela sua interação com sítios receptores específicos, diferentes anatomicamente e farmacologicamente daqueles que mediam a resposta analgésica aos opióides (FRENK et alii, 1978), consideramos imprescindível a realização de estudos do limiar nociceptivo. Em todas as avaliações procedidas, tanto nas que se referem a sensibilidade as convulsões, como naquelas concernentes ao limiar doloroso, a participação dos sistemas opióides endógenos foi inferida a partir da influência do pre-tratamento com um antagonista opiáceo clássico, a naloxona.



## 2. OBJETIVOS

O presente estudo teve como objetivos:

1. Analisar a influência de duas situações experimentais de estresse sobre a susceptibilidade de camundongos as convulsões induzidas por diferentes metodologias:
  - estímulo audiogenico (90-110 db)
  - pentilenotetrazol (60, 75 e 100 mg/kg i.p.)
  - ácido-3-mercapto-propiónico (10, 30 e 60 mg/kg i.p.)
  - eletrochoque transcorneal (25, 50 e 150 mA)
  
2. Verificar a eficácia dos metodos estressantes na promoção de analgesia em camundongos, avaliada por dois procedimentos:
  - placa-quente (55°C)
  - ácido-acético 0,6 % i.p.
  
3. Investigar a participação dos sistemas opióides endógenos na mediação destes efeitos, através do pré-tratamento dos animais com o antagonista opiáceo naloxona (1 e 10 mg/kg).



### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Animais

Foram empregados camundongos albinos suíços machos adultos, pesando entre 20 e 30 gramas, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina. Os animais foram mantidos em número de 20 por gaiola plástica (414 x 344 x 168 mm), em ambiente com temperatura controlada (22 +/- 1°C) e ciclo claro/escuro de 12 horas não revertido (ciclo claro entre 06:00 e 18:00 horas), com livre acesso à água e ração balanceada (LABINA, Purina Alim. Ltda.). Os animais permaneciam nos laboratórios de Psicofarmacologia por, pelo menos, uma semana antes de qualquer manipulação experimental. Cada animal foi utilizado uma única vez. Os experimentos foram realizados sempre no mesmo período do dia (08:00 - 12:00 horas), para evitar influências circadianas nos resultados.

#### 3.2. Procedimentos Gerais

Os animais foram, inicialmente, divididos em 3 grupos: um grupo controle e dois grupos experimentais submetidos a duas diferentes modalidades de estresse. Os camundongos do grupo controle foram mantidos em suas gaiolas-moradias, enquanto que os animais de um dos grupos experimentais foram imobilizados, individualmente, em tubos plásticos (80 x 26 mm de diâmetro, com

perfurações), sendo colocados em geladeira a 4°C, por 30 minutos (a partir deste momento esse grupo será denominado apenas "imobilização" ou "imobilizado" no texto). Os animais do outro grupo experimental foram submetidos, por 3 minutos, à natação forçada, em um recipiente plástico (700 x 460 x 210 mm) com água à temperatura ambiente, 20°C (designado como "natação" daqui em diante); após esse período, os camundongos foram deixados por 5 minutos em papel absorvente em uma gaiola plástica (303 x 193 x 126 mm), para secagem dos pelos.

Todos os grupos de animais, controle, imobilizado e submetido à natação, foram avaliados em relação a dois parâmetros: 1) susceptibilidade a convulsões e 2) analgesia, como descrito adiante, na presença ou ausência de naloxona (1 ou 10 mg/kg, via subcutânea). O pré-tratamento com a naloxona, um antagonista opiáceo clássico (WASACZ, 1981; MARTIN, 1984), ou com solução salina controle (NaCl 0,9%), foi realizado 30 minutos antes da avaliação da sensibilidade convulsiva ou do limiar doloroso nos três grupos de animais. Assim, no caso do grupo submetido à imobilização, a naloxona foi administrada imediatamente antes do início do estresse, e no grupo submetido à natação, 22 minutos antes dessa situação.

### 3.3. Avaliação da Susceptibilidade Convulsiva

Para estudar a influência do estresse e o papel dos

opióides endógenos na sensibilidade convulsiva dos animais, empregamos diferentes metodologias indutoras de convulsões, a saber: estimulação audiogênica, pentilenotetrazol, ácido 3-mercaptopropiônico e eletrochoque transcorneal.

### 3.3.1. *Convulsões induzidas por estímulo audiogênico*

Noventa animais foram submetidos a estimulação audiogênica numa caixa (320 x 225 mm de diâmetro), contendo uma fonte sonora de 90 - 120 decibéis e 10 - 20 kHz (FUNBEC), acionada no momento em que o animal era posicionado, individualmente, no centro da mesma. O estímulo sonoro era mantido até que o camundongo apresentasse manifestações convulsivas, ou, no máximo, por 120 segundos. A fonte sonora foi ligada 30 minutos após o pré-tratamento com naloxona ou salina em todos os grupos. A escala de graduação das respostas comportamentais à estimulação audiogênica está disposta na Tabela 1A.

### 3.3.2. *Convulsões induzidas por pentilenotetrazol*

Trinta minutos após o pré-tratamento com naloxona ou solução salina, isto é, imediatamente após o período de estresse, 270 camundongos foram injetados, via intraperitoneal, com diferentes doses de pentilenotetrazol (60, 75 e 100 mg/kg). Foram registrados a latência para o aparecimento do primeiro episódio convulsivo, a duração dessa primeira convulsão e o padrão da mesma e a letalidade do tratamento. A escala de graduação das



respostas convulsivas ao pentilenotetrazol está disposta na Tabela 18. O tempo máximo de observação foi de 30 minutos (1800 segundos).

### 3.3.3. *Convulsões induzidas por ácido 3-mercapto-propiónico*

Logo após a submissão dos animais às diferentes metodologias estressantes, 270 camundongos foram injetados com diferentes doses de ácido 3-mercapto-propiónico (3MP; 10, 30 e 60 mg/kg), por via intra-peritoneal. Foram registrados os mesmos parâmetros descritos em 3.3.2. para o pentilenotetrazol.

As observações comportamentais das convulsões induzidas quimicamente (pentilenotetrazol e ácido 3-mercapto-propiónico) foram feitas em caixas de vidro (270 x 150 x 175 mm), fechadas, providas de um chão telado.

### 3.3.4. *Convulsões induzidas por eletrochoque transcorneal*

Camundongos (n = 270) foram submetidos a um choque elétrico transcorneal emitido por uma fonte, com os seguintes parâmetros: pulsos retangulares de 25, 50 ou 150 mA de intensidade, a 60 Hz por 200 msec de duração, sendo registradas a durações do componente flexor e do extensor dessas convulsões induzidas ea letalidade do tratamento. Essa metodologia convulsivante foi aplicada aos animais imediatamente após o período de estresse, ou seja, 30 minutos depois do pré-tratamento com naloxona ou solução controle.

### 3.4. Avaliação da Nocicepção

#### 3.4.1. *Método da placa-quente ("hot-plate")*

Noventa camundongos foram colocados, individualmente, no centro de uma placa de alumínio suspensa num banho-maria a  $55 \pm 1^\circ \text{C}$ , e cobertos com um funil de vidro cônico (200 mm de diâmetro e altura máxima de 40 mm). O tempo de reação térmica de cada animal foi registrado como a latência para a manifestação do comportamento de lambe as patas e/ou pular na placa. Os animais foram retirados da placa assim que reagissem ao estímulo térmico ou, no máximo, 30 segundos após o início do teste. O mesmo procedimento foi repetido a cada 15 minutos por uma hora consecutiva ao período de estresse, após o pré-tratamento com naloxona ou salina.

#### 3.4.2. *Método das contorções abdominais ("writhing") induzidas por ácido acético*

Os animais ( $n = 180$ ) foram injetados, pela via intraperitoneal, com solução de ácido acético 0,6%. Após um período de 15 minutos, o número de contorções abdominais acompanhadas de extensão de, pelo menos, uma pata traseira, foi registrado por cinco minutos consecutivos. Num outro grupo, a avaliação do número de contorções abdominais após administração i.p. de ácido acético foi feita em 10 períodos consecutivos de 2 minutos cada (período total de observação de 20 minutos. Em ambos os grupos o estímulo doloroso químico foi aplicado 30

minutos após o pre-tratamento com naloxona ou solução controle e imediatamente após o período de estresse.

### 3.5. Drogas e vias de administração

- Ácido acético, P.A. (Reagen, Quimibrás Ind. Quim.S/A)
  - Ácido 3-mercaptopropiônico (Sigma Chem. Co.)
  - Naloxona, cloridrato de (Endo Labs.)
  - Pentilenotetrazol (Ind. e Com. Knoll S/A)
- (Para mecanismos de ação ver Tabela 2)

As drogas foram diluídas em solução fisiológica (NaCl 0,9%), sendo que o ácido 3-mercaptopropiônico teve seu pH ajustado para 6.8 com NaOH 0.1 N. Todas as soluções foram administradas em um volume de 0,1 ml/10 gramas de peso corporal.

A via subcutânea foi empregada para os pré-tratamentos com naloxona ou com solução salina controle (NaCl 0,9%). O ácido 3-mercaptopropiônico, o pentilenotetrazol e o ácido acético foram administrados por via intraperitoneal.

### 3.6. Análise estatística

A análise estatística da latência para o aparecimento de manifestações convulsivas induzidas por estimulação audiogênica foi procedida através de uma análise de variância (ANOVA) bidirecional, tendo como variáveis independentes a situação de estresse e o pré-tratamento com naloxona (Tabela I do APÊNDICE) .

Quando uma dessas variáveis apresentava significância estatística fazia-se uma análise univariada da mesma, seguida do teste de Newman-Keuls para comparações múltiplas.

A significância global nos parâmetros da manifestação convulsiva (latência, duração e grau) induzida por pentilenotetrazol foi detectada empregando-se uma ANOVA bidirecional, sendo a condição de estresse e o pre-tratamento as variáveis independentes (ver Tabelas II a VII do APÊNDICE). No caso de detecção de significância em algumas dessas variáveis, as comparações múltiplas entre os grupos controle e experimentais foram procedidas pelo teste de Newman-Keuls para cada uma das variáveis independentes, estresse ou pre-tratamento.

Os resultados relativos às convulsões induzidas por ácido 3-mercaptopropiônico foram analisados como descrito para o pentilenotetrazol, assim como aqueles obtidos com o eletrochoque transcorneal. Os dados estatísticos estão representados nas Tabelas VIII a XIII e XIV a XXII do APÊNDICE, respectivamente. Neste último, os parâmetros analisados foram o tempo de flexão, o tempo de extensão e a razão tempo de extensão/ tempo de flexão.

A severidade das convulsões induzidas pelas diferentes metodologias foi registrada com o auxílio de escalas e os graus atribuídos às respostas comportamentais foram analisados como já descrita, à exceção do emprego do teste de Dunn (não paramétrico) para as comparações múltiplas.

A incidência de mortes promovida pelos diversos agentes convulsivantes foi analisada pelo teste de Fisher.

A avaliação do limiar doloroso pelo método da placa -

quente foi analisada estatisticamente pelo mesmo metodo empregado para os outros dados parametricos , isto e, ANOVA bidirecional, com a condição de estresse e o pre-tratamento como variaveis independentes, para o tempo de reação termica obtido imediatamente apos a exposição ao estresse (Tabela XXIV do APÊNDICE). Quando alguma significancia era detectada para uma dessas variaveis, prosseguia-se à análise através do teste de Newman-Keuls para cada uma delas. Os dados referentes ao número total de contorções após o estímulo químico (ácido acético 0,6%), por 5 ou 20 minutos, foram tratados estatisticamente da mesma maneira (Tabelas XXV e XXVI do APÊNDICE).

As observações temporais da avaliação do limiar doloroso pelo método da placa-quente (1 hora a intervalos de 15 minutos) ou pela administração intraperitoneal de ácido acético (20 minutos a períodos consecutivos de 2 minutos) foram submetidos à análise tridirecional e estão representadas nas Tabelas XXIV e XXVI do APÊNDICE.

Considerou-se como indicativo de significância, em qualquer dos testes empregados, a existencia de um nível de probabilidade igual ou inferior a 5%.

Nas tabelas estão representadas as médias e os respectivos erros-padrões, relativos aos parâmetros observados experimentalmente. Nas figuras, a representação gráfica foi feita em porcentagem do valor médio observado no grupo pré-tratado com solução salina fisiológica, não submetido à condição de estresse.

Tabela 1 - Escalas de graduação de respostas comportamentais a diferentes metodologias convulsivantes.

-----  
 A) ESCALA DE RESPOSTAS A ESTIMULAÇÃO AUDIOGÊNICA (REA)  
 -----

Grau            Resposta comportamental

-----

- |   |                                     |
|---|-------------------------------------|
| 0 | Não responsivo (parado)             |
| 1 | Comportamento exploratório reduzido |
| 2 | Comportamento exploratório normal   |
| 3 | "Jumping"                           |
- 

-----  
 B) ESCALA DE REAÇÕES A CONVULSIVANTES QUÍMICOS (PTZ\*, 3MP\*)  
 -----

Grau            Resposta comportamental

-----

- |   |   |
|---|---|
| 0 | Não apresenta convulsões                                      |
| 1 | Apresenta uma convulsão clônica                               |
| 2 | Apresenta mais de uma convulsão clônica                       |
| 3 | Apresenta convulsão tônico e depois convulsão tônico-clônica  |
| 4 | Apresenta convulsão tônico-clônica e depois convulsão tônica. |
| 5 | Apresenta apenas convulsões tônico-clônicas                   |
| 6 | Apresenta convulsão tônico-clônica e, a seguir, morte         |
- 

\* PTZ = pentilenotetrazol; 3MP = ácido 3-mercaptopropiônico

TABELA 2 - Mecanismos de ação das drogas empregadas

DROGAS	PROVÁVEL MECANISMO DE AÇÃO	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS
Ácido 3-mercapto-propiónico	agente convulsivante; inibidor reversível de glutamato-descarboxilase, reduzindo assim a síntese e liberação de GABA.	MELDRUM (1975); LOSCHER (1979); MARLEY et alii (1986).
Naloxona	antagonista opiáceo clássico, com discreta seletividade para os receptores opiáceos do tipo mu.	WASACZ (1981); MAGNAN et alii (1982); YOUNG & WOODS (1982); MARTIN (1984).
Pentilenotetrazol	estimulante do S.N.C.; agente convulsivante; bloqueia ação pos-sináptica do GABA, provavelmente por se ligar diretamente ao sítio da picrotoxina no complexo receptor de GABA-benzodiazepínico-ionóforo de cloreto.	SIMMONDS (1980); SOUQUES et alii (1984).





## 4. RESULTADOS

### 4.1. Avaliação da susceptibilidade convulsiva

#### 4.1.1. *Convulsões induzidas por estímulo audiogênico*

A exposição de camundongos às duas condições de estresse, imobilização ou natação, promoveu um aumento na latência para o aparecimento da manifestação convulsiva induzida por estimulação audiogênica ( $P=0.028$ ), como pode ser verificado na Tabela 3 e Figura 1. Nos animais pré-tratados com NaCl 0.9%, esse aumento foi da ordem de 91%, tanto em camundongos submetidos a imobilização quanto naqueles sujeitos a natação, em relação aos animais controle não estressados.

O pré-tratamento de animais não estressados com naloxona (1 ou 10 mg/kg) produziu uma ampliação da latência ao aparecimento da manifestação convulsiva induzida por estimulação sonora. No entanto, esse pré-tratamento não influenciou a reatividade de camundongos estressados ao estímulo sonoro ( $P=0,232$ ).

Os dados referentes à análise estatística desse parâmetro são apresentados na Tabela I do APÊNDICE e indicam, ainda, uma interação significativa entre a condição de estresse e o pré-tratamento ( $P=0,002$ ).

TABELA 3 - Influência de duas modalidades de estresse sobre a latência para aparecimento da primeira manifestação convulsiva induzida por estimulação sonora (90 - 110 db; 60 Hz) período máximo = 60 segundos).

CONDIÇÃO DE ESTRESSE	TRATAMENTO	DOSE (mg/kg) S.C.	LATÊNCIA (segundos) (x +/- E.P.M.)	%	N
Imobilização no frio (4° C)	Salina	-	31,4 +/- 7,9	100	10
	Naloxona	1	53,5 +/- 5,1	174	10
	Naloxona	10	56,5 +/- 3,5	180	10
Natação (3 min)	Salina	-	60,0 +/- 0,0**	191	10
	Naloxona	1	60,0 +/- 0,0	191	10
	Naloxona	10	54,7 +/- 5,3	174	10
Natação (3 min)	Salina	-	60,0 +/- 0,0**	191	10
	Naloxona	1	54,6 +/- 5,4	174	10
	Naloxona	10	54,5 +/- 5,5	174	10

% = porcentagem em relação ao grupo controle não estressado, dentro do mesmo pre-tratamento (ANOVA  $p < 0.01$  seguido do teste de Newman-Keuls).

\*\* = estatisticamente significativo em relação ao grupo não estressado, dentro do mesmo pre-tratamento ( $p < 0.01$ ; ANOVA seguido do teste de Newman-Keuls).

Latência média para a 1ª manifestação convulsiva

(% do controle  $\pm$  e.p.m.)

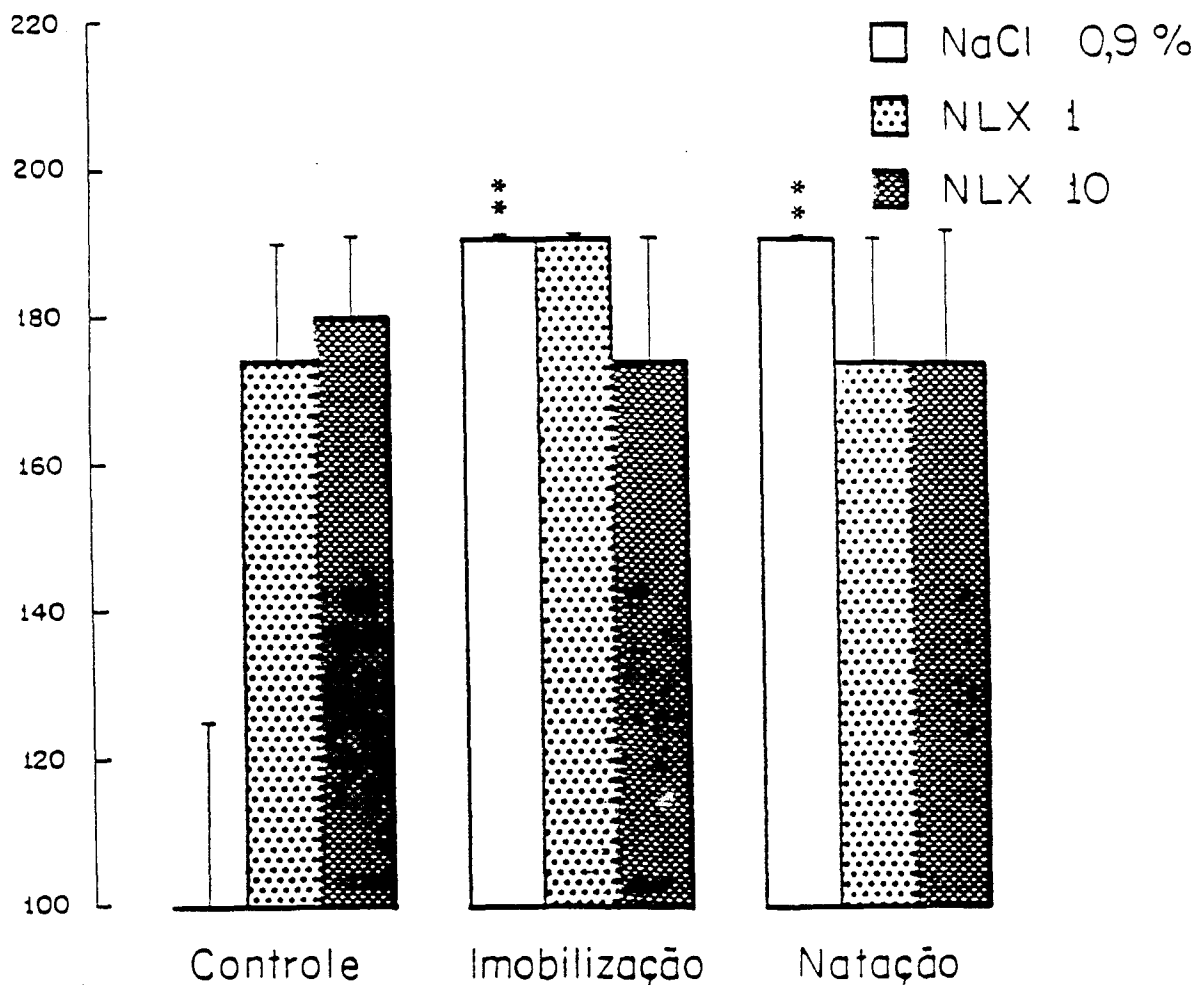


FIGURA 1 - Efeito do pre-tratamento com naloxona 1 ou 10 mg/kg s.c. (NLX 1 ou NLX 10), sobre a influência de duas modalidades de estresse, imobilização do frio e natação, na latência para o aparecimento da primeira manifestação convulsiva induzida por estimulação sonora (90-110 db; 60 Hz; período máximo = 60 segundos). \*\* = estatisticamente significante em relação ao grupo não estressado, dentro do mesmo pre-tratamento ( $p < 0.01$ ; ANOVA seguido do teste de Newman-Keuls).

#### 4.1.2. Convulsões induzidas por pentilenotetrazol

Animais pré-tratados com solução salina e sujeitos à imobilização ou à natação apresentaram um aumento da latência para a primeira convulsão induzida por 60 e 75 mg/kg de pentilenotetrazol (Tabelas 4 e 5; Figura 2). Este aumento, no entanto, só foi estatisticamente significante para o grupo sujeito a natação com PTZ 60 ( $P=0,008$ ; Tabela II do APÊNDICE), e para aquele submetido a imobilização com pentilenotetrazol 75 mg/kg ( $P<0,001$ ; Tabela IV do APÊNDICE).

O pré-tratamento com naloxona 1 ou 10 mg/kg não alterou de forma significante essas latências para convulsões induzidas por pentilenotetrazol 60 (Tabela II do APÊNDICE) ou 75 mg/kg ( $P=0,245$ ; Tabela IV do APÊNDICE).

Com o emprego de 100 mg/kg de pentilenotetrazol, os efeitos das duas situações de estresse ficaram mais evidentes. (Tabela 6 e Figura 2). A exposição dos animais ao estresse por imobilização ou por natação promoveu um aumento significante da latência para o aparecimento da primeira convulsão ( $P < 0,001$ ; Tabela VI do APÊNDICE). O pré-tratamento com naloxona (1 ou 10 mg/kg) potenciou significamente a magnitude desse efeito em ambas as modalidades de estresse ( $P<0,001$ ; Tabela VI do APÊNDICE).

No entanto, em relação à duração das convulsões induzidas por pentilenotetrazol 60, 75 ou 100 mg/kg, não foram detectadas influências significativas das duas modalidades de estresse e/ou do pré-tratamento com naloxona 1 ou 10 mg/kg (Tabelas 4, 5 e 6), à exceção do grupo sujeito à imobilização pré-tratado com ambas

TABELA 4 - Influência da exposição aguda de camundongos a duas modalidades de estresse sobre os parâmetros da primeira convulsão induzida por 60 mg/kg de pentilenotetrazol i.p.

CONDIÇÃO DE ESTRESSE	TRATAMENTO	DOSE (mg/kg)	LATÊNCIA (segundos)	%	DURAÇÃO (segundos)	%	N
-	Salina	-	1051,7 +/- 210,2	100	9,8 +/- 2,9	100	10
	Naloxona	1	927,2 +/- 202,4	88	14,4 +/- 3,5	147	10
	Naloxona	10	929,3 +/- 242,4	88	15,1 +/- 4,9	154	10
Imobilização no frio (4° C)	Salina	-	1477,7 +/- 166,7	141	5,5 +/- 2,9	56	10
	Naloxona	1	1506,9 +/- 195,9	143	4,5 +/- 3,5	46	10
	Naloxona	10	1351,5 +/- 185,4	129	10,2 +/- 4,4	104	10
Natação (3 min)	Salina	-	1689,8 +/- 110,2*	161	4,7 +/- 4,7	48	10
	Naloxona	1	1487,9 +/- 159,6*	141	6,6 +/- 3,4	67	10
	Naloxona	10	1474,6 +/- 172,8	140	8,1 +/- 4,5	83	10

% = porcentagem em relação ao grupo controle não estressado.

N = Número de animais empregados.

\* = estatisticamente significativo em relação ao grupo não estressado, dentro do mesmo pre-tratamento (p < 0.05; ANOVA seguido do teste de Newman-Keuls).

TABELA 5 - Influência da exposição aguda de camundongos a duas modalidades de estresse sobre os parâmetros da primeira convulsão induzida por 75 mg/kg de pentilenoetrazol i.p.

CONDIÇÃO DE ESTRESSE	TRATAMENTO	DOSE (mg/kg)	LATÊNCIA (segundos)	%	DIREÇÃO (segundos)	%	N
		S.C.	( $\bar{x}$ +/- E.F.M.)		( $\bar{x}$ +/- E.F.M.)		
-	Salina	-	130,8 +/- 31,4	100	10,2 +/- 2,3	100	10
	Naloxona	1	66,5 +/- 4,1	51	12,1 +/- 1,9	119	10
	Naloxona	10	146,8 +/- 39,7	112	9,8 +/- 0,3	96	10
Imobilização no frio (4° C)	Salina	-	672,2 +/- 144,7*	514	5,8 +/- 1,0*	57	10
	Naloxona	1	506,7 +/- 209,5*	449	5,6 +/- 1,6*	55	10
	Naloxona	10	857,8 +/- 228,1*	656	10,2 +/- 4,4	43	10
Natação (3 min)	Salina	-	566,4 +/- 212,7	433	8,0 +/- 1,5	78	10
	Naloxona	1	100,0 +/- 15,3	76	14,5 +/- 2,2	142	10
	Naloxona	10	349,5 +/- 165,4	267	8,3 +/- 2,7	81	10

% = porcentagem em relação ao grupo controle não estressado.

N = Número de animais empregados.

\* = estatisticamente significativo em relação ao grupo não estressado, dentro do mesmo pré-tratamento ( $p < 0.05$ ; ANOVA seguido do teste de Newman-Keuls).

TABELA 2 - INFLUÊNCIA DA EXPOSIÇÃO AGUDA DE CAMUNDONGOS A DUAS MODALIDADES DE ESTRESSE SOBRE OS PARÂMETROS DE PRIMEIRA CONVULSÃO INDUZIDA POR 100 mg/kg de pentilenotetrazol i.p.

CONDIÇÃO DE ESTRESSE	TRATAMENTO	DOSE (mg/kg)	LATÊNCIA (segundos)	%	DURAÇÃO	
					(x +/- E.P.M.)	(segundos)
-	Salina	-	248,6 +/- 35,1	100	23,7 +/- 1,7	100
	Naloxona	1	222,0 +/- 37,2	89	22,0 +/- 3,5	93
	Naloxona	10	294,5 +/- 64,5	118	17,3 +/- 1,2	73
Imobilização no frio (4°C)	Salina	-	501,1 +/- 89,4*	202	25,0 +/- 6,5	105
	Naloxona	1	755,1 +/- 152,5*	304	29,1 +/- 5,2	123
	Naloxona	10	1041,6 +/- 148,6**	419	17,0 +/- 2,9	75
Natação (3 min)	Salina	-	538,9 +/- 79,7*	217	25,8 +/- 3,0	109
	Naloxona	1	517,2 +/- 111,3	208	28,4 +/- 4,1	120
	Naloxona	10	975,5 +/- 209,5* +	392	19,2 +/- 5,1	81

% = porcentagem em relação ao grupo controle não estressado.

N = Número de animais empregados.

\* = estatisticamente significativo em relação ao grupo não estressado, dentro do mesmo pre-tratamento (p < 0.05; ANOVA seguido do teste de Newman-Kuels).

+ = estatisticamente significativo em relação ao pre-tratamento com naloxona, dentro de uma mesma condição de estresse (p < 0.05; ANOVA seguido do teste de Newman-Kuels)

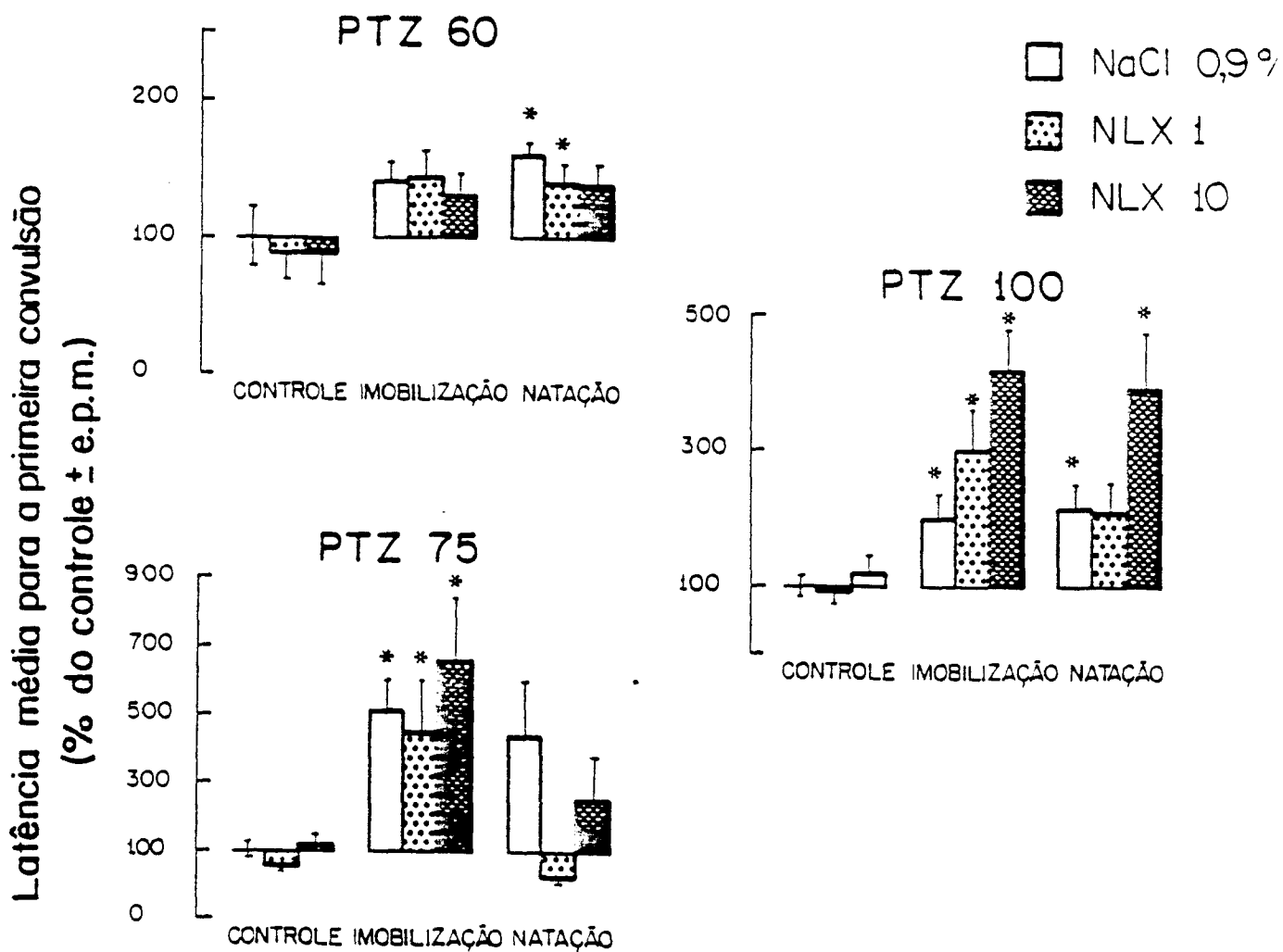


FIGURA 2 - Efeito do pre-tratamento com naloxona 1 ou 10 mg/kg s.c. (NLX 1 ou NLX 10), sobre a influencia de duas modalidades de estresse, imobilização no frio e natação, na latencia para o aparecimento da primeira convulsão induzida por pentilenotetrazol 60 (PTZ 60), 75 (PTZ 75) ou 100 (PTZ 100) mg/kg i.p., imediatamente apos o periodo de estresse, em camundongos. \* = estatisticamente significativa em relação ao grupo não estressado, dentro do mesmo pre-tratamento (p < 0.05, ANOVA seguido do teste de Newman-Keuls).



as doses de naloxona ( $P < 0,005$ ; Tabela 5) e 75 mg/kg de pentilenotetrazol. A análise estatística está apresentada nas Tabelas III ( $P = 0,124$ ), V ( $P < 0,001$ ) e VII ( $P = 0,064$ ) do APÊNDICE, respectivamente.

#### 4.1.3. Convulsões induzidas por ácido 3-mercaptopropiônico

Camundongos submetidos às duas modalidades de estresse, imobilização ou natação, mostraram um aumento da latência para o aparecimento da primeira manifestação convulsiva induzida por ácido 3-mercaptopropiônico, como pode ser observado nas Tabelas 7, 8 e 9 e Figura 3 ( $P < 0,001$ ,  $P < 0,01$  e  $P < 0,02$ , respectivamente; Tabelas VIII, IX e X do APÊNDICE). A análise estatística desses dados mostrou significância em todos esses grupos, a exceção do grupo submetido à natação pré-tratado com solução salina, cuja convulsão foi induzida por 10 mg/kg de ácido 3-mercaptopropiônico (Tabela 7).

De forma geral, o pré-tratamento com o antagonista opiáceo naloxona (1 ou 10 mg/kg) potencializou essas alterações induzidas pelas situações de estresse (Tabelas 7, 8 e 9 e Figura 3), sendo este efeito mais evidente para a maior dose em alguns grupos ( $P < 0,05$ ; Tabelas VII, IX e X do APÊNDICE), à exceção naqueles animais submetidos à natação. O pré-tratamento com naloxona de animais não estressados não alterou significativamente a latência para a primeira convulsão (Tabela 7, 8 e 9 e Figura 3).

A Tabela VII do APÊNDICE mostra que houve uma interação

CONDICÃO DE ESTRESSE	TRATAMENTO	DOSE (mg/kg)	LATÊNCIA (segundos)	DURAÇÃO (segundos)	%	N
-	Salina	-	215,0 +/- 12,5	10,8 +/- 1,6	100	10
	Naloxona	1	299,2 +/- 29,5	12,9 +/- 1,8	139	10
	Naloxona	10	206,7 +/- 26,8	7,8 +/- 0,9	96	10
Imobilização no frio (4°C)	Salina	-	470,0 +/- 87,7*	19,5 +/- 4,0*	219	10
	Naloxona	1	517,2 +/- 43,4**	11,2 +/- 0,9	241	10
	Naloxona	10	706,6 +/- 83,8***	40,2 +/- 8,1**	329	10
Natação (3 min)	Salina	-	330,4 +/- 15,2*	12,6 +/- 0,9	154	10
	Naloxona	1	373,6 +/- 20,2	10,1 +/- 1,4	174	10
	Naloxona	10	406,3 +/- 31,1**	10,9 +/- 2,5	189	10

% = porcentagem em relação ao grupo controle não estressado.

N = Número de animais empregados.

\* = estatisticamente significativo em relação ao grupo não estressado, dentro do mesmo pre-tratamento (p < 0.05; \*\* =

p < 0.01; ANOVA seguido do teste de Newman-Kuels).

+ = estatisticamente significativo em relação ao pre-tratamento com naloxona, dentro de uma mesma condição de estresse

(p < 0.05; ANOVA seguido do teste de Newman-Kuels).

TABELA 8 - Influência da exposição aguda de camundongos a duas modalidades de estresse sobre os parâmetros da primeira convulsão induzida por 30 mg/kg de ácido 3-mercaptopropionico i.p.

CONDIÇÃO DE ESTRESSE	TRATAMENTO	DOSE (mg/kg)	LATÊNCIA (segundos)		DURAÇÃO (segundos)	
			(x +/- E.P.M.)	%	(x +/- E.P.M.)	%
	Salina	-	118,8 +/- 12,5	100	13,6 +/- 1,1	100
	Naloxona	1	96,8 +/- 9,0	81	16,2 +/- 2,6	119
	Naloxona	10	112,6 +/- 10,6	95	12,1 +/- 1,8	89
Imobilização no frio (4°C)	Salina	-	207,7 +/- 11,5*	175	14,6 +/- 2,5	107
	Naloxona	1	246,7 +/- 12,5*	208	16,6 +/- 3,8	122
	Naloxona	10	321,4 +/- 39,4*	271	10,5 +/- 1,1	77
Natação (3 min)	Salina	-	285,8 +/- 17,9*	241	19,9 +/- 0,6*	146
	Naloxona	1	279,0 +/- 10,7*	235	25,8 +/- 3,7	190
	Naloxona	10	268,2 +/- 13,3*	226	14,3 +/- 1,3	105

% = porcentagem em relação ao grupo controle não estressado.

N = Número de animais empregados.

\* = estatisticamente significativo em relação ao grupo não estressado, dentro do mesmo pre-tratamento ( $p < 0.05$ ; ANOVA seguido do teste de Newman-Keuls).

TABELA 9 - Influência da exposição aguda de camundongos a duas modalidades de estresse sobre os parâmetros da primeira convulsão induzida por 60 mg/kg de ácido 3-mercaptopropionico i.p.

CONDIÇÃO DE ESTRESSE	TRATAMENTO	DOSE (mg/kg) S.C.	LATÊNCIA (segundos) (x +/- E.P.M.)	%	DURAÇÃO (segundos) (x +/- E.P.M.)	%	N
-	Salina	-	161,7 +/- 13,1	100	25,1 +/- 6,7	100	10
	Naloxona	1	141,0 +/- 10,6	87	12,5 +/- 1,0	50	10
	Naloxona	10	140,7 +/- 9,2	87	22,7 +/- 4,8	90	10
Imobilização no frio (4°C)	Salina	-	268,2 +/- 33,0*	166	13,9 +/- 2,0	55	10
	Naloxona	1	335,5 +/- 50,9*	207	9,0 +/- 0,6	36	10
	Naloxona	10	287,5 +/- 39,9*	178	10,5 +/- 2,1	42	10
Natação (3 min)	Salina	-	243,1 +/- 14,3*	150	20,8 +/- 3,4	83	10
	Naloxona	1	254,7 +/- 8,7*	158	15,1 +/- 3,4	61	10
	Naloxona	10	318,4 +/- 46,3*	197	20,0 +/- 9,5	60	10

% = porcentagem em relação ao grupo controle não estressado.

N = Número de animais empregados.

\* = estatisticamente significativo em relação ao grupo não estressado, dentro do mesmo pré-tratamento (p < 0.05; ANOVA seguido do teste de Newman-Keuls).

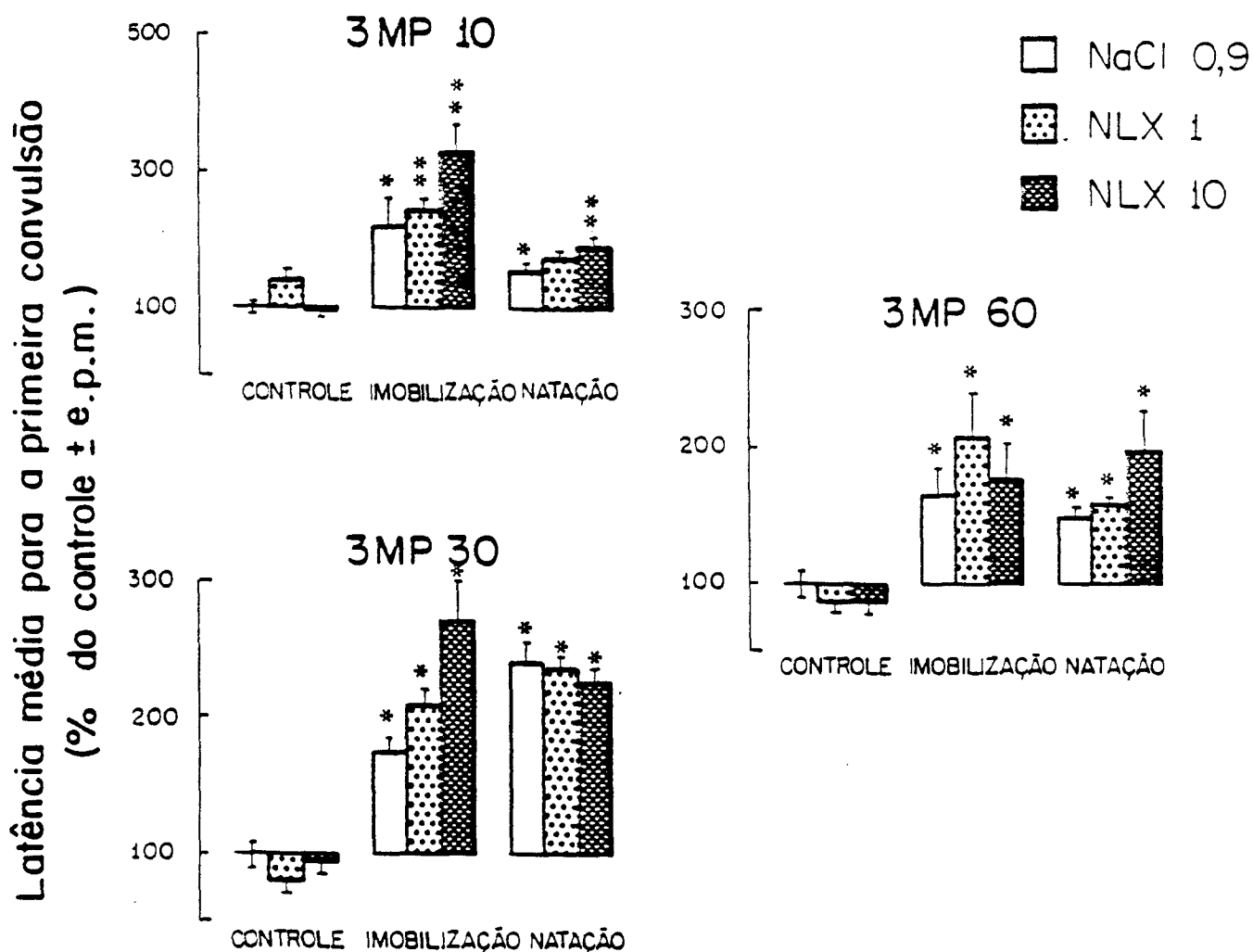


FIGURA 3 - Efeito do pré-tratamento com naloxona 1 ou 10 mg/kg s.c. (NLX 1 ou NLX 10), sobre a influência de duas modalidades de estresse, imobilização no frio e natação na latência para o aparecimento da primeira convulsão induzida por ácido 3-mercaptopropiónico, 10 (3MP 10), 30 (3MP 30) ou 60 (3MP 60) mg/kg i.p., imediatamente após o período de estresse, em camundongos. Estatisticamente significante em relação ao grupo não estressado, dentro do mesmo pré-tratamento (\*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; ANOVA seguido do teste de Newman-Keuls).

significante entre os dois fatores, condição de estresse e pré-tratamento, influenciando o parâmetro latência para a primeira manifestação convulsiva apenas quando se empregou 10 mg/kg de ácido 3-mercaptopropiônico ( $P = 0,029$ ).

A duração da primeira manifestação convulsiva induzida por 10, 30 ou 60 mg/kg de ácido 3-mercaptopropiônico, entretanto, não foi significativamente alterada nem pela exposição às duas situações de estresse, nem pelo pré-tratamento com naloxona 1 ou 10 mg/kg (Tabelas 7, 8 e 9, bem como, Tabelas XI, XII e XIII do APÊNDICE).

#### 4.1.4. *Convulsões por eletrochoque transcorneal*

A exposição de animais às duas modalidades de estresse, imobilização e natação, induziu pequenas alterações não significantes do "tempo de flexão" da convulsão promovida por eletrochoque transcorneal (25, 50 ou 150 mA). O pré-tratamento com naloxona (1 ou 10 mg/kg s.c.) não alterou essencialmente esse parâmetro em qualquer das correntes empregadas, como pode ser denotado nas Tabelas 10, 11 e 12 (e Tabelas XIV, XV e XVI do APÊNDICE).

Em relação ao parâmetro "tempo de extensão", nem a condição de imobilização, nem a de natação, alteraram a magnitude desse parâmetro quando intensidades de corrente de 25 ( $P=0,381$ ) ou 50 ( $P=0,381$ ) mA foram empregados para a indução das convulsões (Tabelas 10 e 11 e XVII e XVIII do APÊNDICE). No entanto, com o emprego de 150 mA observou-se um aumento estatisticamente

significante desse parâmetro (Tabela 12 e XIX do APÊNDICE). O antagonista opiáceo naloxona não promoveu quaisquer modificações no tempo de extensão, em nenhuma das correntes empregadas (Tabela 10, 11 e 12, bem como XVII, XVIII e XIX do APÊNDICE).

A análise da razão tempo de extensão/tempo de flexão mostrou que os animais expostos as duas modalidades de estresse apresentaram um aumento significativo dessa razão apenas nos animais estressados pré-tratados com ambas as doses de naloxona submetidos à maior corrente indutora de convulsões (150 mA), em comparação com os respectivos grupos controle ( $P < 0,001$ ), como pode ser verificado nas Tabelas 10, 11 e 12, bem como XX, XXI e XXII do APÊNDICE e Figura 4).

O pré-tratamento com naloxona (1 ou 10 mg/kg) não alterou significativamente essa razão em nenhuma das correntes utilizadas para indução de convulsões, em animais não estressados.

Analisaram-se também os parâmetros relativos a um segundo episódio convulsivo induzido pelas diversas metodologias convulsivantes, quando o mesmo ocorreu, além da incidência de convulsões em cada grupo. Em razão da não existência de significância estatística entre os grupos experimentais e controle, quanto a esses parâmetros, considerou-se dispensável sua apresentação.

#### 4.1.5. *Severidade das convulsões induzidas por diversos agentes*

A análise das respostas comportamentais de camundongos

TABELA 10 - Influência da exposição aguda de camundongos a duas modalidades de estresse sobre os parâmetros da primeira convulsão induzida por eletrochoque transcorneal máximo (25 mA).

CONDIÇÃO DE ESTRESSE	TRATAMENTO	DOSE (mg/kg)	TEMPO DE FLEXÃO (TF)		TEMPO DE EXTENSÃO (TE)		%	TE/TF	%	N
			(segundos)	(x +/- E.P.M.)	(segundos)	(x +/- E.P.M.)				
-	Salina	-	1,3 +/- 0,1	100	10,2 +/- 0,5	100	8,7 +/- 0,9	100	10	
	Naloxona	1	1,7 +/- 0,3	1310	10,7 +/- 1,3	104	7,6 +/- 2,1	87	10	
	Naloxona	10	0,9 +/- 0,1	69	10,1 +/- 0,9	99	11,6 +/- 0,9	133	10	
Imobilização no frio (4°C)	Salina	-	1,8 +/- 0,6	138	10,9 +/- 2,2	106	12,1 +/- 2,2	139	10	
	Naloxona	1	0	0	0	0	0	0	10	
	Naloxona	10	1,0 +/- 0,1	77	18,6 +/- 2,1	185	18,2 +/- 2,2	209	10	
Natação (3 min)	Salina	-	1,9 +/- 0,3	146	13,8 +/- 0,9	135	7,8 +/- 1,0	89	10	
	Naloxona	1	1,6 +/- 0,2	123	14,8 +/- 1,6	145	0,8 +/- 1,0	9	10	
	Naloxona	10	0,9 +/- 0,1	69	14,1 +/- 0,6	138	18,0 +/- 3,1	207	10	

% = porcentagem em relação ao grupo controle não "estressado".

N = Número de animais empregados.

+ = estatisticamente significativo em relação ao pré-tratamento com naloxona, dentro de uma mesma condição de "stress"

(p < 0.05; ANOVA seguido do teste de Newman-Keuls).



TABELA 11 - Influência da exposição aguda de camundongos a duas modalidades de estresse sobre os parâmetros da primeira convulsão induzida por eletrochoque transcorneal (50 mA).

CONDICÃO DE ESTRESSE	TRATAMENTO	DOSE (mg/kg)	TEMPO DE FLEXÃO (TF)		TEMPO DE EXTENSÃO (TE)		N
			(segundos)	%	(segundos)	%	
		s.c.	(x +/- E.P.M.)		(x +/- E.P.M.)		(X +/- E.P.M.)
	Salina	-	1,1 +/- 0,1	100	12,7 +/- 0,9	100	12,7 +/- 1,0 100 10
	Naloxona	1	0,9 +/- 0	87	12,1 +/- 1,3	95	14,5 +/- 1,0 114 10
	Naloxona	10	1,0 +/- 0,1	96	17,2 +/- 0,9	135	17,3 +/- 1,3 136 10
Imobilização no frio (4°C)	Salina	-	0,2 +/- 0,2	19	1,9 +/- 1,8	15	1,0 +/- 0,9 7 10
	Naloxona	1	1,7 +/- 0,3+	162	26,7 +/- 3,7	210	15,1 +/- 2,6 118 10
	Naloxona	10	0,3 +/- 0,1	32	9,4 +/- 4,5	74	8,6 +/- 4,2 67 10
Natação (3 min)	Salina	-	0,8 +/- 0,1	72	12,5 +/- 2,0	98	13,2 +/- 2,2 104 10
	Naloxona	1	1,2 +/- 0,2	109	17,9 +/- 0,9	141	18,7 +/- 2,1 147 10
	Naloxona	10	0,9 +/- 0,1	83	18,5 +/- 2,2	145	19,0 +/- 2,2 149 10

% = porcentagem em relação ao grupo controle não "estressado".

N = Número de animais empregados.

+ = estatisticamente significativo em relação ao pré-tratamento com naloxona, dentro de uma mesma condição de estresse

( p < 0,05; ANOVA seguido do teste de Newman-Kuels).

TABELA 12 - Influência da exposição aguda de camundongos a duas modalidades de estresse sobre os parâmetros da primeira convulsão induzida por eletrochoque transcorneal máximo (150 mA).

CONDIÇÃO DE "STRESS"	TRATAMENTO	DOSE (mg/kg)	TEMPO DE FLEXÃO (TF) (segundos)	%	TEMPO DE EXTENSÃO (TE) (segundos)	%	TE/TF	%	N
		S.C.	(x +/- E.P.M.)		(x +/- E.P.M.)		(x +/- E.P.M.)		
-	Salina	-	2,0 +/- 0	100	13,7 +/- 0,5	100	6,9 +/- 0,3	100	10
	Naloxona	1	2,0 +/- 0	100	13,0 +/- 0,9	95	6,5 +/- 0,4	100	10
	Naloxona	10	2,0 +/- 0,2	100	11,4 +/- 1,2	84	5,8 +/- 0,5	84	10
Imobilização no frio (4°C)	Salina	-	2,3 +/- 0,2	115	19,3 +/- 1,9**	141	9,0 +/- 1,0*	131	10
	Naloxona	1	2,0 +/- 0	100	21,6 +/- 1,8**	158	10,8 +/- 0,9*	157	10
	Naloxona	10	2,1 +/- 0,1	106	18,9 +/- 1,2**	138	9,1 +/- 0,7*	132	10
Natação (3 min)	Salina	-	2,1 +/- 0,1	105	17,4 +/- 1,0**	127	8,3 +/- 0,4*	121	10
	Naloxona	1	1,9 +/- 0,1	95	20,8 +/- 1,1*	152	11,3 +/- 0,9*	165	10
	Naloxona	10	2,0 +/- 0,1	100	19,7 +/- 1,3**	144	10,1 +/- 0,6*	147	10

% = porcentagem em relação ao grupo controle não estressado.

N = Número de animais empregados.

\* = estatisticamente significativo em relação ao grupo não estressado, dentro do mesmo pré-tratamento ( $p < 0.05$ ; \*\* =  $p < 0.01$ ; ANOVA seguido do teste de Newman-Keuls).

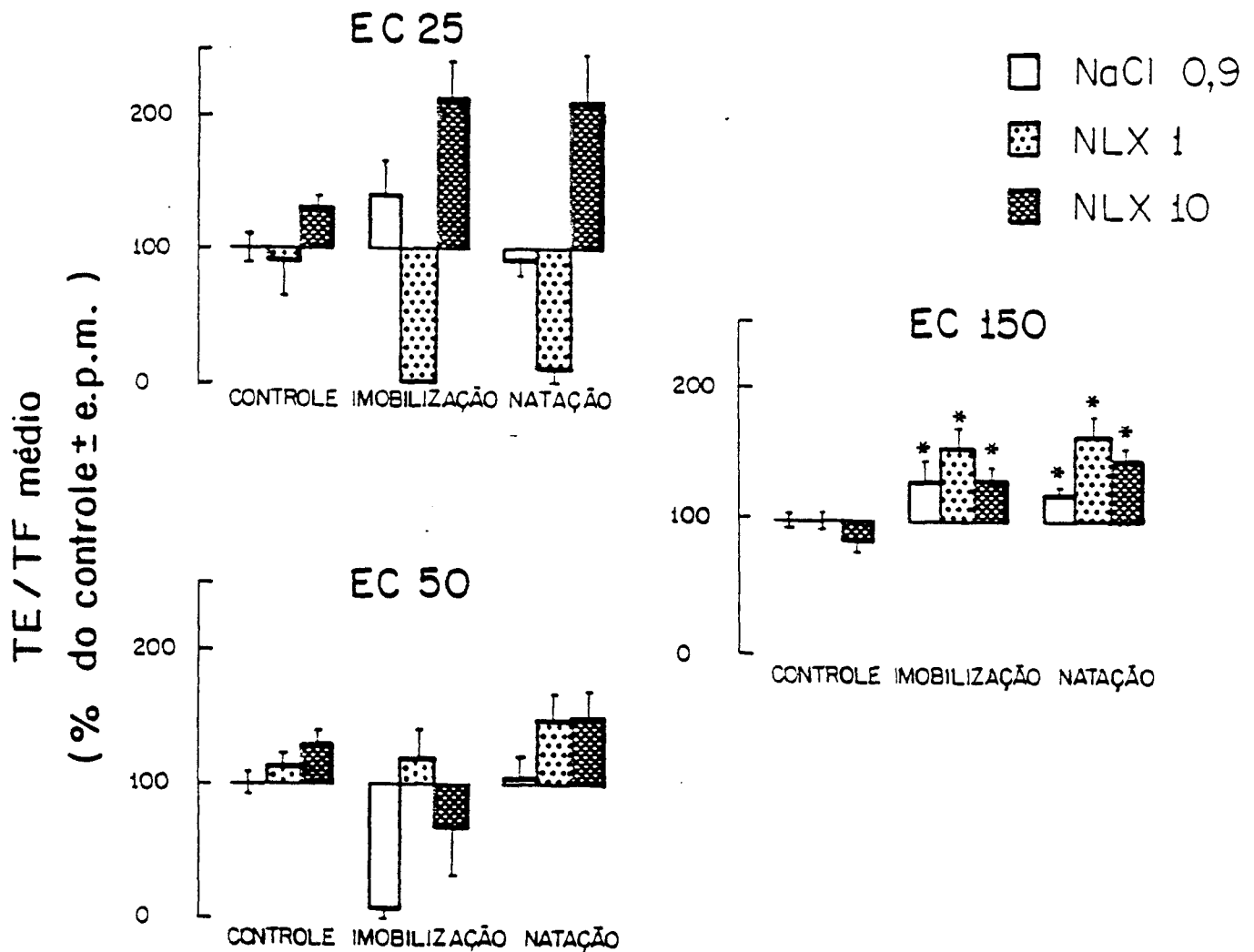


FIGURA 4 - Efeito do pré-tratamento com naloxona 1 ou 10 mg/kg s.c. (NLX 1 ou NLX 10) sobre a influência de duas modalidades de estresse, imobilização no frio e natação, na relação tempo de extensão/tempo de flexão (TE/TF) da convulsão induzida por eletrochoque transcorneal 15 (EC 15), 50 (EC 50) ou 150 (EC 150) mA, imediatamente após o período de estresse, em camundongos.

\* = estatisticamente significante em relação ao grupo não estressado, dentro do mesmo pré-tratamento ( $p < 0.05$ ; ANOVA seguido do teste de Newman-Keuls).

controle, ou submetidos as duas modalidades de estresse em estudo, induzidas por diferentes metodologias convulsivantes, pode ser avaliada na Tabela 13. Foi possível identificar que quando se empregou a estimulação audiogênica houve uma redução significativa ( $P < 0,001$ ) da resposta, mas apenas nos animais submetidos a um período de imobilização pré-tratados com NaCl 0,9% (Tabela XXIII-A do APÊNDICE). Por outro lado, a submissão dos animais a qualquer uma das condições de estresse, imobilização ou natação, não alterou a resposta comportamental induzida por qualquer uma das doses de pentilenotetrazol (60, 75 ou 100 mg/kg). Essa resposta nem mesmo foi alterada pelo pré-tratamento com naloxona, 1 ou 10 mg/kg (Tabela XXIII-B, C e D do APÊNDICE).

Entretanto, quando o agente indutor de convulsões foi o ácido 3-mercaptopropiônico verificou-se um agravamento na severidade das convulsões em animais estressados e tratados com as doses de 10 ( $P < 0,037$ ), 30 ( $P < 0,05$ ) e 60 ( $P < 0,004$ ) mg/kg desse agente (Tabelas XXIII-E, F e G do APÊNDICE).

A interação entre a condição de estresse e o pré-tratamento apresentou significância somente quando do emprego da estimulação sonora ( $P < 0,001$ ) ou da administração de 75 mg/kg de pentilenotetrazol ( $P = 0,038$ ), 10 ( $P = 0,049$ ) e 30 mg/kg de ácido 3-mercaptopropiônico ( $P = 0,008$ ), como indutores de convulsões.

#### 4.1.6. *Letalidade promovida pelas diferentes metodologias convulsivantes*

TABELA 13 - Influência de duas modalidades de estresse sobre a resposta comportamental de camundongos induzidas por diferentes metodologias convulsivantes.

CONDIÇÃO DE ESTRESSE	TRATAMENTO	DOSE (mg/kg)	RESPOSTA COMPORTAMENTAL = GRAU (Mediana)												
			METODOLOGIA INDUZIDORA DE CONVULSÕES												
			S.C	SOM	60	PTZ (mg/kg)	75	100	3MP (mg/kg)	10	30	60	N		
-	Salina	-		3	1	3	5	5	2,5	4	5,5	10			
	Naloxona	1	2	5	2	5	5	2	4	4,0	10				
	Naloxona	10	2	2	1	5	5	3	5	4,5	10				
Imobilização no frio (4°C)	Salina	-		0*	0	3	5	5	3,5	5	5,0	10			
	Naloxona	1	1	0	2	5	5	4*	4	5,5	10				
	Naloxona	10	1	0	2	6	6	2	4	6,0*	10				
Natação (3 min)	Salina	-		2	0	3	5	5	4,0	2,5*	6,0	10			
	Naloxona	1	2	0	3	5	5	3**	3	6,0*	10				
	Naloxona	10	2	0	3	5	5	4,5	6	6*	10				

N = Número de animais empregados por cada dose ou corrente de convulsivante, por tratamento

3MP = ácido 3 mercapto - propiónico

PTZ = pentilenoetetrazol

\* = estatisticamente significativo em relação ao grupo não estressado, dentro do mesmo pré-tratamento (p < 0,05); ANOVA seguido do teste de Dunn).

+ = estatisticamente significativo em relação ao pré-tratamento com naloxona, dentro da mesma condição de "stress"

(p < 0,05; ANOVA seguido do teste de Dunn).

Analisando-se a incidência de mortes até 24 horas após as convulsões induzidas pelas diversas metodologias, em animais controle e naqueles submetidos à imobilização ou à natação, foi possível detectarem-se diferenças significantes entre alguns grupos ( $P < 0,05$ ; Tabela 14). Não foram evidenciadas mortes de animais submetidos às duas condições de estresse, pré-tratados ou não com ambas as doses de naloxona, e estimulados audiogenicamente ou injetados com 60 mg/kg de pentilenotetrazol. O emprego de 75 e 100 mg/kg de pentilenotetrazol, por outro lado, promoveu mortes cuja incidência não se alterou significativamente nos animais submetidos a situações de estresse pré-tratados ou não com naloxona, à exceção do grupo de animais submetidos à imobilização pré-tratados com NLX 10, que apresentou um aumento significativo na incidência de mortes após as convulsões induzidas por 100 mg/kg de pentilenotetrazol ( $P < 0,01$ ).

O índice de letalidade provocado pelo ácido 3-mercaptopropiônico foi aumentado pela exposição dos animais às condições de estresse, especialmente na maior dose empregada (60 mg/kg), como pode ser observado na Tabela 14. A indução de convulsões por eletrochoque transcorneal (25, 50 ou 150 mA) produziu mortes nos animais, cuja incidência foi dependente da intensidade de corrente empregada, mas não se alterou nem pela exposição dos animais à condição de imobilização ou natação, nem pelo pré-tratamento com naloxona (1 ou 10 mg/kg).

diferentes metodologias.

CONDIÇÃO DE ESTRESSE	TRATAMENTO	DOSE (mg/kg)	INCIDÊNCIA DE MORTES (%)						N			
			MÉTODOLÓGIA INDUTORA DE CONVULSÕES									
		S.C.	SUM	60	75	100	10	30	60	25	50	150
				PTZ (mg/kg)	3MP (mg/kg)	EC (mA)						
	Salina	-	0	0	70	30	0	0	50	10	20	100
	Naloxona	1	0	0	70	40	20	30	30	30	40	100
	Naloxona	10	0	0	70	0	30	40	40	40	70	100
Imobilização no frio (4°C)	Salina	-	0	0	60	20	30	60*	20	30	0	100
	Naloxona	1	0	0	40	30	70*	50	60	0	10	100
	Naloxona	10	0	0	40	80**	20	40	90*	30	30	100
Natação (3 min)	Salina	-	0	0	60	30	20	50*	100**	40	60	100
	Naloxona	1	0	0	30	20	90**	40	100**	30	60	100
	Naloxona	10	0	0	30	30	50	90*	80	60	40	100

N = Número de animais empregados por cada dose ou corrente de convulsivante, por tratamento

3MP = Acido 3-mercaptopropiônico.

PTZ = Pentilenotetrazol.

EC = Eletrochoque transcorneal.

\* = estatisticamente significativo em relação ao grupo controle não estressado, dentro do mesmo pré-tratamento ( $p < 0,05$ ;\*\* =  $p < 0,01$ ; testes de Chi2 segundo do de Fisher).

## 4.2. Avaliação da Nocicepção

### 4.2.1. Método da placa-quente ("hot-plate")

A Tabela 15 mostra - e a Figura 5 ilustra - os dados relativos à reação comportamental dos animais ao estímulo doloroso térmico, obtidos nos diferentes grupos experimentais, imediatamente após o período de exposição ao estresse de imobilização ou natação. Foi possível identificar que a exposição dos animais às duas condições de estresse levou a um aumento significativo do tempo de reação térmica ( $P < 0,001$ ; Tabela XXIV-A do APÊNDICE), sendo esse efeito bem mais evidente no grupo submetido à imobilização.

O pré-tratamento com naloxona (1 ou 10 mg/kg) tendeu a reduzir a antinocicepção induzida pelas condições de estresse de forma dose-dependente, mas o efeito foi significativo apenas para o grupo imobilizado pré-tratado com 10 mg/kg de naloxona ( $P < 0,05$ ; Tabela XXIV-A do APÊNDICE); ressalte-se que a reversão do efeito do estresse foi apenas parcial. A análise da interação entre as duas variáveis independentes, situação de estresse e pré-tratamento, apresentou significância estatística ( $P = 0,032$ ).

A análise temporal da reação térmica dos animais mostrou que a influência das situações de estresse diferiu no tempo (Tabela 16 e Tabela XXIV-B do APÊNDICE). Essa influência foi fugaz, aparecendo imediatamente após o período de submissão ao estresse, e decaindo a níveis comparáveis ao dos animais não estressados aos 15 e 45 minutos de observação nos grupos que passaram pela natação e naqueles imobilizados, respectivamente.



TABELA 15 - Influência de duas modalidades de estresse sobre o limiar doloroso de camundongos, avaliado pelo método da placa- quente, imediatamente após o período de estresse.

CONDIÇÃO		DOSE	TEMPO DE REAÇÃO		N
DE	TRATAMENTO	(mg/kg)	(seg.)	%	
ESTRESSE		S.C	(x +/- E.P.M.)		
	Salina	-	4,2 +/- 0,4	100	10
-	Naloxona	1	4,4 +/- 0,6	105	10
	Naloxona	10	4,9 +/- 0,7	117	10
Imobilização	Salina	-	23,4 +/- 1,9*	557	10
no frio	Naloxona	1	20,6 +/- 2,9*	490	10
(4°C)	Naloxona	10	14,3 +/- 2,7**	340	10
Natação	Salina	-	8,3 +/- 1,0*	198	10
(3 min)	Naloxona	1	8,4 +/- 0,5*	200	10
	Naloxona	10	7,3 +/- 0,6+	174	10

% = porcentagem em relação ao grupo controle não estressado.

N = Número de animais empregados.

\* = estatisticamente significativo em relação ao grupo não estressado, dentro do mesmo pré-tratamento ( $p < 0.05$ ; ANOVA seguido do teste de Newman-Keuls).

+ = estatisticamente significativo em relação ao pré-tratamento, com naloxona, dentro de uma mesma condição de estresse ( $p < 0.05$ ; ANOVA seguido do teste de Newman-Keuls).

TABELA 16 - Influência de duas modalidades de estresse sobre o limiar doloroso de camundongos, avaliado pelo método da placa-quente, em diversos períodos de tempo após a situação de estresse.

CONDIÇÃO DE ESTRESSE	TRATAMENTO	DOSE (mg/kg)	TEMPO DE REAÇÃO (x +/- E.P.M.)				N
			0	15	30	45	
-	Salina	-	4,2 +/- 0,4	7,7 +/- 1,1	7,4 +/- 0,8	9,1 +/- 0,7	7,3 +/- 0,5
	Naloxona	1	4,4 +/- 0,6	5,1 +/- 0,8	5,5 +/- 1,1	7,7 +/- 2,6	9,1 +/- 1,6
	Naloxona	10	4,9 +/- 0,7	10,5 +/- 1,2	8,9 +/- 1,7	12,8 +/- 1,6	8,4 +/- 1,9
Imobilização no frio (4°C)	Salina	-	23,4 +/- 1,9*	8,0 +/- 1,0	5,6 +/- 0,5*	8,0 +/- 1,0	6,6 +/- 1,0
	Naloxona	1	20,6 +/- 2,9*	8,6 +/- 1,3**	8,7 +/- 1,2*	8,7 +/- 0,9	12,0 +/- 2,0
	Naloxona	10	14,3 +/- 2,7*	7,9 +/- 0,9	10,2 +/- 1,3	13,3 +/- 1,9	4,2 +/- 1,1
Natação (3 min)	Salina	-	8,3 +/- 1,0*	9,6 +/- 0,7	12,0 +/- 1,8	8,1 +/- 1,1	8,7 +/- 2,0
	Naloxona	1	8,4 +/- 0,5	12,3 +/- 1,1	11,5 +/- 1,9	14,5 +/- 2,9	10,8 +/- 2,6
	Naloxona	10	7,3 +/- 0,6	12,0 +/- 1,0	10,0 +/- 1,0	2,7 +/- 1,2	9,6 +/- 1,0

N = Número de animais empregados.

\* = estatisticamente significativo em relação ao grupo não estressado, dentro do mesmo pré-tratamento ( \* = p < 0,05;

\*\* = p < 0,01 seguido do teste de Newman-Keuls).

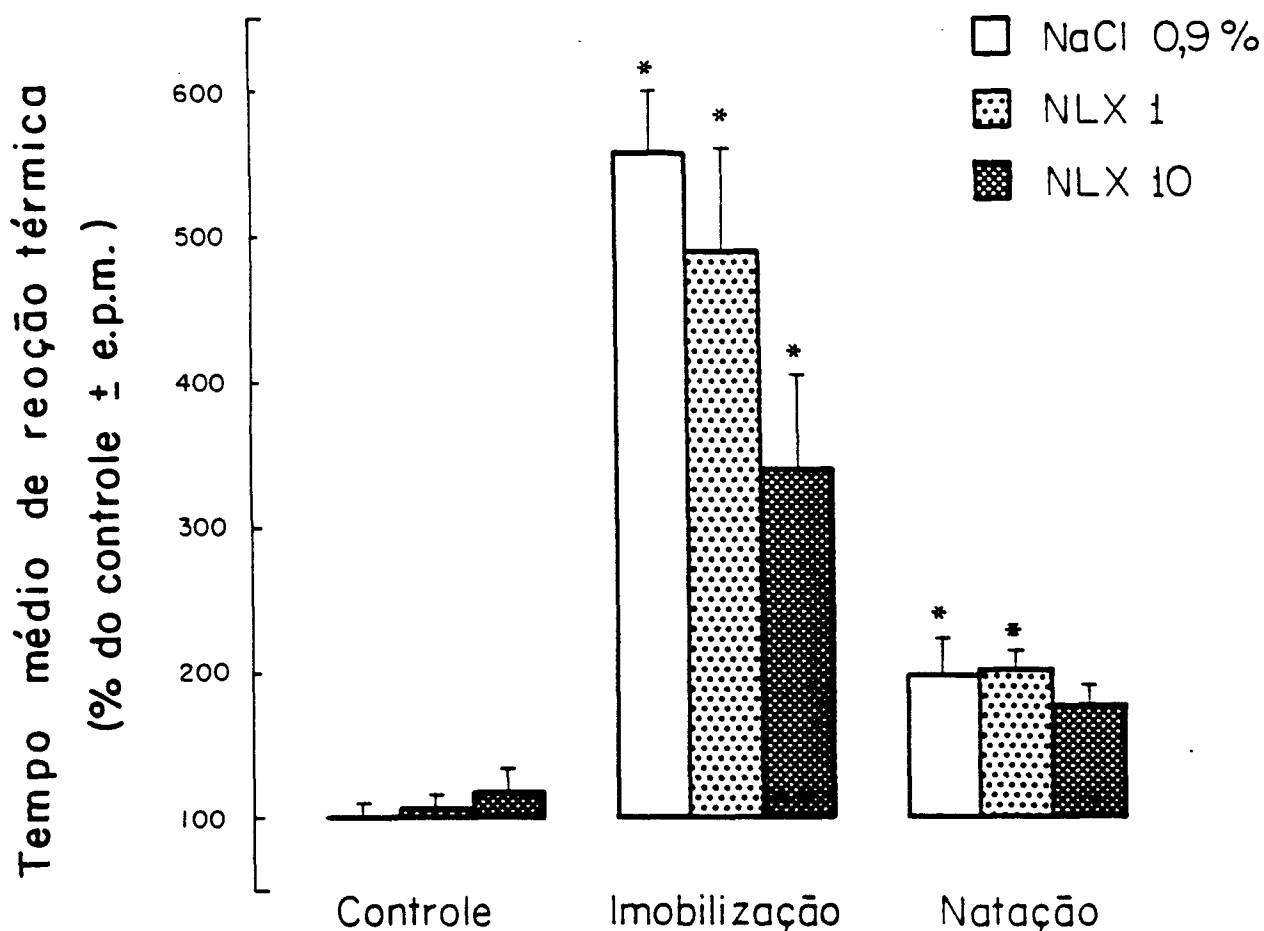


FIGURA 5 - Efeito do pré-tratamento com naloxona 1 ou 10 mg/kg s.c. (NLX 1 ou NLX 10), sobre a influência de duas modalidades de estresse, imobilização no frio e natação, no limiar doloroso de camundongos, avaliado pelo método da placa-quente, imediatamente após o período de estresse. \* = estatisticamente significante em relação ao grupo não estressado, dentro do mesmo pré-tratamento ( $p < 0.05$ ; ANOVA seguido do teste de Newman-Keuls).

A interação entre os diversos fatores, condição de estresse, pré-tratamento e tempo de observação, mostrou significância estatística entre os mesmos (estresse x tempo -  $P < 0,001$ ; naloxona x tempo -  $P = 0,004$ ; estresse x naloxona x tempo -  $P < 0,001$ ).

### 3.2.2. Método das contorções abdominais ("writhing") induzidas por ácido acético

A submissão de animais a duas modalidades de estresse e posterior administração de ácido acético intraperitoneal mostrou que, tanto na observação por um período de 5 minutos (Tabela 17 e Figura 6), quanto no de 20 minutos (Tabela 18), houve analgesia, independente da condição estressante empregada ( $P < 0,001$ ), imobilização ou natação, não revertida pelo pré-tratamento com naloxona 1 ou 10 mg/kg, como pode ser verificado nas Tabelas XXV e XXVI do APÊNDICE.

O acompanhamento desse efeito no decorrer do tempo (Tabela 19) mostrou que ele perdura ( $P < 0,05$ ), não sendo revertido pelo antagonista opiáceo, embora tenha havido uma tendência verificada apenas para 10 mg/kg de naloxona, a partir do 12 minuto (grupo submetido à natação) e 18 minuto de observação (grupo imobilizado), como registrado na Tabela XXVI-B do APÊNDICE.

O estudo das interações entre as diversas variáveis mostrou que houve significância para as interações estresse x tempo ( $P < 0,001$ ), tratamento x tempo ( $P = 0,049$ ) e estresse x tratamento x tempo ( $P < 0,001$ ).

TABELA 17 - Influência de duas modalidades de estresse sobre as contorções induzidas por ácido acético 0,6% i.p. em camundongos, por cinco minutos consecutivos, quinze minutos após a administração do ácido ao término do período de estresse.

CONDIÇÃO DE ESTRESSE	TRATAMENTO	DOSE		N: DE CONTORÇÕES ABDOMINAIS	%	N
		(mg/kg)	S.C			
Imobilização no frio (4°C)	Salina	-	-	7,2 +/- 1,3	100	10
	Naloxona	1	-	6,8 +/- 0,8	94	10
	Naloxona	10	-	7,6 +/- 1,2	106	10
Natação (3 min)	Salina	-	-	0	0	10
	Naloxona	1	-	1,5 +/- 0,9**	21	10
	Naloxona	10	-	0,9 +/- 0,5**	13	10
Natação (3 min)	Salina	-	-	0	0	10
	Naloxona	1	-	0	0	10
	Naloxona	10	-	0	0	10

% = porcentagem em relação ao grupo controle não estressado.

N = Número de animais empregados.

\*\* = estatisticamente significativo em relação ao grupo controle não estressado, dentro do mesmo pré-tratamento (p < 0.01; de ANOVA seguido do teste de Newman-Keuls).

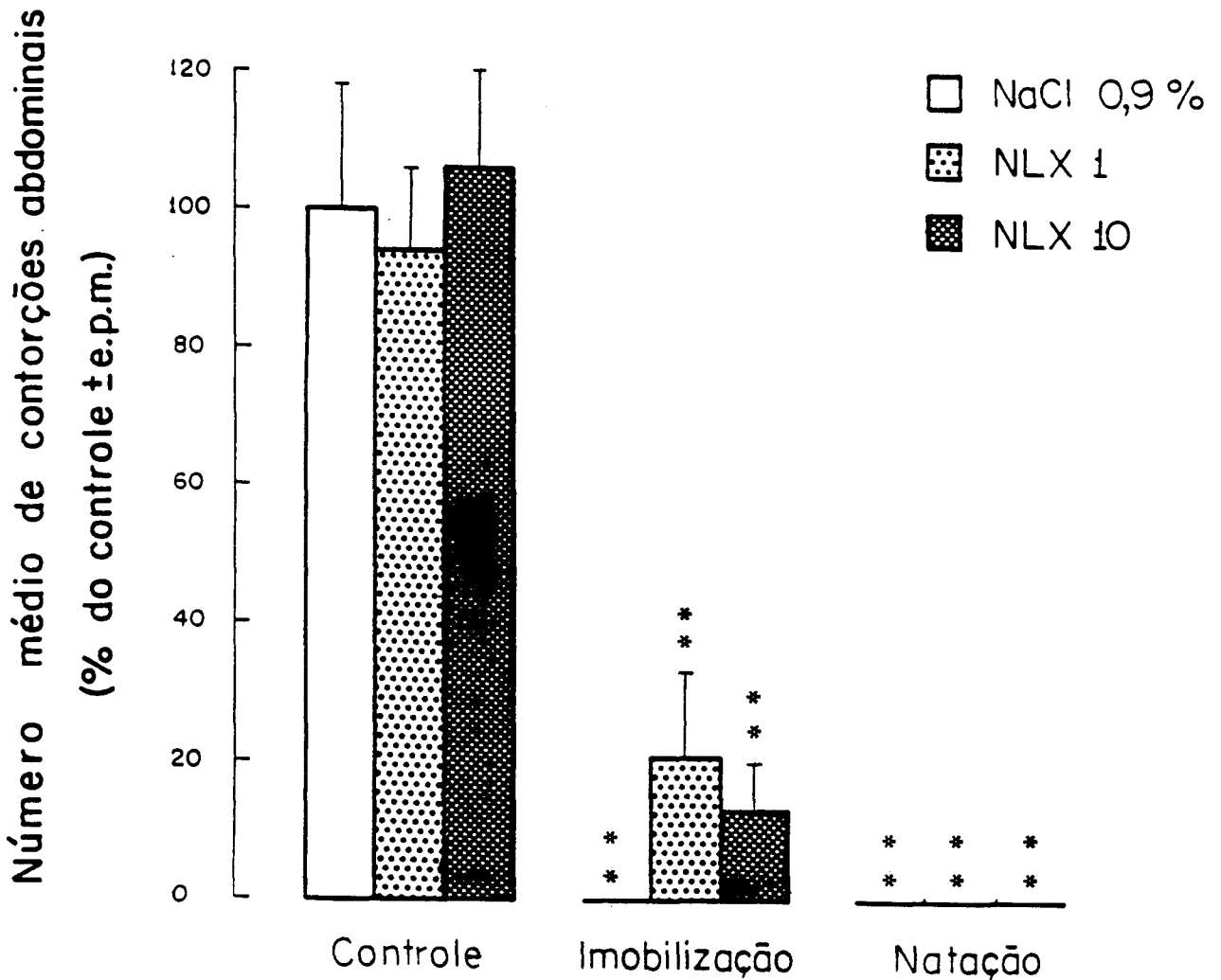


FIGURA 6 - Efeito de pré-tratamento com naloxona 1 ou 10 mg/kg s.c. (NLX 1 ou NLX 10), sobre a influência de duas modalidades de estresse, imobilização no frio e natação, no limiar doloroso de camundongos, avaliado pelo método das contorções abdominais induzidas por ácido acético 0.6% i.p., por 5 minutos consecutivos, 15 minutos após a administração do ácido ao término do período de estresse. \*\* = estatisticamente significante em relação ao grupo não estressado, dentro do mesmo pré-tratamento (p < 0.01; ANOVA seguido do teste de Newman-Keuls).

TABELA 18 - Influência de duas modalidades de estresse sobre as contorções induzidas por ácido acético 0,6% i.p. em camundongos, por vinte minutos consecutivos ao período de estresse.

CONDIÇÃO DE ESTRESSE	DOSE		Nº DE CONTORÇÕES ABDOMINAIS (x +/- E.P.M.)	%	N
	TRATAMENTO	(mg/kg) S.C			
	Salina	-	26,3 +/- 5,3	100	10
	Naloxona	1	15,3 +/- 5,3	58	10
	Naloxona	10	22,6 +/- 6,0	86	10
Imobilização no frio (4°C)	Salina	-	0 **	0	10
	Naloxona	1	0 **	0	10
	Naloxona	10	0,4 +/- 0,3**	2	10
Natação (3 min)	Salina	-	0 **	0	10
	Naloxona	1	0 **	0	10
	Naloxona	10	4,0 +/- 2,9*	15	10

% = porcentagem em relação ao grupo controle não estressado.

N = Número de animais empregados.

\*\* = estatisticamente significativo em relação ao grupo não estressado, dentro do mesmo pre-tratamento ( $p < 0.01$  ANOVA seguido do teste de Newman-Kuels).

TABELA 19 - Influência de duas modalidades de estresse sobre as contorções induzidas por ácido acético 0,6%, por um período de vinte minutos consecutivos à situação de estresse, a intervalos de 2 minutos.

CONDIÇÃO DE ESTRESSE	TRATAMENTO	DOSE (mg/kg)	N: HE CONTORÇÕES ABDOMINAIS (X +/- E.P.M.)										N
			s.c	2	4	6	8	10	12	14	16	18	
			TEMPO (min.)										
-	Salina	-	0	0,9+/- 0,4	4,3 +/- 1,2	3,1+/- 0,7	3,3+/- 0,9	3,4+/- 0,7	2,3+/- 0,5	2,4+/- 0,5	2,7+/- 0,9	3,9+/- 1,1	10
	Naloxona	1	0	0,5+/- 0,3	0,9+/- 0,6	0,8+/- 0,7	1,3+/- 0,7	2,0+/- 0,8	2,1+/- 0,7	2,3+/- 0,8	2,5+/- 0,8	1,8+/- 0,7	10
	Naloxona	10	0	0,7+/- 0,5	3,8+/- 1,2	2,3+/- 0,7	1,4+/- 0,4	2,3+/- 0,8	3,2+/- 0,8	4,6+/- 1,3	2,6+/- 0,8	1,7+/- 0,8	10
Imobilização no frio (4°C)	Salina	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
	Naloxona	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
	Naloxona	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0,2+/- 0,2	0,2+/- 0,2	10
Natação (3 min)	Salina	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
	Naloxona	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
	Naloxona	10	0	0	0	0	0	0,5+/- 0,4	0,8+/- 0,6	0,8+/- 0,6	0,8+/- 0,6	1,1+/- 0,8	10

N = Número de animais empregados.





## 5. DISCUSSÃO

Nossos resultados relativos à avaliação da nocicepção mostram que a exposição aguda de camundongos às duas situações de estresse, imobilização e natação, promovem analgesia. A antinocicepção observada é mais evidente para estímulos de natureza química do que térmica, tanto na intensidade como na duração do fenômeno. Esses resultados corroboram os dados da literatura ( ver CANNON e LIEBESKIND, 1987, para revisão).

A pré-seleção de animais "bons respondedores" aos dois estímulos nociceptivos não alterou a resposta avaliada tanto pela 'placa-quente' quanto pelo ácido acético (dados não apresentados), embora PANOCKA et alii (1986) tenham observado que há uma diferenciação genética entre "bons" e "maus respondedores", possivelmente por uma ação diferencial dos sistemas endorfinérgicos.

O pré-tratamento dos animais com naloxona revela que apenas a antinocicepção contra estímulos térmicos, em animais imobilizados, parece resultar, em parte, da ativação de sistemas opióides endógenos, uma vez que não houve reversão total do efeito do estresse pelo antagonista opiáceo. A ativação de mecanismos não opióides parece ser um importante fator na manifestação da analgesia em resposta a situações de estresse (LEWIS et alii, 1980, 1981; WATKINS e MAYER, 1982; WATKINS et alii, 1982 a, b; O'CONNOR e CHIPKIN, 1984), especialmente, no nosso caso, em relação ao estresse por natação.

Como já foi relatado na INTRODUÇÃO deste trabalho, a intensidade do estresse é um fator determinante importante da modulação da analgesia por sistemas opióides ou não opióides (TERMAN et alii, 1986; HAMON et alii, 1988; OLIVERAS e BESSON, 1988; ROCHFORD e HENRY, 1988). O tipo de antinocicepção induzida por estresse varia em razão não só dos parâmetros físicos, mas também daqueles ambientais envolvidos (FRISCHKNECHT et alii, 1988; SIEGFRIED et alii, 1988). Em modelos animais tem sido relatada a ativação diferencial de sistemas analgésicos opióides e/ou não opióides, empregando-se diferentes paradigmas, do eletrochoque nas patas à manipulação experimental (WATKINS e MAYER, 1982; KELLY e FRANKLIN, 1987; SIEGFRIED e FRISCHKNECHT, 1988, 1989; FRISCHKNECHT e SIEGFRIED, 1989). Outros estudos têm demonstrado que quanto maior a intensidade da condição estressante a que é submetido o animal, maior é a participação de mecanismos não opióides na mediação da analgesia resultante (LEVINE et alii, 1984; TERMAN et alii, 1986). Assim, nossos resultados indicam que as duas condições de estresse empregadas neste estudo, além de efetivas em produzirem analgesia nos animais, parecem ser bastante intensas, uma vez que a modulação da antinocicepção produzida envolve parcialmente os sistemas opióides apenas no caso da imobilização.

Por outro lado, poucos estudos têm analisado a susceptibilidade convulsiva durante situações de estresse. A associação entre estresse e a ocorrência de crises epilépticas é geralmente aceita com base em observações clínicas (GASTAUT e TASSINARI, 1966; CURRIE et alii, 1971), mas existem poucas

evidências para o fortalecimento desta hipótese. Os principais fatores desencadeantes de crises, em seres humanos, são conhecidos e incluem: estados de tensão, fadiga, privação de sono, alterações do nível de consciência e do ciclo sono-vigília, distúrbios do equilíbrio hidro-eletrolítico e ácido-básico, estimulação sensorial, abstinência a drogas e estados febris e patológicos (ver AIRD, 1988, para revisão). A ansiedade (STANDAGE, 1972) e a raiva (SYMONDS, 1970), contudo, parecem não desencadear crises. Embora esses estudos corroborem as impressões clínicas de que o estresse pode induzir ou exacerbar crises epilêpticas, é importante notar que a maior parte dos mesmos foi conduzida em condições limitadas, com número reduzido de sujeitos experimentais selecionados através de procedimentos pouco precisos. Tais restrições são menos evidentes no estudo de TEMKIN e DAVIS (1984) mostrando que eventos estressantes diários e níveis perceptíveis de estresse estão fortemente associados a uma maior incidência de crises.

Há algumas evidências experimentais mostrando uma redução do limiar para convulsões em animais submetidos a situações de estresse. A aplicação de choque elétrico nas patas e a imobilização reduzem o limiar tanto para o eletrochoque convulsivo quanto para o pentilenotetrazol, em camundongos (SWINYARD et alii, 1962, 1963). Crises eletrográficas e comportamentais induzidas em macacos foto-sensíveis também se acham exacerbadas na vigência de estresse (KOPELOFF et alii, 1954). A privação de sono paradoxal e a subnutrição tornam ratos mais sensíveis às convulsões induzidas por

eletrochoque (COHEN e DEMENT, 1970; FORBES et alii, 1978), penicilina (SHOUSE, 1988) e abrasamento (GRAHNSTEDT, 1986; SHOUSE, 1988). Em camundongos, a privação de sono paradoxal aumenta a sensibilidade às convulsões induzidas por pentilenotetrazol (VALE e LEITE, 1988). Na verdade, a associação entre crises epilépticas e sono é bem documentada, sendo que os relatos sugerem que a privação de sono está associada a uma maior ocorrência de crises induzidas por diversas metodologias e em diferentes espécies animais (ver GRAHNSTEDT, 1986, para revisão).

A este respeito, nossos dados mostram que a exposição aguda de animais à imobilização e/ou natação promove um agravamento na severidade das convulsões induzidas por ácido 3-mercaptopropiônico, assim como um aumento no seu índice de letalidade. Ambas as modalidades de estresse exacerbaram a severidade das convulsões promovidas por eletrochoque transcorneal, em proporções similares quando a corrente de 150 mA foi empregada. Esse agravamento deveu-se essencialmente a um prolongamento do componente extensor das patas posteriores da convulsão, sem alteração do flexor.

Esses resultados, que apontam para uma influência próconvulsivante das condições de estresse, contrastam marcadamente com outros achados do presente estudo. Tanto a imobilização quanto a natação promoveram alterações na sensibilidade de camundongos a diversos agentes convulsivantes. A exposição aguda de animais aos estressores produziu um aumento significativo da latência para o aparecimento de manifestações

convulsivas induzidas por estimulação sonora, pentilenotetrazol e ácido 3-mercaptopropionico, além de reduzirem a severidade das manifestações produzidas pelo estímulo sonoro. DE LIMA e RAE (1986) mostraram que essas duas condições de estresse também exercem uma influência inibitória sobre as convulsões induzidas por pilocarpina e resultados qualitativamente semelhantes foram também obtidos com a picrotoxina (dados não publicados). Estes efeitos foram mais duradouros no tempo para o grupo de animais submetidos à natação do que para os submetidos à imobilização, para a pilocarpina; e mais evidentes em animais jovens e machos, para a picrotoxina.

Da mesma forma, tem sido relatado que diferentes estressores reduzem a incidência de crises eletrográficas e comportamentais induzidas espontaneamente em gerbils geneticamente susceptíveis (BAJOREK et alii, 1984) e, em ratos, por abrasamento amigdalóide (SHAVIT et alii, 1984). O estresse emocional (imobilização associada à imersão na água por 3 dias) inibe marcadamente as convulsões espontâneas em camundongos (MORI et alii, 1986). Outros estudos mostram que condições estressantes, como a imobilização por duas horas (OLIVERIO et alii, 1983) ou a aplicação intermitente de choque elétrico nas patas (PAVONE et alii, 1986), protege os animais das convulsões induzidas por eletrochoque transcorneal. VALE e LEITE (1988) observaram não só uma diminuição na susceptibilidade às convulsões induzidas por bupivacaína, como uma redução na mortalidade de camundongos pela privação do sono paradoxal.

Essas contradições observadas experimentalmente podem ser

decorrentes de varios fatores. O primeiro deles e o uso de diferentes espécies animais, e, só para exemplificar, sabe-se que ratos e camundongos mostram mudanças neuroquímicas opostas quando confrontados com o mesmo estressor (STONE, 1975), o que poderia explicar, em parte, as diferentes observações obtidas em estudos da sensibilidade convulsiva. O emprego de diferentes condições estressantes seria outro fator preponderante na verificação das alterações do limiar convulsivo descritas. A este respeito, estudos posteriores realizados em nossos laboratórios empregando-se uma forma mais natural de estresse, a agressão intra-específica em camundongos, mostrou uma redução da latência para o aparecimento de convulsões induzidas por pentilenotetrazol, mas não pela pilocarpina ou eletrochoque transcorneal. Essas observações corroboram nossos dados obtidos com eletrochoque convulsivo, contrastando, no entanto, com aqueles observados para o pentilenotetrazol e ácido 3-mercaptopropiônico. Este fator, isto é, o tipo de estressor empregado no estudo, talvez explique os resultados opostos obtidos por outros autores em relação ao eletrochoque convulsivo (OLIVERIO et alii, 1983; PAVONE et alii, 1986).

A escolha do agente indutor de convulsões, assim como o (s) parâmetro (s) das crises estudado (s), parecem também ser críticos na obtenção de resultados e conclusões dos estudos, inclusive deste aqui discutido. Assim, os efeitos antagônicos promovidos por um mesmo estressor podem ser, pelo menos em parte, atribuídos aos diferentes mecanismos básicos dos modelos de indução de convulsões utilizados. O pentilenotetrazol caracteriza

a abordagem experimental clássica para as crises de ausência, sendo sua ação atribuída a um bloqueio da transmissão GABAérgica, principalmente a nível do cortex motor. O eletrochoque transcorneal, por sua vez, permite inferências sobre as crises tônico-clônicas generalizadas (epilepsia do tipo "grande mal"; LA SALLE e NAQUET, 1983; TESTA et alii, 1983). O ácido 3-mercaptopropiônico, por outro lado, é um agente que inibe a síntese de GABA (LOSCHER, 1985) e a estimulação audiogênica relaciona-se também com crises generalizadas (LA SALLE e NAQUET, 1983). Os parâmetros dessas convulsões induzidas experimentalmente não são, evidentemente, comparáveis entre si. Além disso, alguns estudos, como o de OLIVERIO et alii (1983) e PAVONE et alii (1986), apesar de empregarem a mesma metodologia convulsivante (eletrochoque transcorneal), registraram parâmetros diversos daqueles por nós estudados; isto é, esses autores observaram uma proteção as convulsões registrando a incidência e a letalidade das mesmas, enquanto em nosso estudo verificamos os componentes flexor e extensor das convulsões induzidas, além da incidência, que não diferiu estatisticamente. Este resultado, no entanto, pode também ser atribuído ao emprego de diferentes linhagens da mesma espécie, pois os autores citados estudaram a influência do estresse sobre a sensibilidade convulsiva em camundongos C57BL/6, que apresentam, ainda, uma proteção às convulsões induzidas por estímulo sonoro (WILLOT, 1974) após o estresse por imobilização.

Portanto, a exposição aguda a duas modalidades de estresse, imobilização no frio e natação à temperatura ambiente,



produz, em camundongos, um aumento marcante da demanda interna do organismo, traduzido comportamentalmente por uma elevação do limiar nociceptivo e alterações na sensibilidade convulsiva dos animais a diversos agentes. Os dois tipos de estresse promovem um aumento da latência para o aparecimento de convulsões induzidas por estímulo sonoro, pentilenotetrazol e ácido 3-mercaptopropiônico, além de uma redução da severidade das manifestações convulsivas induzidas pelo primeiro agente. Ao mesmo tempo, provoca um agravamento da severidade das convulsões produzidas por eletrochoque transcorneal e ácido 3-mercaptopropiônico, aumentando a letalidade dessas últimas. Esses resultados aparentemente discrepantes podem ser explicados, pelo menos em parte, pelos diferentes substratos associados às diferentes metodologias convulsivantes, além dos diversos parâmetros registrados, não comparáveis entre si.

Um outro aspecto analisado no presente estudo diz respeito à participação de mecanismos opióides endógenos na influência do estresse sobre a sensibilidade convulsiva, baseados nas alterações dos efeitos promovidas pelo pré-tratamento com o antagonista opiáceo naloxona. Nossos resultados mostraram que o pré-tratamento de animais não estressados aumentou a latência para o aparecimento de manifestações convulsivas promovidas por estimulação sonora, sugerindo que os sistemas opióides endógenos modulam tonicamente as mesmas. No entanto, a natureza dessa modulação parece ser complexa, pois outros relatos mostraram que a naloxona aumenta a severidade da convulsão audiogênica em camundongos (SCHREIBER,

1979), sensibiliza coelhos às ações convulsivantes da estricnina e penicilina (MASSOTI et alii, 1984), acelera o desenvolvimento do abrasamento amigdalóide em gatos (FERNANDEZ-GUARDIOLA et alii, 1989), mas previne convulsões produzidas por hipotermia em ratos imaturos (PUIG et alii, 1986). SMOLEN et alii (1986) também observaram essas ações contrastantes da naloxona em camundongos, onde esse antagonista possui ação anticonvulsivante em fêmeas controles e proconvulsivantes em grávidas. O fato do pré-tratamento com naloxona não ter alterado os diversos parâmetros analisados das convulsões induzidas, em camundongos não estressados, por pentilenotetrazol, ácido 3-mercaptopropiônico e eletrochoque transcorneal, sugere que, nesta condição, mecanismos opióides exercem uma modulação seletiva da reatividade convulsiva à estimulação audiogênica.

Entretanto, a naloxona modificou vários aspectos das convulsões registradas em animais estressados. O pré-tratamento com o antagonista opióide potenciou o aumento da latência das convulsões provocadas por pentilenotetrazol e ácido 3-mercaptopropiônico, promovido pelas situações de estresse. Para o ácido 3-mercaptopropiônico essa influência do antagonista opiáceo manifestou-se apenas no grupo de animais submetidos à imobilização. Esses resultados sugerem que, nos animais expostos à imobilização, os substratos neuroquímicos básicos ativados por esse estresse sejam semelhantes dentro de certos limites, envolvendo, pelo menos parcialmente, mecanismos de natureza opióide, embora não esclareça como ocorre este envolvimento. O estresse de natação, por sua vez, apesar de produzir um aumento

da latência para convulsões induzidas pelo ácido 3-mercaptopropiônico, este efeito não se mostrou sensível a naloxona. Os parâmetros das convulsões induzidas por estimulação sonora e eletrochoque transcorneal, em animais estressados, não foram alterados pela naloxona.

O efeito do estresse, por imobilização (OLIVERIO et alii, 1983) ou por choque intermitente nas patas (PAVONE et alii, 1986), sobre a sensibilidade convulsiva de camundongos ao eletrochoque transcorneal é bloqueado pelo antagonista opiáceo naltrexona, sugerindo a ativação de sistemas opióides endógenos anticonvulsivantes pelos estresses em questão. Esses estudos foram conduzidos com camundongos C57BL/6, uma linhagem caracterizada por uma liberação, no Sistema Nervoso Central, de quantidades substanciais de opióides endógenos em resposta a situações estressantes. Estudos mais recentes mostram que a naloxona, em ratos, não afeta a duração da pós-descarga produzida por estimulação hipocampal, nem a inibição da atividade convulsiva subsequente (LINSEMAN e CORRIGAL, 1987).

A modulação opioidérgica parcial do efeito do estresse por imobilização sobre a sensibilidade convulsiva está de acordo com o observado nos estudos de antinocicepção, talvez devido à mesma razão, isto é, a grande intensidade da situação de estresse empregada. O estresse de natação, nos dois estudos, não apresenta modulação pelos sistemas opióides endógenos por ser, provavelmente, muito mais intenso e efetivo que o de imobilização, ativando, portanto, mecanismos não opióides.

De acordo com os relatos exaustivos contidos na

INTRODUÇÃO do presente trabalho, muitos estudos têm detectado tanto ações pró- como anticonvulsivantes dos opiáceos e opióides, na dependência da existência ou não de situações de estresse, da dose e via de administração desses compostos, de sua especificidade, da espécie animal empregada, e, em especial, do parâmetro convulsivo registrado como indicativo da atividade estudada (URCA et alii, 1977; PRZEWLOCKA et alii, 1983; TURSKI et alii, 1985; FREY et alii, 1986; GUEDES et alii, 1987; COTTRELL et alii, 1988; entre outros).

Em todos os nossos experimentos a administração de naloxona foi feita antes da aplicação do estímulo estressor, assim não pode ser excluída a possibilidade do antagonista opioide ter modificado as experiências estressantes "per se", além de inibir a ação dos peptídeos opióides endógenos. Por outro lado, a hipótese de que a exposição a condições de estresse possa causar alterações na farmacocinética da naloxona e/ou dos agentes convulsivantes químicos também não pode ser descartada (NATELSON et alii, 1979; VOGEL, 1987). O choque nas patas e o estímulo sonoro aumentam a sensibilidade à morfina, enquanto a imobilização reduz os efeitos desta droga (BENEDEK e SZIKISKAY, 1985; DYMSHITZ e AMIR, 1988). Desta forma, o efeito do pré-tratamento com naloxona pode estar alterado pela exposição a imobilização e/ou natação.

O bloqueio pela naloxona é apenas um dos critérios utilizado para caracterizar a natureza opioide do fenômeno (SAWYNOK et alii, 1979), não estabelecendo, no entanto, a especificidade do receptor envolvido. A naloxona pode, ainda, ter

outras ações extrínsecas aos receptores opioides. Assim, a interpretação dos resultados obtidos usando este antagonista opiáceo como indicativo de uma participação dos sistemas opioides endógenos deve ser exercida com cautela, especialmente para a maior dose (10 mg/kg), pois há relatos de que altas doses deste antagonista opiáceo inibem a transmissão GABAérgica.

DINGLELINE et alii (1978) observaram, em camundongos, que doses subconvulsivantes de naloxona (90 mg/kg) potenciaram a atividade anticonvulsivante da bicuculina, efeito este antagonizado pelo diazepam. SAGRATELLA e MASSOTI (1982) descreveram, em coelhos, um aumento da ação convulsivante do antagonista benzodiazepínico Ro-5-3663, da bicuculina e picrotoxina, e do inibidor de síntese de GABA, a isoniazida, pela naloxona (5 ou 10 mg/kg). Posteriormente, MASSOTI et alii (1984) propuseram que o efeito proconvulsivante da naloxona envolveria a inibição da transmissão mediada por GABA e/ou glicina, o que concordaria com a proposição de que a naloxona atua como antagonista de receptores GABAérgicos. No entanto, CHUGANI et alii (1984) sugeriram que parte dos efeitos convulsivantes da naloxona seriam secundários ao bloqueio direto do mecanismo protetor mediado pelos opióides endógenos, enquanto AGMO e TARASCO (1985) discutiram a possibilidade da naloxona desinibir neurônios GABAérgicos.

Entretanto, no presente estudo a dose de 10 mg/kg de naloxona não mostrou efeitos essencialmente diferentes da dose de 1 mg/kg, além de não alterar as latências para o aparecimento de convulsões induzidas pelo pentilenotetrazol e ácido

3-mercaptopropiônico, em animais não estressados. Se a naloxona interferisse antagonizando diretamente a transmissão GABAérgica esperar-se-ia uma redução nessas latências. Ainda neste sentido, o pre-tratamento com naloxona potenciou, ao invés de inibir, o aumento na latência para convulsões induzidas por esses agentes promovido pelo estresse de natação e/ou imobilização. É possível, ainda que os resultados obtidos em animais estressados que receberam a maior dose de naloxona representem subestimativas do fenômeno, face a possibilidade de haver um antagonismo simultâneo da neurotransmissão GABAérgica, mesmo que os dados obtidos no grupo não estressado não suporte essa hipótese.

Por outro lado, não é possível negligenciar as informações decorrentes de estudos animais sugerindo que as manifestações do estresse possam ser mediadas por alterações complexas de diversos neurotransmissores centrais, como a noradrenalina (GLAVIN, 1985; SVENSSON, 1987; BORDIN et alii, 1989; STANFORD e WAUGH, 1989), a dopamina (GILAD et alii, 1986, 1987; BOWERS et alii, 1987; GILAD, 1987), a serotonina (MORI et alii, 1986; DE LIMA e RAE, 1988; PETERS, 1989) e o ácido gama-aminobutírico, GABA (CORDA e BIGGIO, 1986, 1987; ELEKES et alii, 1986; SCHWARTZ et alii, 1987; TRULLAS et alii, 1987; ARMANDO et alii, 1988; DRUGAN et alii, 1989; KARP et alii, 1989). Além disso, há uma interrelação estreita entre esses sistemas neurotransmissores que não pode ser esquecida. Por exemplo, TANAKA et alii (1989) observaram que a injeção previa de Met-enkefalina atenua o aumento da liberação de noradrenalina promovido no hipotálamo, amígdala e "locus coeruleus" pelo

estresse de imobilização em ratos. O mesmo tratamento reduz os parâmetros comportamentais registrados, o que poderia estar relacionado com a liberação de "emoções negativas", como medo e/ou ansiedade dos animais expostos ao estresse, como proposto por FRISCHKNECHT e SIEGFRIED (1988) para o modelo de agressão intra-específica em camundongos.

Resumindo, o presente estudo mostra que a exposição aguda a eventos estressantes produz uma gama de modificações comportamentais e, provavelmente bioquímicas. A liberação de opióides endógenos nas condições de estresse por imobilização parece ser, pelo menos em parte, pelo efeito protetor sobre as convulsões induzidas por pêntilenotetrazol, ácido 3-mercaptopropiônico e estimulação sonora, e pela atividade proconvulsivante no eletrochoque transcorneal. A hipotermia promovida pelas duas modalidades de estresse não parece estar correlacionada a esses efeitos (MACEDO-NETO et alii, 1989). Em adição aos efeitos do estresse sobre a sensibilidade convulsiva, os opióides endógenos liberados pelo estresse de imobilização mediam outras reações de defesa do organismo que implicam um aumento do limiar a diversos estímulos externos, concomitante com uma redução na sensibilidade dolorosa. Os efeitos do estresse de natação, no entanto, não parecem envolver a ativação de sistemas opióides endógenos, no nosso estudo. A participação desses sistemas nos efeitos dos estresses aqui estudados talvez tenha sido comprometida em função da intensidade dos estímulos empregados (LEVINE et alii, 1984; TERMAN et alii, 1986). De qualquer maneira, não se pode descartar a interação dos diversos

sistemas de neurotransmissores nesses efeitos, o que amplia a complexidade da mediação e do entendimento dos mesmos. Finalmente, a promoção de analgesia e a relativa proteção a estímulos convulsivantes observadas em nossos estudos parecem-nos altamente adaptativas em relação a situações de extrema demanda, ampliando as chances de sobrevivência dos organismos, como proposto por AMIT e GALINA (1988). A esse respeito, estudos recentes realizados em nossos laboratórios evidenciaram que a exposição repetida de camundongos a condição de imobilização ou natação reduz a magnitude do aumento da latência para convulsões causadas por pentilenotetrazol (PEREIRA et alii, 1989). Esta habituação a influencia de condições estressantes talvez explique porque camundongos submetidos a agressão intra-específica, uma condição de estresse inerente ao repertório comportamental desta espécie, apresentam alterações de susceptibilidade convulsiva diferentes de animais expostos à imobilização ou natação (RAE et alii, 1989).





## 6. CONCLUSÕES

A exposição aguda a duas situações de estresse, imobilização a 4° C e natação a temperatura ambiente em camundongos:

- a) promoveu analgesia, avaliada por duas metodologias, uma térmica ('placa-quente') e uma química (ácido acético);
- b) a antinocicepção obtida pela imobilização parece ser mediada, apenas em parte, por sistemas opioides endógenos, enquanto aquela resultante da natação não envolve tais sistemas;
- c) prolongou a latência para o aparecimento de convulsões induzidas por estímulo sonoro, pentilenotetrazol e ácido 3-mercaptopropiônico;
- d) agravou a severidade das convulsões induzidas por eletrochoque transcorneal;
- e) esses efeitos sobre a sensibilidade convulsiva parecem envolver modulação por os sistemas opioidérgicos apenas no grupo imobilizado cujas as convulsões foram induzidas por pentilenotetrazol e ácido 3-mercaptopropiônico;
- f) os sistemas opioides endógenos parecem modular tonicamente as convulsões provocadas por estímulo sonoro em animais não estressados;
- g) os dois tipos de estresse empregados nesse estudo parecem ser intensos, especialmente o de natação, e os efeitos que produzem decorrem de alterações adaptativas do organismo envolvendo a participação de opioides endógenos e de outros neurotransmissores.



7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADLER, M.W.; LIN, C.H.; KEINATH, S.H.; BRAVERMAN, S. and GELLER, E.B. Anticonvulsant action of acute morphine administration in rats. J. Pharmacol. Exp. Ther., 198: 655-660, 1976.
- AGMO, A. and TARASCO, C. Interactions between naloxone and GABA in the control of locomotor activity in the rat. J. Neural Transm., 61: 137-149, 1985.
- AIRD, R.B. The importance of seizure-inducing factors in youth. Brain Develop., 10: 73-76, 1988.
- AKIL, H.; WATSON, S.J.; YOUNG, E.; LEWIS, M.E.; KHACHATURIAN, H. and WALKER, J.M. Endogenous opioids: biology and function. Adv. Rev. Neurosci., 7: 223-255, 1984.
- ALBUS, K. and HERZ, A. Inhibition of behavioral and EEG activation induced by morphine acting on lower brain-stem structures. Electroenceph. Clin. Neurophysiol., 33: 579-590, 1972.
- AMIT, Z. and GALINA, Z.H. Stress-induced analgesia. Physiol. Rev., 66: 1091-1120, 1986.
- AMIT, Z. and GALINA, Z.H. Stress-induced analgesia plays an adaptative role in the organization of behavioral responding. Brain Res. Bull., 21: 955-958, 1988.
- ANISMAN, H. Neurochemical changes elicited by stress: behavioral correlates. In: Psychopharmacology of Aversively Motivated Behavior, ANISMAN, H. e BIGNAMI, G. (Eds), New York, Plenum Press, 1978, pp 119-171.
- APPELBAUM, B.D. and HOLTZMAN, S.G. Characterization of stress-induced potentiation of opioid effects in the rat. J. Pharmacol. Exp. Ther., 231: 555-565, 1984.
- APPELBAUM, B.D. and HOLTZMAN, S.G. Restraint stress enhances morphine-induced analgesia in the rat without changing apparent affinity of receptor. Life Sci., 36: 1069-1074, 1985.
- ARMANDO, I.; LEVIN, G. and BARONTINI, M. Stress increases endogenous benzodiazepine receptor ligand-monoamine oxidase inhibitory activity (tribulin) in rat tissues. J. Neural Transm., 71: 29-37, 1988.
- ARMARIO, A.; LOPEZ-CALDERON, A.; JOLIN, T.; CASTELLANOS, J.M. Sensivity of anterior pituitary hormones to graded levels of psychological stress. Life Sci., 39: 471-475, 1986.

- AVANZINO, G.L.; ERMIRIO, R.; COGO, C.E.; RUGGERI, P. and MOLINARI, C. Effects of corticosterone on neurones of the locus coeruleus in the rat. Neurosci. Lett., 80: 85-88, 1987.
- BAILEY, C.C. and KITCHEN, I. Developmental responses to opioids reveals a lack of effect on stress-induced corticosterone levels in neonatal rats. Br. J. Pharmacol., 91: 119-125, 1987.
- BAJOREK, J.G. Neuroendocrine modulation of seizures in the Mongolian gerbil. Ph. D. dissertation. University of California, Los Angeles, 1981.
- BAJOREK, J.G. and LOMAX, P. Modulation of spontaneous seizures in the Mongolian gerbil: effects of beta-endorphine. Peptides, 3: 83-86, 1982.
- BAJOREK, J.G.; LEE, R.J. and LOMAX P. Neuropeptides: a role as endogenous mediators or modulators of epileptic phenomena. Ann. Neurol., 16 (suppl.): 531-538, 1984.
- BELENKY, G.L. and HOLADAY, J.W. The opiate antagonist naloxone modifies the effects of eletroconvulsive shock (ECS) on respiration, blood pressure, and heart rate. Brain Res., 177: 414-417, 1979.
- BENEDEK, G. and SZIKSKAY, M. Sensitization of tolerance to morphine effects after repeated stress. Frog. Psychopharmacol. Biol. Psycqiat., 2: 369-380, 1985.
- BHATTACHARYA, S.K. and PARMAR, S.S. Stress by restraining potentiates morphine catalepsy in rats. Experientia, 41: 1542-1543, 1985.
- BIZIERE, K. and CHAMBON, J.P. Modeles animaux d'épilepsie et crises experimentales. Rev. Neurol. (Paris) 143: 329-340, 1987
- BODNAR, R.J.; KELLY, D.D.; SPIAGGIA, A.; EHRENBERG, C. and GLUSMAN, M. Dose-dependent reductions by naloxone of analgesia induced by cold water stress. Pharmacol. Biochem. Behav., 8: 667-672, 1978a.
- BODNAR, R.J. ; KELLY, D.D. ; STEINER, S.S. and GLUSMAN, M. Stress-analgesia and morphine-produced analgesia: lack of cross tolerance. Pharmacol. Biochem. Behav., 8: 661-666, 1978b.
- BODNAR, R.J. ; KELLY, D.D.; BRUTUS, M. and GLUSMAN, M. Stress-induced analgesia: neural hormonal determinants. Neurosci. Biobehav. Rev., 4: 87-100, 1980.
- BORDIN, L.; SOUZA, R.F.; DE LIMA, T.C.M. and RAE, G.A. Modulacao noradrenergica da influencia do estresse sobre a susceptibilidade convulsiva de camundongos, IV Reuniao Anual da FESBE, Caxambu, MG, 1989.

- BOWERS, M.B.Jr.; BANNON, M.J. and HOFFMAN Jr., F.J. Activation of forebrain dopamine systems by phencyclidine and footshock stress: evidence for distinct mechanisms. Psychopharmacology, 93: 133-135, 1987.
  
- BROWN, A.C. and FRASER, T.R. On the connection between chemical constitution and physiological action; with special reference to the physiological action of the salts of the ammonium bases derived from strychnia, brucia, thebaia, codeia, morphia, and nicotia. J. Anat. Physiol., 2: 224-242, 1868.
  
- CAIN, D.P. and CORCORAN, N.E. Intracerebral beta-endorphin, met-enkephalin and morphine: Kindlings of seizure and handling-induced potentiation of epileptiform effects. Life Sci., 34: 2535-2542, 1984.
  
- CAIN, D.P. and CORCORAN, M.E. Epileptiform effects of met-enkephalin, beta-endorphin and morphine: Kindling of generalized seizures and potentiation of epileptiform effects by handling. Brain Res., 338: 327-336, 1985.
  
- CALDECOTT-HAZARD, S. and LIEBESKIND, J.C. Test-specific analgesia elicited by kindled seizures in rats. Brain Res., 251: 196-199, 1982.
  
- CALDECOTT-HAZARD, S.; YAMAGATA, N.; HEDLUND, J.; CAMACHO, H. and LIEBESKIND, J.C. Changes in simple and complex behaviors following kindled seizures in rats: Opioid and nonopioid mediation. Epilepsia, 24: 539-547, 1983.
  
- CALDECOTT-HAZARD, S.; ACKERMANN, R.F. and ENGEL Jr., J. Opioid involvement in postictal and interictal changes in behavior. In: Neurotransmitters, Seizures and Epilepsy II, Fariello, RG et al. (Eds), Raven Press, New York, 1984, pp.305-314.
  
- CANNON, J.T.; TERMAN, G.W.; LEWIS, J.W. and LIEBESKIND, J.C. Body region shocked need not critically define the neurochemical basis of stress analgesia. Brain Res., 323: 316-319, 1984.
  
- CANNON, W.B. Organization for physiological homeostasis. Physiol. Rev., 9: 399-431, 1929.

- CANNON, W.B. The wisdom of the body. Norton, New York, 2nd edition, 1939.
  
- CANNON, J.T. and LIEBESKIND, J.C. Analgesic effects of electrical brain stimulation and stress. Pain Headache, 9: 283-294, 1987.
  
- CHAVKIN, C. Electrophysiology of opiates and opioid peptides. In: The opiate receptors, edited by G.W.PASTERNAK, Humana Press, 1988, 273-303.
  
- CHEN, C.S.; GATES, G.R. and REYNOLDS, J.A. Effect of morphine and naloxone on priming-induced audiogenic seizures in BALB/c mice. Br. J. Pharmacol., 58: 517-520, 1976.
  
- CHUGANI, H.T.; ACKERMAN, R.F.; CHUGANI, D.C. and ENGEL, J. Opioid-induced epileptogenic phenomena: Anatomical, behavioral, and electroencephalographic features. Ann. Neurol., 15: 361-368, 1984.
  
- COHEN, H.B. and DEMENT, W.C. Prolonged tonic convulsions in REM deprived mice. Brain Res., 22: 421-422, 1970.
  
- CORDA, M.G. and BIGGIO, G. Stress and GABAergic transmission: biochemical and behavioural studies. In: GABAergic transmission and Anxiety, G.BIGGIO and E. COSTA (eds), Raven Press, New York, 1986, pp.121-136.
  
- CORDA, M.G.; CONCAS, A. and BIGGIO, G. Stress and GABA/Benzodiazepine receptor/chloride ionophore complex. In: Anxious depression: assessment and treatment, edited by G. RACAGNI and E.SMERALDI, Raven Press, New York, 1987, pp.113-119.
  
- CORRADO, A.P. and LONGO, V.G. An electrophysiological analysis of the convulsant action of morphine, codeine, and thebaine. Arch. Int. Pharmacodyn. Ther., 132: 255-269, 1961.
  
- COTTRELL, G.A.; NYAKAS, C. and BOHUS, B. Hippocampal kindling-induced afterdischarge and behavioural depression: immediate and long-term attenuation by opiate antagonists. Eur. J. Pharmacol., 150: 1-8, 1988.

- COWAN, A.; GELLER, E.B. and ADLER, M.W. Classification of opioids on the basis of change in seizure thresholds. Science, 206: 465-467, 1979.
- COWAN, A.; TORTELLA, F.C. and ADLER, M.W. A comparison of the anticonvulsant effects of two systemically active enkephalin analogues in rats. Eur. J. Pharmacol., 71: 117-121, 1981.
- CURRIE, S.; HEATHFIELD, K.W.G.; HENSON, R.A. and SCOTT, D.F. Clinical course and prognosis of temporal lobe epilepsy: A survey of 666 patients. Brain Res., 74: 173-190, 1971.
- DE LIMA, T.C.M. and RAE, G.A. Efeitos de duas modalidades de stress sobre as convulsões induzidas pela pilocarpina em camundongos. Cien. and Cult., 38: 1097p, 1986.
- DE LIMA, T.C.M. and RAE, G.A. Participation of serotonergic mechanisms in the anticonvulsant effect of stress in mice treated with pentylentetrazol. Braz. J. Med. Biol. Res., 21: 333-335, 1988.
- DINGLELINE, R. Opioid peptides: Central nervous system. In: Neuro-transmitter actions in the vertebrate nervous system; edited by A. ROGAWSKI and J.L. BARKER, Plenum Press, 1985, New York, pp.341-364.
- DINGLELINE, R.R.; IVERSEN, L.L. and BREUKER, E. Naloxone as a GABA antagonist: Evidence from iontophoretic, receptor binding and convulsant studies. Eur. J. Pharmacol., 47: 19-27, 1978.
- DILSAVER, S.C.; SNIDER, R.M. and ALESSI, N.E. Stress induces supersensitivity of a cholinergic system in rats. Biol. Psychiatry., 21: 1093-1096, 1986.
- DRUGAN, R.C.; MORROW, A.L. WEIZMAN, R. WEIZMAN, A.; DEUTSCH, S.I.; CRAWLEY, J.N. and PAUL, S.M. Stress-induced behavioral depression in the rat is associated with a decrease in GABA receptor-mediated chloride ion flux and brain benzodiazepine receptor occupancy. Brain Res., 487: 45-51, 1989.
- DYMSHITZ, J. and AMIR, S. Opposite effects of restraint on morphine analgesia and naloxone-induced jumping. Pharmacol. Biochem. Behav., 30: 905-910, 1988.



- EISENBERG, R.M. Effects of naloxone on plasma corticosterone in the opiate-naive rat. Life Sci., 26: 935-943, 1980.
- EISENBERG, R.M. Plasma corticosterone changes in response to central or peripheral administration of kappa and sigma opiate agonists. J. Pharmacol. Exp. Ther., 233: 863-869, 1985.
- ELEKES, I.; PATTHY, A.; LANG, T. and PALKOVITS, M. Concentrations of GABA and glycine in discrete brain nuclei. Stress-induced changes in the levels of inhibitory amino acids. Neuropharmacology, 25: 703-709, 1986.
- FERNANDES-GUARDIDOLA, A; ROCHA, L., PELLICER, F.; GUTIERREZ, R. and CALVO, J.M. Massed amygdaloid kindling in encephal` isol` cats: its facilitation by naloxone. Epilepsy Res., 4: 55-62, 1989.
- FORBES, H.B.; STERN, W.C.; TRACY, C.A.; RESNICK, D. and MORGANE, P.J. Effect of chronic protein malnutrition on experimentally induced seizures in the rat. Exp. Neurol, 62: 475-481, 1978.
- FRENK, H.; URCA, G. and LIEBESKIND, J.C. Epileptic properties of leucine- and methionine-enkephalin: comparison with morphine and reversibility by naloxone. Brain Res., 147: 327-337, 1978.
- FRENK, H.; ENGEL Jr, J.; ACKER MANN, R.F.; SHAVIT, Y. and LIEBESKIND, J.C. Endogenous opioids may mediate post-ictal behavioral depression in amygdaloid-kindled rats. Brain Res., 167: 435-440, 1979.
- FREY, H.H. Anticonvulsant effect of morphine and morphine-like analgesics in Mongolian gerbils. Pharmacology, 32: 335-339, 1986.
- FREY, H.H.; CZUCZWAR, S.J, and SCHERKL, R. Morphine-like analgesics and convulsive threshold for pentetrazole in dogs. Arch. Int. Pharmacodyn. Ther., 283: 39-44, 1986.
- FRICKNECHT, H.R.; SIEGFRIED, B. and WASER, P.G. Opioids and behavior: genetic aspects. Experientia, 44: 473-481, 1988.

- FRISCKNECHT, H.R. and SIEGFRIED, B. Relationship between behavioral and nociceptive changes in attacked mice: mice effects of opiate antagonists. Psychopharmacology, 97: 160-162, 1989.
- GARANT, D.S. and GALE, K. Infusion of opiates into substantia nigra protects against maximal electroshock seizures in rats. J. Pharmacol. Exp. Ther., 234: 45-48, 1985.
- GASTAUT, H.E and TASSINARI, C.A. Triggering mechanisms in epilepsy. Epilepsia, 7: 85-125, 1966.
- GEORGE, R. and LOMAX, P. Biochemical aspects of drug dependence. In: Chemical and Biological Aspects of Drugs Dependence. MULE, S.J. and BRILL, H. (eds). CRC Press, Cleveland, 1972, pp.523-543.
- GIBSON, A.; GINSBURG, M.; HART, S.L. and KITCHEN, I. Effects of adrenalectomy and hypophysectomy on enkephalin content of rat hypothalamus. Br. J. Pharmacol., 70: 561-567, 1980.
- GILAD, G.M. The stress-induced response of the septo-hippocampal cholinergic system. A vectorial outcome of psychoneuro-endocrinological interactions. Psychoneuroendocrinology, 12: 167-184, 1987.
- GILAD, G.M.; GILAD, V.H. and RABEY, J.M. Dopaminergic modulation of the septo-hippocampal cholinergic system activity under "stress". Life Sci., 39: 2387-2393, 1983.
- GILAD, G.M.; RABEY, J.M. and GILAD, V.H. Presynaptic effects of glucocorticoids on dopaminergic and cholinergic synaptosomes. Implications for rapid endocrine-neural interactions in stress. Life Sci., 40: 2401-2408, 1987
- GIRARDDOT, M-N. and HOLLOWAY, F.A. Cold-water stress analgesia in rats: differential effects of naltrexone. Physiol. Behav., 32: 547-555, 1984.
- GLAVIN, G.B. Stress and brain noradrenaline: a review. Neurosci. Biobehav. Rev., 9: 233-243, 1985.
- GRAHNSTEDT, S. Sleep deprivation and kindled seizures. Exp. Neurol., 92: 248-260, 1986.

- GUEDES, R.C.A.; DE AZEREDO, F.A.M.; HICKS, T.P.; CLARKE, R.J. and TASHIRO, T. Opioid mechanisms involved in the slow potential change and neuronal refractoriness during cortical spreading depression. Exp. Brain Res., 69: 113-118, 1987.
- GUILLEMIN, R.; VARGO, T.; ROSSIER, J.; MINICK, S.; LING, S.N.; RIVIER, C.; VALE, W. and BLOOM, F. Beta-endorphin and adrenocorticotropin are secreted concomitantly by the pituitary gland. Science, 197: 1367-1369, 1977.
- HAMM, R.J. and KNISELY, J.S. The analgesia produced by food deprivation in 4-month old, 14-month old, and 24-month old rats. Life Sci., 39: 1509-1515 1986.
- HAMON, M.; BOURGOIN, S.; LE BARS, D. and CESSÉLIN, F. In vivo and in vitro release of central neurotransmitters in relation to pain and analgesia. Prog. Brain Res., 77: 431-444, 1988.
- HARRIS, G.W. Neural control of the Pituitary Gland. Edward Arnold, London, 1955.
- HATTINGH, J. Physiological measurement of stress. South Afr. J. Sci., 82: 612-614, 1986.
- HATTINGH, J. Comparative quantitation of the physiological response to acute stress in impala and roan antelope. Com. Biochem. Physiol., 4: 547-551, 1988.
- HENRIKSEN, S.J.; BLOOM, F.E.; MCCOY, F.; LING, N. and GUILLEMIN, R. Beta-endorphin induces nonconvulsant limbic seizures. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75: 5221-5225, 1978.
- HENRIKSEN, S.J.; MORRISON, F. and BLOOM, F.E. Beta-endorphin induced epileptiform activity increases local cerebral metabolism in hippocampus, amygdala and septum. Neurosci. Abstr. 5: 528, 1979.

- HESS, W.R. Vegetative Funktionen Und Zwischenhirn. Helv. Physiol. Pharmacol. Acta (Suppl.4), 1947.
- HESS, W.R. Prinzipien cerebraler organization. Experientia, 19: 511-514, 1963.
- HNATOWICH, M.R.; LABELLA, F.S.; KIERNAN, K. and GLAVIN, G.B. Cold-restraint stress reduces [<sup>3</sup>H] etorphine binding to rat brain membranes: Influence of acute and chronic morphine and naloxone. Brain Res., 380: 107-113, 1986.
- HOLADAY, J.W. and BELENKY, G.L. Opiate-like effects of electroconvulsive shock in rats: a differential effect of naloxone on nociceptive measures. Life Sci., 27: 1929-1938, 1980.
- HOLADAY, J.W. and LOH, H.H. Endorphin-opiate interaction with neuroendocrine systems. In: Neurochemical mechanisms of opiates and endorphins, Adv. Biochem. Psychopharmac., LOH, H.H. and ROSS, D.H. (Eds), Raven Press, New York vol.20, 1979, pp.227-258.
- HOLSON, R.R.; SCALLET, A.C.; ALI, S.F.; SULLIVAN, P. and GOUCH, B. Adrenocortical, Beta-endorphin and behavioral responses to graded stressors in differentially reared rats. Physiol. Behav., 42: 125-130, 1988.
- HONG, J.S.; WOOD, P.L.; GILLIN, J.C.; YANG, H.Y.T. and COSTA, E. changes of hippocampal Met-enkephalin content after recurrent motor seizures. Nature, 285: 231-232, 1980.
- HOTTA, S. On the cause of morphine habituation. Japan. J. Med. Sci. IV. Pharmacol., 6: 115-132, 1932.
- ILLES, P. An unexpected effect of opiates in the limbic system. Trends Pharmacol. Sci., 8: 313-314, 1982.
- IKONOMIDOU-TURSKI, C.; CAVALHEIRO, E.A.; TURSKI, W.A.; BORTOLOTTI, Z.A. and TURSKI, L. Convulsant action of morphine, (d-ala<sup>2</sup>, d-Leu<sup>5</sup>)-enkephalin and naloxone in the rat amygdala: electroencephalographic, morphological and behavioral sequelae. Neuroscience, 20: 671-686, 1987.

- JEZOVA, D.; VIGAS, M. and JURCOVICOVA, J. ACTH and corticosterone response to naloxone and morphine in normal, hypophysectomized and dexamethasone-treated rats. Life Sci., 31: 307-314, 1982.
- KALIN, N.H.; SHERMAN, J.E. and TAKAHASHI, L.K. Antagonism of endogenous CRH systems attenuates stress-induced freezing behavior in rats. Brain Res., 457: 130-135, 1988.
- KAMATA, K.; YOSHIDA, S. and KAMEYAMA, T. Antagonism of footshock stress-induced inhibition of intracranial self-stimulation by naloxone or methamphetamine. Brain Res., 371: 197-200, 1986.
- KANT, G.J.; EGGLESTON, T. LANDMAN-ROBERTS, L.; KENION, C.C.; DRIVER, G.C. and MEYERHOFF, J.L. Habituation to repeated stress is stressor specific. Pharmacol. Biochem. Behav., 22: 631-634, 1985.
- KANT, G.J.; LANDMAN-ROBERTS, L.; EGGLESTON, T. and MEYERHOFF, J.L. Atropine sulfate increases pituitary responses to stress. Pharmacol. Biochem. Behav., 26: 619-623, 1987.
- KARP, L.; WEIZMAN, A.; TYANO, S. and GAVISH, M. Examination stress, platelet peripheral benzodiazepine binding sites, and plasma hormone levels. Life Sci., 44: 1077-1082, 1989.
- KATZ, R.J. and BALDRIGHI, G.A. Further parametric study of imipramine in an animal model of depression. Pharmacol. Biochem. Behav., 16: 969-972, 1983.
- KATZ, R.J. and MANIK, C.P. Endogenous opiates and stress: behavioral activation elicited in the rat and effects of naltrexone, diprenorphine and morphine. Neuropharmacology., 23: 1425-1430, 1984.
- KEIM, K.L. and SIGG, E.B. Physiological and biological concomitants of restraint stress in rats. Pharmacol. Biochem. Behav., 4: 289-297, 1976.
- KELLY, S.J. and FRANKLIN, K.B.J. Role of peripheral and central opioid activity in analgesia induced by restraint stress. Life Sci., 41: 789-794, 1987.

- KOKKA, N.; GARCIA, J.F. and ELLIOT, H.W. Effects at acute and chronic administration of narcotic analgesics in growth hormone and corticotrophin (ACTH) secretion in rats. Prog. Brain Res., 37: 347-360, 1973.
  
- KOPELOFF, L.; CHUSID, J. and KOPELOFF, N. Chronic experimental epilepsy in Macaca mulatta. Neurology., 4: 218-227, 1954.
  
- KOSTERLITZ, H.W. Opioid peptides and their receptors. Proc. Royal Soc. London, B225: 27-40, 1985.
  
- LEE, R.J.; BAJOREK, J.G. and LOMAX, P. Opioid peptides and seizures in the spontaneously epileptic Mongolian gerbil. Life Sci., 33: 567-570, 1983.
  
- LEE, R.J.; BAJOREK, J.G. and LOMAX, P. Similar anticonvulsant, but unique, behavioural effects of opioid agonists in the seizure-sensitive Mongolian gerbil. Neuropharmacology, 23: 517-514, 1984.
  
- LEE, R.J. and LOMAX, P. The effect of spontaneous seizures on pentylentetrazole and maximum electroshock induced seizures in the mongolian gerbil. Eur. J. Pharmacol., 106: 91-96, 1985.
  
- LEVINE, J.D.; FELDMESSER, M.; TE COTT, L.; LANE, S. and GORDON, N.C. The role of stimulus intensity and stress in opioid-mediated analgesia. Brain Res., 304: 265-269, 1984.
  
- LEWIS, J.W.; CANNON, J.T. and LIEBSKIND, J.C. Opioid and non-opioid mechanism of stress analgesia. Science, 208: 623-625, 1980.
  
- LEWIS, J.W.; SHERMAN, J.E. and LIEBESKIND, J.C. Opioid and non-opioid stress analgesia: assessment of tolerance and cross-tolerance with morphine. J. Neurosci., 1: 358-363, 1981.
  
- LEWIS, J.; MANSOUR, A.; KHACHATURIAN, H., WATSON, S.J. and AKIL, H. Opioids and pain regulation. Pain Headche, 9: 129-159, 1987.

- LIGHTMAN, S.L. and YOUNG III, W.S. Changes in hypothalamic preproenkephalin A mRNA following stress and opiate withdrawal. Nature, 328: 643-645, 1987.
- LINSEMAN, M.A. and CORRIGALL, W.A. Effects of naloxone on hippocampal seizure activity. Behav. Neural Biol., 48: 159-164, 1987.
- LOSCHER, W. 3-Mercaptopropionic acid: convulsant properties, effects on enzymes of the aminobutyrate system in the mouse brain and antagonism by certain anticonvulsant drugs, aminooxyacetic acid and gabaculine. Biochem. Pharmacol., 28: 1397-1407, 1979.
- MACEDO-NETO, W.P.; DE LIMA, T.C.M. and RAE, G.A. Ausência de correlação entre hipotermia e aumento de latência e convulsões em camundongos submetidos a estresse. IV Reuniao Anual da FESBE, Caxambú, MG, 1989.
- MAGNAN, J.; PATERSON, S.J.; TAVANI, A. and KOSTERLITZ, H.W. The binding spectrum of narcotic analgesic drugs with different agonist and antagonist properties. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 319: 197-205, 1982.
- MAIER, S.F.; RYAN, S.M.; BARKSDALE, C.M. and KALIN, N.H. Behav. Neurosci., 100: 669-674, 1986.
- MAKARA, G.B. Mechanisms by which stressful stimuli activate the pituitary-adrenal system. Fed. Proc. 44: 149-153, 1985.
- MANSOUR, A and VALESTEIN, E.S. Morphine responsiveness and seizure proneness. Exp. Neurol., 85: 346-357, 1984.
- MANSOUR, A. and VALESTEIN, E.S. Changes in responsiveness to Mu and Kappa opiates following a series of convulsions. Exp. Neurol., 90: 224-237, 1985.
- MARLEY, R.J.; GAFFNEY, D. and WEHNER, J.M. Genetic influences on GABA-related seizures. Pharmacol. Biochem. Behav., 24: 665-672, 1986.
- MARTIN, W.R. Pharmacology of opioids. Pharmacol. Rev. 35: 283-323, 1984.

- MASON, J.W. A re-evaluation of the concept of "nonspecificity" in stress theory. J. Psychiat. Res., 8: 323-333, 1971.
- MASSOTTI, M.; SAGRATELLA, S.; ARGIOLAS, L. and MELE, L. Influence of morphine and cyclazocine on the cortical epileptic foci in rabbits. Brain Res., 310: 201-212, 1984.
- MCGINTY, J.F.; KANAMATSU, T.; OBIE, J.; DYER, R.S.; MITCHELL, C.L. and HONG J-S. Amygdaloid kindling increases enkephalin-like immunoreactivity but decreases dynorphin-A-like immunoreactivity in rat hippocampus. Neurosci. Lett., 71: 31-36, 1986.
- MELDRUM, B.S.; MENINICH, J.M.S. and NAQUET, R. Effects of opiate-like peptides, morphine, and naloxone in the photosensitive baboon, Papio papio. Brain Res., 170: 333-348, 1979.
- MISLOBODSKY, M.; KOFMAN, O. and MINTZ, M. Convulsant-specific architecture of the postictal behavior syndrome in the rat. Epilepsia, 22: 559-568, 1981.
- MOLAIE, M. and KADZIELAWA, K. Effect of naloxone infusion on the rate of epileptiform discharges in patients with complex partial seizures. Epilepsia, 30: 194-200, 1989.
- MORI, A.; HIRAMATSU, M. KABUTO, H. and MARESCAU, B. Effects of emotional stress on E1-mouse convulsions, and their biochemical background. Neurochemical. Res., 11: 37-45, 1986.
- NABESHIMA, T.; MATSUNO, K.; KAMEI, H.; NODA, Y. and KAMEYMA, T. Electric footshock-induced changes in behaviour and opioid receptor function. Pharmacol. Biochem. Behav., 23: 769-775, 1985.
- NORTH, R.A. Opiates, opioid peptides and single neurones. Life Sci., 24: 1527-1546, 1979.
- O'CONNOR, P. and CHIPKIN, R.E. Comparisons between warm and cold water swim stress in mice. Life Sci., 35: 631-639, 1984.
- OLIVEIRAS, J.L. and BESSON, J.M. Stimulation-produced analgesia in animals: behavioural investigations. Prog. Brain. Res., 77: 41-157, 1988.



- OLIVERIO, A.; CASTELLANO, C. and PUGLISI-ALLEGRA, S. Anti-convulsant effects of stress: role of endogenous opioids. Brain Res., 271: 193-195, 1983.
- OLIVERIO, A.; CASTELLANO, C.; PUGLISI-ALLEGRA, S. and RENZI, P. Diurnal variations in electroconvulsive shock-induced seizures: involvement of endogenous opioids. Neurosci. Lett., 57: 237-240, 1985.
- OLSON, G.A.; OLSON, R.D. and KASTIN, A.J. Endogenous opiates: 1986. Peptides, 8: 1135-1164, 1987.
- ORFILA, A.; BICHARD, P. and TASCHERON, E. Poisoning by the acetate of morphine. Lancet, 2: 391, 1929.
- PANOCKA, I.; MAREK, P. and SADOWSKI, B. Inheritance of stress-induced analgesia in mice. Selective breeding study. Brain Res., 397: 152-155, 1986.
- PEREIRA, G.H.; DE LIMA, T.C.M. and RAE, G.A. Avaliação da susceptibilidade convulsiva em animais submetidos a repetidas condições de estresse e possíveis modificações induzidas pela naltrexona. IV Reuniao Anual da FESBE, Caxambu, MG, 1989.
- PETERS, D.A. Effects of maternal stress during different gestational periods on the serotonergic system in adult rat offspring. Pharmacol. Biochem. Behav., 31: 839-843, 1989.
- PLOTNIKOFF, N.P.; KASTIN, A.J.; COY, D.H.; CHRISTENSEN, E.W.; SCHALLY, A.V. and SPIRITES, M.A. Neuropharmacological actions of enkephalin after systemic administration. Life Sci., 19: 1283-1288, 1976.
- PRZEWLOCKA, B.; STALA, L.; LASON, W. and PRZEWLOCKA, R. The effect of various opiate receptor agonists on the seizure threshold in the rat. Is dynorphin an endogenous anticonvulsant? Life Sci., 35: 595-598, 1983.

- PRZEWLOCKA, R.; LASON, W.; HOLLT, V.; SILBERRING, J. and HERZ, A. The influence of chronic stress on multiple opioid peptide systems in the rat: pronounced effects upon dynorphin in spinal cord. Brain Res., 413: 213-219, 1987.
  
- PUGLISI-ALLEGRA, S.; CASTELLANO, C.; CSANYI, V.; DOKA, A. and OLIVERIO, A. Opioid antagonism of electroshock-induced seizures. Pharmacol. Biochem. Behav., 20: 767-769, 1984.
  
- PUGLISI-ALLEGRA, S.; CABIB, S. and OLIVEIRO, A. Pharmacological evidence for a protective role of the endogenous opioid system on electroshock-induced seizures in the mouse. Neurosci. Lett., 62: 241-247, 1985.
  
- PUGLISI-ALLEGRA, S.; CASTELLANO, C. and CABIB, S. Protective effect of Kappa opioid receptor agonists on electroshock-induced seizures in mice. Psychopharmacology., 89: S29, 1986.
  
- PUIG, M.M.; MIRALLES, F. and LAORDEN, L. Naloxone prevents hyperthermia induced convulsions in the imature rat. Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol., 8: 649-653, 1986.
  
- QUIRCE, C.M. and MACIKEL, R.P. Alterations of biochemical parameters by acute and repetitive stress situations in mice. Psychoneuroendocrinology, 6: 91-97, 1981.
  
- RAE, G.A.; PERREIRA, G.H. and DE LIMA, T.C.M. The influence of conspecific aggression on convulsive parameters in the mouse. Neuro Biobehav. Rev. (in press, 1989).
  
- REISINE, T.; AFFOLTER, H-U.; ROUGON, G. and BARBET, J. New insights into the molecular mechanism of stress. Trends Neurosci., 8: 574-579, 1986.

- ROCHFORD, J. and HENRY, J.L. Analgesia induced by continuous versus intermittent cold water swim in the rat: differential effects of intrathecal administration of phentolamine and methysergide. Pharmacol. Biochem. Behav., 31: 27-31, 1988.
- ROSSIER, J.; FRENCH, E.D.; RIVIER, C.; LING, N.; GUILLEMIN, R. and BLOOM, F.E. Footshock induced stress decreases leu-enkephalin immunoreactivity in rat hypothalamus. Eur. J. Pharmacol., 18: 465-466, 1978.
- SAFFRAN, M. and SCHALLY, A.V. The release of corticotrophin by anterior pituitary tissue "in vitro". Can. J. Biochem. Physiol., 33: 408-415, 1955.
- SAGRATELLA, S. and MASSOTTI, M. Convulsant and anticonvulsant effects of opioids: relationship to GABA-mediated transmission. Neuropharmacology., 21: 991-1000, 1982.
- SCHREIBER, R.A. The effects of naloxone on audiogenic seizures. Psychopharmacology., 66: 205-206, 1979.
- SCHWARTZ, R.D.; WESS, M.J.; LABARCA, R.; SKOLNICK, P. and PAUL, S.M. Acute stress enhances the activity of the GABA receptor-gated chloride ion channel in brain. Brain Res., 411: 151-155, 1987.
- SEGAL, D.S.; KUCZENSKI, R. and SWICK, D. Audiogenic stress response: behavioral characteristics and underlying monoamine mechanism. J. Neural Transm., 75: 31-50, 1989.
- SELYE, H. A syndrome produced by diverse noxious agents. Nature, 138: 32, 1936a.
- SELYE, H. Thymus and adrenals in the response of the organism to injuries and intoxications. Br. J. Exp. Pathol., 17: 234-248, 1936b.
- SELYE, H. The alarm reaction. Can. Med. Assoc. J., 34: 706, 1936c.
- SELYE, H. Perforated peptide ulcer during air-raid. Lancet, 244: 252, 1943.

- SELYE, H. Annual Report of stress. Acta Inc. Medical Publishers, Montreal, 1951.
- SELYE, H. Stress and diseases. Science, 122: 625, 1955.
- SELYE, H. Stress in health and disease. Butterworth, London, 1976.
- SHAVIT, Y.; CALDECOTT-HAZARD, S. and LIEBESKIND, J.C. Activating endogenous opioid systems by electroconvulsive shock or footshock stress inhibits recurrent kindled seizures in rats. Brain Res., 305: 203-207, 1984.
- SHOUSE, M.N. Sleep deprivation increases susceptibility to kindled and penicillin seizure events during all waking and sleep states in cats. Sleep, 11: 162-171, 1988.
- SIEGEL, R.A.; CHOWERS, I. CONFORTI, N.; FELMAN, S. and WEIDENFELD, J. Effects of naloxone on basal and stress-induced ACTH and corticosterone secretion in the male rat: site and mechanism of action. Brain Res., 249: 103-109, 1982.
- SIEGFRIED, B. and FRISCHKNECHT, H.R. Naltrexone-reversible pain suppression in the isolated attacking mouse. Behav. Neural Biol., 50: 354-360, 1988.
- SIEGFRIED, B. and FRISCHKNECHT, H.R. Place avoidance learning and stress-induced analgesia in the attacked mouse: Role of endogenous opioids. Behav. Neural Biol., 52: 95-107, 1989.
- SIMMONDS, M.A. Leptazol as a gamma-aminobutyric acid antagonist. Br. J. Pharmacol., 70: 75p, 1980.
- SIMON, E.J. and HILLER, J.M. Opioid peptides and opioid receptors. In: Basic neurochemistry: molecular, cellular, and medical aspects, edited by G.J. Siegel et al., 4th, Edition, Raven Press, New York, 1989, pp. 271-285.
- SMOLEN, A.; SMOLEN, T.N. and VAN DE KAMP, J.L. The effect of naloxone administration on pregnancy-associated seizures. Life Sci., 38: 1899-1905, 1986.

- SNEAD III, O.C. Opiate-induced seizures: A study of mu and delta specific mechanisms. Exp. Neurol., 93: 348-358, 1986.
- SNEAD III, O.C. and BEARDEN, L.J. Anticonvulsants specific for "petit mal" antagonize epileptogenic effect of leucine-enkephalin. Science, 210: 1031-1033, 1980.
- SNEAD III, O.C. and BEARDEN, L.J. The epileptogenic spectrum of opiate agonists. Neuropharmacology, 21: 1137-1144, 1982.
- SOURKES, T.L. Pathways of stress in the CNS. Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiat., 7: 389-411, 1983.
- SQUIRES, R.F.; SAEDRUP, E.; CRAWLEY, J. N.; SKOLNICK, P. and PAUL, S.M. Convulsant potencies of tetrazoles are highly correlated with actions on GABA/benzoazepine/picrotoxin receptor complexes in brain. Life Sci., 35: 1439-1444, 1984.
- STANDAGE, K. Treatment of epilepsy by reciprocal inhibition of anxiety. Guys Hosp. Rep., 121: 217-221, 1972.
- STANFORD, S.C. and WAUGH, J. Acute mild stress causes alpha 2-adrenoceptor up-regulation in rat cerebral cortex. Br. J. Pharmacol., 89: 645P, 1986.
- STONE, W.S.; EGGLETON, C.E. and BERMAN, R.F. Opiate modification of amygdaloid-kindled seizures in rats. Pharmacol. Biochem. Behav., 16: 751-756, 1982.
- SVENSSON, T.H. Peripheral, autonomic regulation of locus coeruleus noradrenergic neurons in brain: putative implications for psychiatry and psychology. Psychopharmacology, 92: 1-7, 1987.
- SYMONDS, C. Some observations on the facilitation or arrest of epileptic seizures, Oxford University Press, 1970. London,
- SWINYARD, E.A.; RADHAKRISHAM, N. and GOODMAN, L.S. Effect of brief restraint on the convulsive threshold of mice. J.Pharmacol. Exp. Ther., 138: 337-342, 1962.

- SWINYARD, E.A.; MIYARA, J.T.; CLARK, L.D. and GOODMAN, L.S. The effect of experimentally induced stress on pentylenetetrazol seizure threshold in mice. Psychopharmacology, 4: 343-353, 1963.
- SZTRIHA, L.; LELKES, Z.; BENEDEK, G. and JOV, F. Potentiating effect of morphine on seizures induced by kainic acid in rats. Naunyn-Schmiedeberg's. Arch. Pharmacol., 333: 47-51, 1986.
- TAKAHASHI, M.; TOKUYAMA, S. and KANETO, H. Implication of endogenous opioid mechanism in the production of the anti nociceptive effect induced by psychological stress in mice. Japan. J. Pharmacol., 44: 283-291, 1987.
- TANAKA, M.; IDA, Y. and TSUDA, A. Naloxone, given before but not after stress exposure, enhances stress-induced increases in regional brain noradrenaline release. Pharmacol. Biochem. Behav., 29: 613-616, 1988.
- TANAKA, M.; IDA, Y.; TSUDA, A.; TSUJIMARU, S.; SHIRAO, I. and OGUCHI, M. Met-enkephalin, injected during the early phase of stress, attenuates stress-induced increases in noradrenaline release in rat brain regions. Pharmacol. Biochem. Behav., 32: 791-795, 1989.
- TEMKIN, N.R. and DAVIS, G.R. Stress as a risk factor for seizures among adults with epilepsy. Epilepsia, 25: 450-456, 1984.
- TERMAN, G.W.; LEWIS, J.W. and LIEBESKIND, J.C. Opioid and non-opioid mechanisms of stress analgesia: Lack of cross-tolerance between stressors. Brain Res., 260: 147-150, 1983.
- TERMAN, G.W.; LEWIS, J.W. and LIEBESKIND, J.C. The effects of corticosterone on opioid stress analgesia. Proc. West. Pharmacol. Soc., 27: 447-450, 1984.
- TERMAN, G.W.; MORGAN, M.J. and LIEBESKIND, J.C. Opioid and non-opioid stress analgesia from cold water swim: importance of stress severity. Brain Res., 372: 167-171, 1986.

- TORRELLAS, A.; GUAZA, C.; BORRELL, J. and BORREL, S. Adrenal hormones and brain catecholamines responses to morning and afternoon immobilization stress in rats. Physiol. Behav., 26: 129-133, 1981.
  
- TORTELLA, F.C. Endogenous opioid peptides and epilepsy: quieting the seizing brain? Trends Pharmacol. Sci., 9: 366-372, 1988.
  
- TORTELLA, F.C. and COWAN, A.C. EEG, EMG and behavioral evidence for the involvement of endorphin systems in postictal events after electroconvulsive shock in rats. Life Sci., 31: 881-888, 1982.
  
- TORTELLA, F.C. and HOLADAY, J.W. Mu and delta opioid receptor interactions in a rat model of drug-induced seizures. Proc. West. Pharmacol. Soc., 27: 435-437, 1984.
  
- TORTELLA, F.C.; COWAN, A. and ADLER, M.W. Comparison of the anticonvulsant effects of opioid peptides and etorphine in rats after I.C.V. administration. Life Sci., 10: 1039-1045, 1981.
  
- TORTELLA, F.C.; ECHEVERRIA, E.; LPKOWSKI, A.W.; TAKEMORI, A.E.; PORTOGHESE, P.S. and HOLADAY, J.M. Selective kappa antagonist properties of nor-binaltorphimine in the rat MES seizure model. Life Sci., 44: 661-665, 1989.
  
- TORTELLA, F.C.; LONG, J.B. and HOLADAY, J.W. Endogenous anticonvulsant substance in rat cerebro-spinal fluid after generalization seizure. Science, 228: 1106-1108, 1985b.
  
- TORTELLA, F.C.; ROBLES, L.E.; HOLADAY, J.W. and COWAN, A. A selective role of delta-receptors in the regulation of opioid-induced changes in seizure threshold. Life sci., 33: 603-606, 1983.
  
- TORTELLA, F.C.; ROBLES, L. and MOSBERG, H.I. Evidence for Mu opioid receptor mediation of enkephalin-induced electroencephalographic seizures. J. Pharmacol. Exp. Ther., 240: 571-577, 1987.

- TORTELLA, F.C.; ROBLES, L.; MOSSBERG, H.I. and HOLADAY, J.W. Electroencephalographic characterization of mu and delta opioid receptor activity in rats. Soc. Neurosci. Abstr., 11: 308, 1985a.
- TRULLA, R.; HAVOUNDJIAN, H. and SKOLNICK, P. Stress induced changes in + -(35 S) butylbicyclophosphorothionate channels are mimicked by in vitro occupation of benzodiazepine receptors. J. Neurochem., 49: 968-974, 1987.
- TURSKI, L.; IKONOMIDOU, C.; CAVALHEIRO, E.A.; KLEINROK, Z.; CZUCZWAR, S.J. and TURSKI, W.A. Effects of morphine and naloxone on pilocarpine-induced convulsions in rats. Neuropeptides, 5: 315-318, 1985.
- URCA, G. and FRENK, H. Pro- and anticonvulsant action of morphine in rats. Pharmacol. Biochem. Behav., 13: 343-347, 1980.
- URCA, G.; FRENK, H.; LIEBESKIND, J.C. & TAYLOR, A.N. Morphine and enkephalin: Analgesic and epileptogenic properties. Science, 197: 83-86, 1977.
- URCA, G.; YITZHAKI, J. and FRENK, H. Different opioid systems may participate in post electroconvulsive shock (ECS) analgesia and catalepsy. Brain Res., 219: 385-396, 1981.
- VALE, N.B. and LEITE, J.R. Decreased susceptibility to local anesthetics-induced convulsions after paradoxical sleep deprivation. Psychopharmacology, 94: 138-140, 1988.
- VERDELAUX, G. and MARTY, R. Action sur l'electroencephalogramme de substances pharmacodynamiques d'interet clinique. Rev. Neurol., 91: 405-427, 1954.
- VINDROLA, O.; BRIONES, R.; ASAI, M. and FERNANDEZ-GUARDIOLA, A. Amygdaloid kindling enhances the enkephalin content in the rat brain. Neurosci. Lett., 21: 39-43, 1981.
- VOGEL, W.H. Stress- the neglected variable in experimental pharmacology and toxicology. Trends Pharmacol. Sci., 8: 35-38, 1987.
- VOLAVKA, J.; ZAKS, A.; ROUBICEK, J. and FINK, M. Electrographic effects of diacetylmorphine (heroin) and naloxone in man. Neuropharmacology, 9: 587-593, 1970.



- WARD, A. Topical convulsant metals. In: Experiential models Epilepsy, Purpura, D.; Penry, J.; Tower, D.; Woodbury, D. and Walter, r. (Eds.), Raven Press, New York, 1972, pp.13-35.
- WASACZ, J. Natural and synthetic narcotic drugs. Amer. Sci., 69: 318-324, 1981.
- WATKINS, L.R.; and MAYER, D.J. Organization of endogenous opiate and non-opiate pain control systems. Science, 216: 1185-1192, 1982.
- WATKINS, L.R.; COBELLI, D.A.; FARIS, P.; ACETO, M.D. & MAYER, D.J. Opiate vs. non-opiate footshock-induced analgesia (FSIA): The body region is a critical factor. Brain Res., 242: 299-308, 1982a.
- WATKINS, L.R.; COBELLI, D.A. and MAYER, D.J. Classical conditioning of front paw and hind paw footshock induced analgesia (FSIA): Naloxone reversibility and descendings pathways. Brain Res., 243: 119-132, 1982b.
- WILLOT, J.F. Protection from lethal audiogenic seizures in mice by physical restraint of movement. Exp. Neurol., 43: 359-368, 1974.
- WOOD, P.L. and IYENGAR, S. Central actions of opiates and opioid peptides In: The opiate receptors, edited by G.W. PASTERNAK, Humana Press, 1988, pp.307-356.
- YAKSH, T.L.; AL-RODHAN, N.R.F. and JENSEN, T.S. Sites of action of opiates in production of analgesia. Prog. Brain Res., 77: 373-369, 1988.
- YOUNG, G.A. and KHAZAN, N. Differential neuropharmacological effects of Mu, Kappa and Sigma opioid agonists on cortical EEG power spectra in the rat. Neuropharmacology., 23: 1161-1165, 1984.
- YOUNG, A.M. and WOODS, J.H. Limitations on the antagonistic actions of opioid antagonists. Fed. Proc., 41: 2333-2338, 1982.
- ZAGON, I.S. and McLAUGHLIN, P. Opioids, stress and the developing brain, In: Molecular biology of stress, Alan R. Liss, New York, 1989, pp.77-86.



Tabela I - Efeito da submissão de camundongos a duas condições de estresse, imobilização a 4° C e natação a 20° C, sobre a resposta convulsiva induzida por estimulação sonora, após pré-tratamento com naloxona 0, 1 ou 10 mg/kg s.c.

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
-----					
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
<u>STRESS</u>	2119.488	2	1059.744	4.047	<u>.028</u>
ERROR	7069.799	27	261.844		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
NLX	543.488	2	271.744	1.494	.232
<u>STRESS NLX</u>	3599.911	4	899.977	4.949	<u>.002</u>
ERROR	9818.599	54	181.825		
-----					
TOTAL	23151.288	89			

Tabela II - Efeito da submissão de camundongos a duas condições de estresse, imobilização a 4° C e natação a 20° C, sobre a latência para a primeira convulsão induzida por 60 mg/kg de pentilenotetrazol. i.p. após pré-tratamento com naloxona 0,1 ou 10 mg/kg s.c..

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
-----					
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
<u>STRESS</u>	5756406.406	2	2878203.203	5.705	<u>.008</u>
ERROR	13621037.500	27	504482.870		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
NLX	367993.281	2	183996.640	.687	
STRESS NLX	160894.062	4	40223.515	.150	
ERROR	14449262.625	54	267578.937		
-----					
TOTAL	34355593.875	89			

Tabela III - Efeito da submissão de camundongos a duas condições de estresse, imobilização a 4° C e natação a 20° C, sobre a duração da primeira convulsão induzida por 60 mg/kg de pentilenotetrazol i.p., após pré-tratamento com naloxona 0,1 ou 10 mg/kg s.c..

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
-----					
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
STRESS	855.355	2	427.677	1.306	.286
ERROR	8835.766	27	327.250		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
NLX	293.088	2	146.544	2.152	.124
STRESS NLX	109.777	4	27.444	.403	
ERROR	3677.133	54	68.095		
-----					
TOTAL	13771.122	89			

Tabela IV - Efeito da submissão de camundongos a duas condições de estresse, imobilização a 4° C e natação a 20° C, sobre a latência para a primeira convulsão induzida por 75 mg/kg de pentilenotetrazol i.p., após pre-tratamento com naloxona 0,1 ou 10 mg/kg s.c..

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
-----					
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
<u>STRESS</u>	4526430.419	2	2263215.209	11.016	<u>&lt;.001</u>
ERROR	5546984.296	27	205443.862		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
NLX	671342.138	2	335671.069	1.439	.245
STRESS NLX	511419.931	4	127854.982	.548	
ERROR	12596144.597	54	233261.937		
-----					
TOTAL	23852321.390	89			

Tabela IX - Efeito da submissão de camundongos a duas condições de estresse, imobilização a 4° C e natação a 20° C, sobre a latência para a primeira convulsão induzida por 30 mg/kg de ácido 3-mercaptopropiônico i.p., após pre-tratamento com naloxona 0,1 ou 10 mg/kg s.c.

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
-----					
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
<u>STRESS</u>	392963.358	2	196481.679	16.873	<u>&lt;.001</u>
ERROR	314405.763	27	11644.657		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
NLX	12289.018	2	6144.009	.771	
STRESS NLX	43536.644	4	10884.161	1.366	.257
ERROR	430263.331	54	7967.839		
-----					
TOTAL	1193457.116	89			

Tabela X - Efeito da submissão de camundongos a duas condições de estresse. imobilização a 4° C e natação a 20° C. sobre a latência para a primeira convulsão induzida por 60 mg/kg de ácido 3-mercaptopropionico i.p., após pre-tratamento com naloxona 0, 1 ou 10 mg/kg s.c.

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
-----					
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
<u>STRESS</u>	736.155	2	368.077	7.557	<u>.002</u>
ERROR	1314.999	27	48.703		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
<u>NLX</u>	785.088	2	392.544	6.927	<u>.002</u>
STRESS NLX	155.777	4	38.944	.687	
ERROR	3059.800	54	56.662		
-----					
TOTAL	6051.822	89			



Tabela XI - Efeito da submissão de camundongos a duas condições de estresse, imobilização a 4°C e natação a 20°C, sobre a duração da primeira convulsão induzida por 10 mg/kg de ácido 3-mercaptopropiônico i.p., após pré-tratamento com naloxona 0, 1 ou 10 mg/kg s.c.

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
-----					
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
<u>STRESS</u>	539444.270	2	269722.135	72.187	<u>&lt;.001</u>
ERROR	100882.398	27	3736.385		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
<u>NLX</u>	19703.269	2	9851.634	3.350	<u>.041</u>
<u>STRESS NLX</u>	49883.063	4	12470.765	4.240	<u>.004</u>
ERROR	158790.997	54	2940.574		
-----					
TOTAL	868703.999	89			

Tabela V - Efeito da submissão de camundongos a duas condições de estresse, imobilização a 4° C e natação a 20° C, sobre a duração da primeira convulsão induzida por 75 mg/kg de pentilenotetrazol i.p., após pré-tratamento com naloxona 0, 1 ou 10 mg/kg s.c.

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
-----					
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
<u>STRESS</u>	551.022	2	275.511	9.709	<u>&lt;.001</u>
ERROR	766.133	27	28.375		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
NLX	159.488	2	79.744	2.171	.122
STRESS NLX	115.911	4	28.977	.789	
ERROR	1983.266	54	36.727		
-----					
TOTAL	3575.822	89			

Tabela VI - Efeito da submissão de camundongos a duas condições de estresse, imobilização a 4° C e natação a 20° C, sobre a latência para a primeira convulsão induzida por 100 mg/kg de pentilenotetrazol i.p., após pre-tratamento com naloxona 0,1 ou 10 mg/kg s.c..

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
-----					
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
<u>STRESS</u>	4443587.832	2	2221793.916	10.408	<u>&lt;.001</u>
ERROR	5763462.640	27	213461.579		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
<u>NLX</u>	1964575.009	2	982287.504	9.825	<u>&lt;.001</u>
STRESS NLX	893963.974	4	223490.993	2.235	.076
ERROR	5398476.343	54	99971.784		
-----					
TOTAL	18464065.804	89			

Tabela VII - Efeito da submissão de camundongos a duas condições de estresse, imobilização a 4°C e natação a 20°C, sobre a duração da primeira convulsão induzida por 100 mg/kg de pentilenotetrazol i.p.. após pre-tratamento com naloxona 0, 1 ou 10 mg/kg s.c..

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
-----					
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
STRESS	225.266	2	112.633	.866	
ERROR	3508.166	27	129.932		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
NLX	1094.600	2	547.300	2.857	.064
STRESS NLX	122.533	4	30.633	.159	
ERROR	10343.533	54	191.546		
-----					
TOTAL	15294.099	89			

Tabela VIII - Efeito da submissão de camundongos a duas condições de estresse, imobilização a 4° C e natação a 20° C, sobre a latência para a primeira convulsão induzida por 10 mg/kg de ácido 3-mercaptopropionico i.p., após pre-tratamento com naloxona 0,1 ou 10 mg/kg s.c.

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
-----					
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
<u>STRESS</u>	1668550.034	2	834275.017	57.685	<u>&lt;.001</u>
ERROR	390486.191	27	14462.451		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
<u>NLX</u>	175523.295	2	87761.647	3.650	<u>.031</u>
<u>STRESS NLX</u>	278912.968	4	69728.242	2.900	<u>.029</u>
ERROR	1298092.395	54	24038.748		
-----					
TOTAL	3811564.885	89			

Tabela XII - Efeito da submissão de camundongos a duas condições de estresse, imobilização a 4°C e natação a 20°C, sobre a duração da primeira convulsão induzida por 30 mg/kg de ácido 3-mercaptopropiônico i.p., após pre-tratamento com naloxona 0, 1 ou 10 mg/kg s.c.

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
-----					
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
<u>STRESS</u>	3275.622	2	1637.811	13.476	<u>&lt;.001</u>
ERROR	3281.266	27	121.528		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
<u>NLX</u>	1046.422	2	523.211	5.093	<u>.009</u>
<u>STRESS NLX</u>	3578.844	4	894.711	8.710	<u>&lt;.001</u>
ERROR	5546.733	54	102.717		
-----					
TOTAL	16728.888	89			

Tabela XIII - Efeito da submissão de camundongos a duas condições de estresse, imobilização a 4° C e natação a 20° C, sobre a duração da primeira convulsão induzida por 60 mg/kg de ácido 3-mercaptopropiônico i.p., após o pre-tratamento com naloxona 0, 1 ou 10 mg/kg s.c.

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
-----					
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
STRESS	1388.022	2	694.011	2.525	.097
ERROR	7420.466	27	274.832		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
NLX	952.622	2	476.311	2.637	.079
STRESS NLX	259.111	4	64.777	.358	
ERROR	9752.933	54	180.609		
-----					
TOTAL	19773.155	89			

Tabela XIV - Efeito da submissão de camundongos a duas condições de estresse, imobilização a 4°C e natação a 20°C, sobre o tempo de flexão da convulsão induzida por eletrochoque transcorneal (25 mA), após pre-tratamento com naloxona 0, 1 ou 10 mg/kg s.c.

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
-----					
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
STRESS	1.216	2	.608	.783	
ERROR	20.957	27	.776		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
NLX	3.661	2	1.830	2.798	.068
STRESS NLX	2.760	4	.690	1.054	.388
ERROR	35.331	54	.654		
-----					
TOTAL	63.927	89			



Tabela XV - Efeito da submissão de camundongos a duas condições de estresse, imobilização a 4°C e a natação a 20°C, sobre o tempo de flexão da convulsão induzida por eletrochoque transcorneal (50 mA), após pré-tratamento com naloxona 0, 1 ou 10 mg/kg s.c.

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
-----					
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
STRESS	.976	2	.488	1.101	.347
ERROR	11.967	27	.443		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
<u>NLX</u>	6.278	2	3.139	17.746	<u>&lt;.001</u>
<u>STRESS NLX</u>	8.783	4	2.195	12.413	<u>&lt;.001</u>
ERROR	9.552	54	.176		
-----					
TOTAL	37.558	89			

Tabela XVI - Efeito da submissão de camundongos a duas condições de estresse, imobilização a 4°C e natação a 20°C, sobre o tempo de flexão da convulsão induzida por eletrochoque transcorneal (150 mA), após pré-tratamento com naloxona 0, 1 ou 10 mg/kg s.c.

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
-----					
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
STRESS	.266	2	.133	.562	
ERROR	6.399	27	.237		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
NLX	.866	2	.433	1.950	.150
STRESS NLX	.466	4	.116	.524	
ERROR	11.999	54	.222		
-----					
TOTAL	19.999	89			

Tabela XVII - Efeito da submissão de camundongos a duas condições de estresse, imobilização a 4° C e natação a 20° C, sobre o tempo de extensão da convulsão induzida por eletrochoque transcorneal (25 mA), após pré-tratamento com naloxona 0, 1 ou 10 mg/kg s.c.

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
-----					
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
STRESS	160.558	2	80.279	1.004	.381
ERROR	2158.766	27	79.954		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
<u>NLX</u>	733.446	2	366.723	15.689	<u>&lt;.001</u>
STRESS NLX	111.631	4	27.907	1.194	.323
ERROR	1262.149	54	23.373		
-----					
TOTAL	4426.551	89			

Tabela XVIII - Efeito da submissão de camundongos a duas condições de estresse, imobilização a 4° C e natação a 20° C, sobre o tempo de extensão da convulsão induzida por eletrochoque transcorneal (50 mA), após pre-tratamento com naloxona 0, 1 ou 10 mg/kg s.c.

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
-----					
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
STRESS	22351.360	2	11175.680	1.004	.381
ERROR	300439.351	27	11127.383		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
NLX	13082.523	2	6541.261	.588	
STRESS NLX	54018.201	4	13504.550	1.214	.315
ERROR	600419.807	54	11118.885		
-----					
TOTAL	990311.245	89			

Tabela XIX - Efeito da submissão de camundongos a duas condições de estresse, imobilização a 4°C e natação a 20°C, sobre o tempo de extensão da convulsão induzida por eletrochoque transcorneal (150 mA), após pre-tratamento com naloxona 0, 1 ou 10 mg/kg s.c.

SOURCE	SS	DF	MS	F	
STRESS	259.66	2	119.83	20.84	
NLX	52.19	2	26.09	4.54	STRESS F = .001
STRESS NLX	44.24	4	11.06	1.92	NLX F = .0134
ERROR	465.56	81	5.74		STRESS NLX F = .1134
TOTAL	801.66	89			

Tabela XX - Efeito da submissão de camundongos a duas condições de estresse, imobilização a 4° C e natação a 20° C, sobre a relação tempo de extensão/tempo de flexão da convulsão (25 mA), após pre-tratamento com naloxona 0.1 ou 10 mg/kg s.c.

SOURCE	SS	DF	MS	F	F'
-----					
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
STRESS	4407302.951	2	2203651.475	1.011	.378
ERROR	58816651.781	27	2178394.510		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
NLX	4441415.496	2	2220707.748	1.017	.369
STRESS NLX	8637372.484	4	2159343.121	.989	
ERROR	117850014.812	54	2182407.681		
-----					
TOTAL	194152757.562	89			

Tabela XXI - Efeito da submissão de camundongos a duas condições de estresse, imobilização a 4°C e natação a 20°C, sobre a relação tempo de extensão/tempo de flexão da convulsão induzida por eletrochoque transcorneal (50 mA), após pre-tratamento com naloxona 0, 1 ou 10 mg/kg s.c.

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
-----					
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
STRESS	121.900	2	60.950	.816	
ERROR	2015.644	27	74.653		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
<u>NLX</u>	1465.949	2	732.974	24.540	<u>&lt;.001</u>
STRESS NLX	277.282	4	69.320	2.320	.067
ERROR	1612.874	54	29.868		
-----					
TOTAL	5493.651	89			

Tabela XXII - Efeito da submissão de camundongos a duas condições de estresse, imobilização a 4°C e natação a 20°C, sobre a relação tempo de extensão/tempo de flexão da convulsão induzida por eletrochoque transcorneal (150 mA), após pre-tratamento com naloxona 0.1 ou 10 mg/kg s.c.

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
-----					
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
<u>STRESS</u>	239.664	2	119.832	24.955	<u>&lt;.001</u>
ERROR	129.651	27	4.801		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
<u>NLX</u>	52.194	2	26.097	4.195	<u>.019</u>
STRESS NLX	44.240	4	11.060	1.777	.145
ERROR	335.911	54	6.220		
-----					
TOTAL	801.663	89			



Tabela XXIII - Efeito da submissão de camundongos a duas condições de estresse, imobilização a 4°C e natação a 20°C, sobre a severidade das convulsões induzidas por diversas metodologias: A = estímulo sonoro; B = pentilenotetrazol (PTZ) 60 mg/kg i.p.; C = PTZ 75 mg/kg i.p.; D = PTZ 100 mg/kg i.p.; E = ácido 3-mercaptopropiônico (3MP) 10 mg/kg i.p.; F = 3MP 30 mg/kg i.p.; G = 3MP 60 mg/kg i.p.; após pre-tratamento com naloxona 0,1 ou 10 mg/kg s.c.

A)

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
-----					
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
<u>STRESS</u>	25.622	2	12.811	48.718	<u>&lt;.001</u>
ERROR	7.099	27	.262		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
NLX	.422	2	.211	.640	
<u>STRESS NLX</u>	13.111	4	3.277	9.943	<u>&lt;.001</u>
ERROR	17.799	54	.329		
-----					
TOTAL	64.055	89			

B)

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
-----					
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
STRESS	33.755	2	16.877	2.871	.072
ERROR	158.699	27	5.877		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
NLX	11.088	2	5.544	1.476	.236
STRESS NLX	14.111	4	3.527	.939	
ERROR	202.800	54	3.755		
-----					
TOTAL	420.455	89			

C)

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
-----					
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
STRESS	.288	2	.144	.085	
ERROR	45.666	27	1.691		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
NLX	4.688	2	2.344	1.641	.201
<u>STRESS NLX</u>	15.511	4	3.877	2.714	<u>.038</u>
ERROR	77.133	54	1.428		
-----					
TOTAL	143.288	89			

D)

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
-----					
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
STRESS	.866	2	.433	.161	
ERROR	72.566	27	2.687		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
NLX	3.466	2	1.733	.770	
STRESS NLX	19.666	4	4.916	2.184	.082
ERROR	121.533	54	2.250		
-----					
TOTAL	218.099	89			

E)

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
-----					
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
<u>STRESS</u>	18.288	2	9.144	3.685	<u>.037</u>
ERROR	66.999	27	2.481		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
NLX	1.355	2	.677	.312	
<u>STRESS NLX</u>	22.111	4	5.527	2.546	<u>.049</u>
ERROR	117.199	54	2.170		
-----					
TOTAL	225.955	89			

F)

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
-----					
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
STRESS	1.488	2	.744	.251	
ERROR	79.800	27	2.955		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
<u>NLX</u>	31.022	2	15.511	8.494	<u>&lt;.001</u>
<u>STRESS NLX</u>	27.711	4	6.927	3.794	<u>.008</u>
ERROR	98.599	54	1.825		
-----					
TOTAL	238.622	89			

G)

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
-----					
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
<u>STRESS</u>	8.866	2	4.433	6.945	<u>.004</u>
ERROR	17.233	27	.638		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
NLX	1.400	2	.700	.962	
STRESS NLX	7.333	4	1.833	2.521	.051
ERROR	39.266	54	.727		
-----					
TOTAL	74.099	89			

Tabela XXIV - Efeito da submissão de camundongos a duas condições de estresse, imobilização a 4°C e natação a 20°C, sobre o tempo de reação termica avaliado pelo metodo da placa-quente, após pré-tratamento com naloxona 0, 1 ou 10 mg/kg s.c. A = tempo de reação termica observado imediatamente após o periodo de estresse; B = tempo de reação termica observado a varios intervalos de tempo após a submissão as condições de estresse (15, 30, 45 e 60 minutos).

A)

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
-----					
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
<u>STRESS</u>	3659.755	2	1829.877	81.592	<u>&lt;.001</u>
ERROR	605.533	27	22.427		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
<u>NLX</u>	158.022	2	79.011	3.121	<u>.050</u>
<u>STRESS NLX</u>	286.444	4	71.611	2.829	<u>.032</u>
ERROR	1366.866	54	25.312		
-----					
TOTAL	6076.622	89			

B)

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
BLOCKS/SUBJECTS	386.153	9			
<u>STRESS</u>	862.031	2	431.015	24.375	<u>&lt;.001</u>
ERROR	318.250	18	17.682		
NLX	83.204	2	41.602	.968	
ERROR	773.239	18	42.957		
STRESS NLX	332.515	4	83.128	2.051	.107
ERROR	1458.906	36	40.525		
<u>TEMPO</u>	242.342	4	60.585	2.832	<u>.038</u>
ERROR	770.102	36	21.391		
<u>STRESS TEMPO</u>	3332.457	8	416.557	25.248	<u>&lt;.001</u>
ERROR	1187.897	72	16.498		
<u>NLX TEMPO</u>	514.284	8	64.285	3.184	<u>.004</u>
ERROR	1453.271	72	20.184		
<u>STRESS NLX TEMPO</u>	753.195	16	47.074	2.762	<u>&lt;.001</u>
ERROR	2454.048	144	17.042		
TOTAL	14921.931	449			
(RESIDUAL)	8415.746	396			

Tabela XXV - Efeito da submissão de camundongos a duas condições de estresse, imobilização a 4°C e natação a 20°C, sobre o número de contorções abdominais observadas num período de cinco minutos, quinze minutos depois da administração de ácido acético 0,6 % i.p., após pre-tratamento com naloxona 0, 1 ou 10 mg/kg s.c.

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
-----					
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
<u>STRESS</u>	934.400	2	467.200	93.950	<u>4.001</u>
ERROR	134.266	27	4.972		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
NLX	3.266	2	1.633	.293	
STRESS NLX	11.333	4	2.833	.508	
ERROR	300.733	54	5.569		
-----					
TOTAL	1384.000	89			

Tabela XXVI - Efeito da submissão de camundongos a duas condições de estresse, imobilização a 4°C e natação a 20°C, sobre o número de contorções abdominais observado a intervalos de 2 minutos num total de um período de 20 minutos pela administração i.p. de ácido acético 0.6% i.p., após pré-tratamento com naloxona 0.1 ou 10 mg/kg s.c. A = número total de contorções abdominais; B = número de contorções abdominais em cada intervalo de 2 minutos.

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
BETWEEN BLOCKS/SUBJECTS					
<u>STRESS</u>	7757.155	2	3878.577	26.276	<.001
ERROR	3985.333	27	147.604		
WITHIN BLOCKS/SUBJECTS					
NLX	238.422	2	119.211	1.373	.261
STRESS NLX	261.911	4	65.477	.754	
ERROR	4687.666	54	86.808		
TOTAL					
TOTAL	16930.488	89			
ERROR					
TOTAL					
RESIDUAL					



B)

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
BLOCKS/SUBJECTS	404.579	9			
<u>STRESS</u>	1704.751	2	852.375	24.084	<u>0.001</u>
ERROR	637.559	18	35.419		
<u>TRATAM</u>	75.964	2	37.982	2.212	.137
ERROR	309.013	18	17.167		
<u>STRESS TRATAM</u>	109.742	4	27.435	2.179	.090
ERROR	453.146	36	12.587		
<u>TEMPO</u>	198.324	4	49.581	16.366	<u>0.001</u>
ERROR	92.564	36	2.571		
<u>STRESS TEMPO</u>	252.848	8	31.606	15.867	<u>0.001</u>
ERROR	145.082	72	2.014		
<u>TRATAM TEMPO</u>	71.368	8	8.921	2.088	<u>.048</u>
ERROR	310.542	72	4.313		
<u>STRESS TRATAM TEMPO</u>	150.057	16	9.378	2.654	<u>.001</u>
ERROR	508.831	144	3.533		
TOTAL	5394.357	449			
RESIDUAL	2456.720	396			