NUBIA REGINA MOREIRA FRANÇA

ESTUDO TOPOGRÁFICO DA ANALGESIA INDUZIDA POR ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA TRANSDURAL DO CÓRTEX MOTOR DE RATOS: SOMATOTOPIA DE RESPOSTA COMPORTAMENTAL E PERFIL DE ATIVAÇÃO NEURONAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Morfofuncionais do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Ciências Morfofuncionais.

Orientadora: Profa. Dra. Camila Squarzoni Dale.

Versão original

São Paulo
2012

RESUMO

França NRM. Estudo topográfico da analgesia induzida por estimulação elétrica transdural do córtex motor de ratos: somatotopia de resposta comportamental e perfil de ativação neuronal [dissertação (Mestrado em Ciências Morfofuncionais)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2012.

A estimulação subliminar do córtex motor tem sido utilizada para o tratamento de pacientes com síndromes neuropáticas dolorosas resistentes a outros tratamentos convencionais. Dados obtidos por nosso grupo demonstram que a estimulação transdural do córtex motor (ECM) induz analgesia em ratos avaliados no modelo de pressão de pata, sendo este efeito dependente de opióides. Ainda, a ECM reverte a hiperalgesia mecânica e alodínia induzidas por neuropatia periférica em ratos. O presente estudo investigou a topografia do efeito antinociceptivo induzido pela ECM bem como o padrão de ativação neuronal na coluna posterior da medula espinal (CPME) e na PAG pela expressão dos proto-oncogenes *c-fos* e *egr-1* avaliada por imunohistoquímica. Ratos foram submetidos à cirurgia para implante de eletrodos transdurais posicionados sobre quatro áreas distintas do córtex motor correspondentes à: pata anterior, pata posterior, vibrissas e cauda, determinadas de acordo com mapeamento cortical realizado previamente por nosso grupo e após 1 semana foram submetidos a sessões de estimulação cortical (15 min, 60Hz, 210µs 1,25mA). Ao final de cada sessão, ainda sob estimulação, os animais foram avaliados em quatro testes comportamentais para determinação do limiar nociceptivo: teste de pressão da pata posterior, limiar de dor mecânica da pata anterior aferida com monofilamentos de von Frey, limiar de dor das vibrissas por Von Frey eletrônico e pinçamento da cauda. Animais onde nenhuma intervenção cirúrgica foi realizada (grupo branco) e animais que tiveram a intervenção cirúrgica, porém não foram estimulados (grupo não estimulado) foram submetidos aos mesmos protocolos experimentais e avaliados como grupos controle. Os resultados obtidos demonstram que a ECM induz antinocicepção nos animais, sendo que o aumento do limiar nociceptivo é observado exclusivamente no membro correspondente à área do córtex motor estimulada em cada grupo experimental. Com relação ao padrão de imunoreatividade observou-se uma diminuição significativa da expressão das proteínas Fos e Egr-1 nas lâminas superiores da CPME para cada grupo avaliado e um aumento desta expressão na PAG. Os dados obtidos demonstram que a analgesia induzida pela estimulação do córtex motor de ratos tem efeito topográfico, específico e correspondente à área do córtex motor estimulada e este efeito envolve a inibição da CPME e ativação do sistema de analgesia endógeno.

Palavras-chave: Estimulação elétrica. Córtex motor. Analgesia.

ABSTRACT

França NRM. Topographical evaluation of the analgesic effect induced by transdural electrical stimulation of the motor cortex of rats: somatotopy of behavioral response and profile of neuronal activation [Masters thesis (Morphofunctional Science)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2012.

Subliminal stimulation of the motor cortex has been used to treat patients with neuropathic pain syndromes resistant to other conventional treatments. Data obtained by our group demonstrates that transdural electrical stimulation of the motor cortex (MCS) induces opioid-dependent analgesia in rats evaluated by the paw pressure test. Also, MCS reverses mechanical hyperalgesia and allodynia induced by a peripheral neuropathy in rats. The present study investigates the topography of the antinociceptive effect induced by MCS as well as the pattern of neuronal activation evaluated by Fos and Egr-1 immunolabel in the dorsal horn of the spinal cord (DHSC) and in the periaqueductal gray (PAG). Rats underwent surgery for implantation of transdural electrodes positioned on four distinct areas of the corresponding motor cortex: fore limb, hind limb, whiskers and tail, determined in accordance with cortical mapping carried out by our group and one week after the surgery were submitted to cortical stimulation sessions (15 min, 60Hz, 210µs 1.25 mA). At the end of each session, but still under stimulation, animals were evaluated in four behavioral tests to determine the nociceptive threshold: paw pressure test of hind paw, mechanical pain threshold of the fore limb evaluated by von Frey microfilaments, nociceptive threshold of the whiskers evaluated by electronic von Frey and tail pinch test. Animals in which no surgery was performed (naive group) and animals that underwent the surgery, but were not stimulated (no stimulated group) were submitted to the same experimental protocols and evaluated as control groups. Results obtained so far demonstrate that MCS induces antinociception in rats and the increase in the nociceptive threshold is observed exclusively in the limb area corresponding to the stimulated motor cortex in each experimental group. Regarding the pattern of immunoreactivity, a significant decrease in Fos and Egr-1 expression was observed in the DHSC superficial laminae for all the groups of animals implanted and an increased expression in the PAG. Data obtained herein demonstrate that the analgesia induced by MCS in rats has topographic effect, specific and relevant to the stimulated area of motor cortex. Also, this effect involves the inhibition of DHSC and activation of descending pain inhibitory systems.

Keywords: Electrical stimulation. Motor cortex. Analgesia.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Transmissão do impulso nociceptivo

A Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP) definiu, em 1986, dor como “uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a lesões reais ou potenciais”. Uma das funções vitais do sistema nervoso é prover informações sobre a ocorrência ou perigo de lesões. A sensação de dor, pela sua natureza inerente, contribui para essa função (Raja et al., 1999).

O início da propagação da dor é dado pela geração de potenciais de ação nas fibras aferentes primárias de pequeno diâmetro, classificadas como fibras C e Aδ, que possuem receptores específicos para a dor, denominados nociceptores. Os nociceptores são normalmente ativados por estímulos de intensidade lesiva de origem mecânica, térmica ou química (Almeida et al., 2004; Riedel, Neeck, 2001). Os neurônios aferentes primários, uma vez ativados, fazem conexões, diretas ou indiretas, com neurônios intrínsecos na coluna posterior da medula espinal (CPME) classificados como: a) neurônios de projeção, que levam a informação nociceptiva para centros superiores do cérebro; b) interneurônios excitatórios, que levam os impulsos sensoriais para os neurônios de projeção; ou c) interneurônios inibitórios, que regulam o fluxo de informação nociceptiva para os centros superiores (Jessel, 1991).

As fibras aferentes primárias fazem a transmissão sináptica com os neurônios da CPME por meio de neurotransmissores. Dentre as substâncias que medeiam a transmissão sináptica estão o glutamato, o fator neurotrófico derivado do encéfalo (BNDF), prostaglandinas, adenosina trifosfato (ATP) e neuropeptídeos como a substância P (SP) (Doubell, 1999). Na medula espinhal, a transmissão nociceptiva envolve ainda a participação de canais iônicos (Altier, Zamponi, 2004), expressos nos neurônios sensoriais, sendo que a ativação de alguns destes gera correntes que despolarizam ou hiperpolarizam a membrana celular causando excitação ou inibição neuronal. Os principais canais envolvidos nesse processo são os canais de sódio, os canais de cálcio dependentes de voltagem e os canais de potássio (Lee et al., 2005).

Da medula, a informação nociceptiva é levada para estruturas do tronco encefálico e diencéfalo, por diferentes vias ascendentes, pelos neurônios de projeção (Millan, 1999). Dentre as principais projeções supraespinais da via nociceptiva estão os tratos espinomesencefálico, espinoreticular, espino-hipotalâmico e espinotalâmico,

sendo este último o mais proeminente na condução do impulso nocivo (Jessel, 1991). A via espinotalâmica projeta-se para os núcleos talâmicos ventral póstero-lateral (VPL) e ventral póstero-medial (VPM), envolvidos com os componentes discriminativos da sensibilidade dolorosa e para os núcleos talâmicos inespecíficos (centromedial, centrolateral, láterocentral e intralaminares), relacionados com os componentes afetivos da dor.

No tálamo ocorre a recepção, integração e transferência do potencial nociceptivo para o córtex cerebral, onde a informação pode ser somatotopicamente organizada (Craig, Dostrovsky,1999). Baseando-se em critérios funcionais, as principais regiões corticais envolvidas na resposta dolorosa são os córtices sensorial primário (S-I), secundário (S-II) e motor (Bromm, Treede, 1987; Schnitzler, Ploner, 2000). Entretanto, foi observado que pacientes com lesões cerebrais específicas, particularmente no córtex S-I, são ainda capazes de sentir dor (Brooks, Tracey, 2005). Desta maneira a relevância dessas regiões corticais durante a percepção da resposta nociceptiva ainda permanece sem ser elucidada.

1.2 Mecanismo de modulação da dor

O conceito de modulação ou supressão de dor por mecanismos endógenos advém de observações realizadas em indivíduos ou animais que em situações de “luta ou fuga” aparentavam não sentir dor, mesmo quando ocorriam lesões teciduais importantes (Amit, Galina, 1986; Terman et al., 1984). As primeiras evidências concretas sobre a existência de sistemas supraespinais controladores das vias sensitivas foram apresentadas na década de 1950 (Lindblom, Ottonsson, 1957) sendo a apresentação da “Teoria de Comporta” por Melzack e Wall (1965) um marco importante na conceituação sobre a existência de sistemas moduladores específicos na CPME.

A importância das influências suprassegmentares no processamento da dor na medula espinhal foi demonstrada quando se verificou que os neurônios da lâmina V da CPME tornavam-se hipersensíveis à estimulação nociceptiva em animais descerebrados, indicando que estruturas encefálicas, provavelmente da formação reticular do tronco encefálico, exercem atividade inibitória ou modulatória nos neurônios segmentares (Basbaum et al., 1976; Loeser et al., 1968). Ainda, a contribuição dos sistemas rostrocaudais na modulação da dor foi confirmada pela demonstração de que a

estimulação elétrica de regiões limitadas da substância cinzenta periaquedutal mesencefálica (PAG) em animais, resultava em analgesia sem comprometer outras modalidades e qualidades sensitivas (Reynolds, 1969), sendo este fenômeno associado à depressão da atividade dos neurônios das lâminas I e V da CPME (Duggan et al., 1981; Nathan, 1977).

A PAG recebe aferências de diferentes origens como da substância cinzenta periventricular (PVG); córtices frontal, parietal e insular; amígdala; núcleos parafascicular do tálamo, cuneiforme e do loco cerúleo, formação reticular pontobulbar e CPME. Esta região projeta-se para núcleos do bulbo ventromedial implicados no mecanismo de supressão da dor, destacando-se o núcleo magno da rafe, os neurônios da formação reticular ventral e o núcleo reticular gigantocelular que recebem projeções oriundas também, do hipotálamo posterior e de neurônios dos núcleos serotoninérgicos do encéfalo; noradrenérgicos do bulbo, ponte e reticular gigantocelular dorsolateral (Mason, 2001; Rosenfeld, 1994; Sandkuhler, 1996; Vanegas, Schaible, 2004).

A estimulação da PAG inibe o núcleo gigantocelular (Gauriau, Bernard, 2002; Krout et al., 2002). Nesse sentido, foi demonstrado que tanto a estimulação elétrica quanto a administração de morfina nesta estrutura produzem analgesia pela ativação de tratos rostrocaudais inibitórios (Dewey et al., 1969) sendo este efeito seguido de tolerância em ambas as manipulações (Falconer, 1953; Mayer et al., 1971). Ainda, a injeção de morfina na região induz aumento da atividade celular do núcleo magno da rafe (Oleson, Liebeskind, 1975). Foram também comprovadas projeções inibitórias oriundas dos núcleos bulbares ventromediais, trafegando pelo quadrante dorsolateral da medula espinhal e projetando-se nas lâminas superficiais da CPME (Basbaum, Fields, 1979).

As vias rostrocaudais que se projetam nas lâminas superficiais da CPME utilizam serotonina (5HT), noradrenalina (Nadr) e SP como neurotransmissores (Basbaum, Fields, 1979; Jones, 1991). A via serotoninérgica está envolvida no efeito analgésico da morfina administrada no tronco encefálico e no mecanismo da analgesia induzida pela estimulação elétrica do tronco encefálico (Suzuki et al., 2004). Foi também demonstrado que fibras rostrocaudais catecolaminérgicas inibitórias, oriundas do bulbo, projetam-se nas unidades nociceptivas da CPME, principalmente nas lâminas I, II e X e atuam via receptores α-2 (Jones, 1991), mediante a liberação de GABA e glicina ou, indiretamente, via tratos serotoninérgicos (Suzuki et al., 2004).

As vias originadas no núcleo reticular paragigantocelular contêm neurônios encefalinérgicos e serotoninérgicos, sendo que alguns deles recebem projeções da PAG, projetando-se para CPME via funícolo dorsolateral utilizando Nadr com atividade inibitória (Beitz et al., 1983).

1.3 Estimulação do córtex motor e Analgesia

Desde a descrição realizada por Tsubokawa et al., em 1990, de que a estimulação do córtex motor (ECM) cerebral gerava analgesia, esta modalidade de tratamento ganhou muito destaque, especialmente no tratamento da dor neuropática crônica. Estes autores basearam-se em investigações preliminares sobre a estimulação cortical motora (Lindblom, Ottosson, 1957; Penfield, Perot, 1963) e sugeriram que os estímulos elétricos inibiam neurônios nociceptivos desaferentados do córtex cerebral sensitivo e que a inibição dos neurônios talâmicos hiperativos apenas era observada quando era estimulado o córtex localizado anteriormente ao córtex sensitivo, ou seja, o córtex motor primário (Tsubokawa et al., 1991). Na clínica médica, a técnica tem se demonstrado eficiente para o tratamento de pacientes com dor neuropática trigeminal (Lefaucheur et al., 2001, 2009; Meyerson et al., 1993; Nguyen et al., 1997), dor por desaferentação (Tsubokawa et al., 1993), e em diversos tipos de dor refratária (Lefaucheur et al., 2009; Nuti et al., 2005).

Exames de imagem (*PET-scan*) demonstram que a ECM aumenta o fluxo sanguíneo em várias áreas corticais e subcorticais, incluindo o tálamo ipsilateral, o giro do cíngulo, o córtex orbitofrontal, a PAG e o tronco encefálico, mas não ativa o córtex sensitivo e as vias motoras caudais ao local da estimulação, com exceção do tálamo ipsilateral (Cruccu et al., 1997; Garcia-Larrea et al., 1999). Em doentes com dor central decorrente de enfarto encefálico e déficit motor discretos ou mais pronunciado foram observados resultados distintos frente a ECM, tendo sido o alívio da dor de mais de 60% em 72% dos doentes sem déficit motor ou quando este era muito discreto (Katayama et al., 1998). Porém, a integridade do córtex sensitivo e do sistema lemniscal, entretanto, não constitui condição necessária para que a estimulação do córtex motor induza alívio da dor, uma vez que já foi demonstrado que o enfarto do lobo parietal, incluindo o do córtex S-I, não compromete o grau de melhora (Nguyen et al., 2000).

Foi postulado por Tsubokawa e colaboradores (1991, 1993), frente ao tratamento da dor central, que tanto a estimulação elétrica talâmica (cerebral profunda), como a do córtex sensorial, são geralmente menos efetivas que a ECM. Corroborando com esta idéia, foi demonstrado pelo nosso grupo, que a estimulação epidural do córtex somatosensorial, na área correspondente a pata posterior do animal, não interfere com o limiar nociceptivo de ratos avaliados no teste de pressão da pata (Fonoff et al., 2009a).

Experimentalmente, foi demonstrado que a ECM induz antinocicepção contralateral no modelo da pressão de pata de animais desaferentados, mas não na resposta nociceptiva dos animais no teste de reflexo de retirada da cauda (Rusina et al., 2005). De acordo com pesquisas que utilizaram métodos eletrofisiológicos, a inibição da atividade de neurônios da CPME gerado por estímulos mecânicos reduz-se durante a estimulação tanto do córtex S-I quanto do motor, efeito que desaparece após o término do período da estimulação sugerindo que a inibição da atividade neuronal na CPME seria responsável pelo efeito antinociceptivo decorrente da estimulação do córtex motor (Kuroda et al., 2000; Senapati et al., 2005a, b). Foi também demonstrado que a estimulação elétrica no córtex pré-frontal medial resulta em analgesia em animais avaliados no teste de placa quente e reflexo de retirada da cauda (Hardy, 1985). Ainda, o registro de atividade neuronal na PAG sugere que há participação do sistema supressor de dor rostrocaudal neste mecanismo (Hardy, Haigler, 1985). A ECM induz diminuição do limiar de dor tanto em animais desaferentados quanto em animais com dor neuropática induzida por modelo de dor crônica periférica (Rusina et al., 2005; Vaculín et al., 2008).

Embora seja uma técnica bastante utilizada na clínica médica, pouco se sabe sobre os mecanismos envolvidos na analgesia induzida pela ECM. Nesse sentido, tem sido proposto que o efeito analgésico observado seja decorrente de uma inibição da atividade neuronal, principalmente dos neurônios da CPME (Kuroda et al., 2000; Senapati et al., 2005a, b). Resultados do nosso grupo demonstram que a ECM induz antinocicepção em ratos normais ou submetidos ao modelo de dor neuropática e avaliados no modelo de pressão da pata, sem interferir com a resposta motora destes animais (Fonoff et al., 2009a; Pagano et al., 2011). Ainda, a antinocicepção induzida em animais normais é mediada por receptores opióides (Fonoff et al., 2009a). Em animais com dor neuropática tratados com a técnica já foi demonstrada pouca contribuição da via noradrenérgica do lócus cerúleos no efeito antinociceptivo (Viisanen, Pertovaara,

2010a), e a participação da via descendente serotoninérgica atuando por meio dos receptores 5HT1A da medula nesta antinocicepção (Viisanen, Pertovaara, 2010b).

Dados obtidos por nosso grupo demonstraram que a ECM induz analgesia em ratos com dor neuropática por induzir ativação do sistema límbico e da via descendente de dor demonstrado pelo aumento da expressão de proteína Fos na PAG, no córtex cingulado anterior e nos núcleos central e basolateral da amígdala (Pagano et al., 2011). Há indícios de que o efeito da estimulação cortical no tratamento da dor tem relação com a somatotopia do córtex motor (Canavero, Bonicalzi, 1995), uma vez que foi sugerido que a estimulação do córtex motor induz analgesia, via ativação de neurônios não-nociceptivos que estabelecem conexões recíprocas entre os córtices motor e sensitivo, restaura os mecanismos inibitórios que atuam em neurônios nociceptivos corticais hiperativos (Tsubokawa, Katayama, 1998).

1.4 Marcação neural e nocicepção

A expressão de proto-oncogenes, tem sido extensivamente avaliada no sistema nervoso para o mapeamento de ativação das vias neuronais. Estes genes são definidos por rápida indução transcricional e dentre os que são mais utilizados como marcadores de mudanças na atividade neuronal se encontram os genes *egr-1* (*krox-24*, *zif268* ou *zenk*), *c-fos* e *c-jun* (Beckmann, Wilce, 1997; Herrera, Robertson, 1996; Morgan, Curran, 1989; Sagar et al., 1988).

A descoberta do gene *c-fos* e de seu produto de transcrição, a proteína Fos no sistema nervoso central após estimulação nociva periférica (Hunt et al., 1987) tornou possível buscar informações sobre as vias neurais envolvidas na nocicepção, e sua expressão tem sido utilizada no mapeamento de vias nociceptivas e na investigação dos fatores que modulam suas atividades (Harris, 1996; Herdegen, Leah, 1998). A literatura demonstra que estímulos nocivos de natureza mecânica, química ou térmica do membro posterior ou da cauda ou ainda a estimulação elétrica de fibras do tipo C do membro posterior de ratos, resultam em distribuição bilateral similar de células imunorreativas à proteína Fos em diversas regiões do SNC (Bullit, 1990; Hermanson, Blomqvist, 1996). Sua expressão tem início entre 1 e 2 horas após o estímulo, e atinge um pico após 2 horas nas lâminas I e II da medula espinhal, ipsilateralmente à estimulação nociva (Hunt et al., 1987). Depois de decorridas 8 horas do estímulo é possível observar uma marcação nas lâminas profundas V, VI, VII e X com um pico após 16 horas. Ainda a

distribuição de Fos no cérebro ocorre de maneira similar ao que é considerado o sistema central da dor, após diferentes estímulos nociceptivos (Bullit, 1989,1990; Harris, 1996; Honkaniemi, 1992; Lanteri-Minet, 1993; Pertovaara et al., 1993).

Frente à resposta nociceptiva em ratos, foi demonstrada a expressão de Fos, Jun e Egr em neurônios da CPME submetidos à estimulação química ou térmica nociva, onde a indução destes genes está relacionada com as alterações que ocorrem em resposta ao estímulo doloroso (Hunt et al., 1987). Ainda, o aumento da expressão de Fos, é observado em diferentes áreas do encéfalo e medula espinal, tanto após estimulação elétrica de fibras nociceptivas quanto após a indução de inflamação aguda e crônica (Buritova et al., 1995; Herdegen et al., 1991; Lanteri-Minet et al., 1993). Também é sugerida uma correlação direta entre nocicepção e expressão de Fos uma vez que a antinocicepção, via opióides, observada no teste da formalina, é acompanhada proporcionalmente da inibição de Fos na medula espinal (Gogas et al., 1991). Neste sentido, foi demonstrado que a expressão de Fos na medula espinal é inibida por manipulações que produzem analgesia, como estimulação elétrica do núcleo magno da rafe e eletroacupuntura (revisto por Morgan, Curran, 1989). Ainda, sua expressão em neurônios espinais, frente à estimulação nociva periférica, é suprimida por drogas analgésicas e modulada por NMDA e óxido nítrico sintase (Harris, 1998). Foi também demonstrado que a estimulação elétrica do córtex S-II induz antinocicepção e reduz o número de neurônios que expressam Fos nas camadas superficiais da CPME em animais submetidos ao teste da formalina (Gojyo et al., 2002; Kuroda et al., 2001),

Ainda, foi demonstrado que estímulos dolorosos de diferentes origens e intensidades induzem respostas distintas no que se refere à expressão Fos em diferentes áreas do SN. Nesse sentido, observou-se que a expressão de Fos ocorre de maneira distinta nas colunas lateral ou dorsal da PAG e em diferentes áreas da medula espinhal, dependendo do tipo e intensidade de estímulo doloroso aplicado (Keay, Bandler, 1993; Keay et al., 2001; Lumb, 2002) foi também demonstrada somatotopia na expressão de Fos em diferentes áreas da medula espinhal frente a estimulação nociva em diferentes áreas do mesmo membro (Aloisi et al., 1993; Bullitt, 1991; Mineta et al., 1995).

*

* *

Apesar do avanço de nossa compreensão acerca dos mecanismos de ação do efeito analgésico da estimulação do córtex motor primário, muitas questões permanecem abertas. Em primeiro lugar, não sabemos se o efeito analgésico da estimulação é completamente dependente da topografia da representação motora no córtex cerebral. Dados de pacientes com dor neuropática indicam haver relação topográfica entre a área do córtex motor e o segmento acometido pela dor. No entanto, não há estudos comparativos de alvos não relacionados topograficamente. Não se sabe se o efeito analgésico da estimulação de uma determinada área cortical é capaz de alterar o limiar de dor em regiões adjacentes do corpo. Também não sabemos se há um gradiente de efeito, ou seja, se regiões do corpo mais próximas à estimulada apresentariam um efeito analgésico que decresceria progressivamente ao se distanciar da região alvo em direção a partes mais distantes do corpo. Tais informações tem relevância aplicada, pois possivelmente determinariam realmente qual o foco de estimulação com maior efeito e também sobre a extensão do efeito, pois há casos de dores que se estendem sobre uma região corporal grande, mas em que se deve escolher uma área alvo única para a estimulação.

Ainda, embora a utilização de estimulação do córtex para indução de analgesia seja uma técnica bastante aplicada na medicina, pouco se sabe sobre os mecanismos que envolvem este efeito, daí a necessidade de estudos que se aprofundem nesse campo.

Deste modo consideramos relevante o refinamento deste conceito com o estudo da topografia do efeito antinociceptivo e sua relação com a atividade dos núcleos subcorticais relacionados com a codificação e modulação da dor e seus e possíveis mecanismos de ação. Para tal, foi utilizado o mapeamento funcional do córtex peribregmático em animais submetidos a modelos comportamentais de avaliação da sensibilidade dolorosa e com isso, as diferentes áreas corticais correspondentes a cada segmento corporal foram estimuladas sendo avaliado o efeito analgésico de cada uma destas subáreas motoras e a localização do efeito antinociceptivo correspondente.

6 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos com este trabalho concluiu-se que:

- a técnica de ECM, utilizada neste trabalho, induz analgesia em ratos tendo este efeito relação topográfica com cada área do córtex estimulada, uma vez que nos testes comportamentais foram observadas alterações no limiar nociceptivo, significando analgesia, apenas no teste correspondente ao membro cuja área representativa no córtex motor estava sendo estimulada;

- a analgesia induzida pela ECM não apresenta gradiente de efeito considerando-se que durante a estimulação não foram observadas alterações comportamentais em regiões adjacentes do corpo;

- o efeito analgésico obtido durante a ECM é mediado pela inibição da transmissão nociceptiva pelos aferentes primários. Visto que foi observada uma inibição da expressão da proteína Fos e Egr-1nas lâminas superficiais da CPME, o que indica redução na atividade dos neurônios desta região;

- a analgesia induzida pela ECM ativa a PAG, estrutura que faz parte da via descendente inibitória da dor, é ativada durante a ECM, considerando o aumento da expressão da proteína Fos e Egr-1 em regiões da PAG que estabelecem conexões com o núcleo magno da rafe, e que recebem projeções do hipotálamo, sendo estas estruturas integrantes do sistema de analgesia endógeno.

REFERÊNCIAS*

Afifi AK, Bergman RA. Neuroanatomia funcional: texto e atlas. 2. ed. São Paulo: Roca; 2007.

Almeida TF, Roizenblatt S, Tufik S. Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. Brain Res. 2004;1000:40-56.

Aloisi AM, Albonetti ME, Lodi L, Lupo C, Carli G. Decrease of hippocampal choline acetyltransferase activity induced by formalin pain. Brain Res. 1993;629:167-70.

Altier C, Zamponi GW. Targeting Ca2+ channels to treat pain: T-type versus N-type Trends Pharmacol Sci. 2004;25:465-70.

Amit Z, Galina ZH. Stress-induced analgesia: adaptive pain suppression. Physiol Rev. 1986;66(4):1091-120.

Basbaum AI, Clanton CH, Fields HL. Opiate and stimulus-produced analgesia: functional anatomy of a medullospinal pathway. Proc Natl Acad Sci U S A. 1976;73(12):4685-8.

Basbaum AI, Fields HL. The origin of descending pathways in the dorsolateral funiculus of the spinal cord of the cat and rat: further studies on the anatomy of pain modulation. J Comp Neurol. 1979;187(3):513-31.

Beckmann AM, Wilce PA. Egr transcription factors in the nervous system. Neurochem Int. 1997;31:477-510.

Beitz AJ, Mullett MA, Weiner LL. The periaqueductal gray projections to the rat spinal trigeminal, raphe magnus, gigantocellular pars alpha and paragigantocellular nuclei arise from separate neurons. Brain Res. 1983;288(1-2):307-14.

Bianchi C, Franceschini J. Experimental observations on Haffner's method for testing analgesic drugs. Brit. J. Pharmacol. 1954;9: 280-4.

Bandler R, Depaulis A. Midbrain periaqueductal gray control of defensive behavior in the cat and the rat. In: Depaulis A, Bandler R, editors. The midbrain periaqueductal gray matter. New York: Plenum Press; 1991. p. 175-98.

Bandler R, Carrive P, Depaulis A. Introduction: emerging priciples of organizations of the midbrain periqueductal gray matter. In: Depaulis A, Bandler R, editors. The midbrain periaqueductal gray matter. New York: Plenum Press; 1991. p. 1-8.

Bandler R, Keay K. A Columnar organization in the midbrain periaqueductal gray and the integration of emotional expression. Prog Brain Res. 1996;107:285-300.

---

*De acordo com: International Committee of Medical Journal Editors. [Internet]. Uniform requirements for manuscripts submitted to Biomedical Journal: sample references. [updated 2011 Jul 15]. Available from: http://www.icmje.org.

Brooks J, Tracey I. From nociception to pain perception: imaging the spinal and supraspinal pathways. J Anat. 2005;207(1):19-33.

Buritova J, Honore P, Besson JM. Indomethacin reduces both Krox-24 expression in the rat lumbar spinal cord and inflammatory signs following intraplantar carrageenan. Brain Res. 1995;674:211-20.

Castex N, Fioramonti J, Fargeas MJ, Bueno L. c-fos expression in specific rat brain nuclei after intestinal anaphylaxis: involvement of 5-HT3 receptors and vagal afferent fibers. Brain Res. 1995;688:149-60.

Comoli E, Ribeiro-Barbosa ER,Canteras NS. Predatory hunting and exposure to a live predator induce opposite patterns of Fos immunoreactivity in the PAG. Behavioural Brain Research. 2003;138:17-28.

Craig AD, Dostrovsky JO. Medulla to Thalamus. In: Wall PD, Melzack R, editors. Textbook of pain. Edinburgh: Churchill-Livingstone; 1999. p. 183-214.

Cruccu G, Inghilleri M, Berardelli A, Romaniello A, Manfredi M. Cortical mechanisms mediating the inhibitory period after magnetic stimulation of the facial motor area. Muscle Nerv. 1997;20:418-24.

Denadai-Souza A, Camargo LL, Ribela MTCP, Keeble JE, Costa SKP, Muscará MN. Participation of peripheral tachykinin NK1 receptors in the carrageenan-induced inflammation of the rat temporomandibular joint. Eur J Pain. 2009;13:812-9.

Dewey WL, Snyder JW, Harris LS, Howes JF. The effect of narcotics and narcotic antagonists on the tail-flick response in spinal mice. J Pharm Pharmacol. 1969;21(8):548-50.

Duggan AW, Johnson SM, Morton CR. Differing distributions of receptors for morphine and Met5-enkephalinamide in the dorsal horn of the cat. Brain Res. 1981; 229(2):379-87.

Fagundes-Pereyra WJ, Teixeira MJ, Reyns N, Touzet G, Dantas S, Laureau E, Blond S. Motor cortex electric stimulation for the treatment of neuropathic pain. Arq. Neuropsiquiatr. 2010;68:923-9.

Falconer MA. Surgical treatment of intractable phantom-limb pain. Br Med J. 1953; 1(4805):299-304.

Fonoff ET, Dale CS, Pagano RL, Paccola CC, Ballester G, Teixeira MJ, Giorgi R. Antinociception induced by epidural motor cortex stimulation in naive conscious rats is mediated by the opioid system. Behav Brain Res. 2009a;196:63-70.

Fonoff ET, Pereira JF Jr, Camargo LV, Dale CS, Pagano RL, Ballester G, Teixeira MJ.Functional mapping of the motor cortex of the rat using transdural electrical stimulation. Behav Brain Res. 2009b;202:138-41.

Gauriau C, Bernard JF. Pain pathways and parabrachial circuits in the rat. Exp Physiol. 2002;87:251-8.

Gogas KR, Presley RW, Levine JD, Basbaum AI. The antinociceptive action of supraspinal opioids results from an increase in descending inhibitory control: correlation of nociceptive behavior and c-fos expression. Neuroscience. 1991;42:617-28.

Gojyo F, Sugiyo S, Kuroda R, Kawabata A, Varathan V, Shigenaga Y, Takemura M. Effects of somatosensory cortical stimulation on expression of c-Fos in rat medullary dorsal horn in response to formalin-induced noxious stimulation. J. Neurosci Res. 2002;68:479-88.

Harris JA. Descending antinociceptive mechanisms in the brainstem: their role in the animal's defensive system. J. Physiol Paris.1996;90(1):15-25.

Harris JA. Using c-fos as a neural marker of pain. Brain Res. Bull. 1998;45:1-8.

Herdegen T, Kovary K, Leah J, Bravo R. Specific temporal and spatial distribution of JUN, FOS, and KROX-24 proteins in spinal neurons following noxious transsynaptic stimulation. J Comp Neurol. 1991;313:178-91.

Herdegen T, Leah JD. Inducible and constitutive transcription factors in the mammalian nervous system: control of gene expression by Jun, Fos and Krox, and CREB/ATF proteins. Brain Res Rev. 1998;28:370-490.

Hermanson O, Blumqvist A. Subnuclear localization of FOS-like immunoreactivity in the rat parabrachial nucleus after nociceptive stimulation. J. Comp. Neurol. 1996;368:45-56.

Herr F, Nyiri M, Venulet J. Studies on the mode of analgesic action of morphine and morphine derivatives. Acta Physiol Hung. 1952;3(1):199-208.

Honkaniemi J. Colocalization of peptide- and tyrosine hydroxylase-like immunoreactivities with Fos-immunoreactive neurons in rat central amygdaloid nucleus after immobilization stress. Brain Res. 1992;598(1-2):107-13.

Hunt SP, Pini A, Evan G. Induction of c-fos-like protein in spinal cord neurons following sensory stimulation. Nature. 1987;328:632-4.

Jessel TM, Kelly DD. Pain and analgesia. In: Kandel E, Schwartz JH, Jessel TM, editors. Principles of neural science. USA: Elsevier; 1991. p. 385-99.

Jones SL. Descending noradrenergic influences on pain. Prog Brain Res. 1991;88:381-94.

Katayama Y, Fukaya C, Yamamoto T. Poststroke pain control by chronic motor cortex stimulation: neurological characteristics predicting a favorable response. J Neurosurg. 1998;89:585-91.

Keay KA, Bandler R. Deep and superficial noxious stimulation increases Fos-like immunoreactivity in different regions of the midbrain periaqueductal grey of the rat. Neurosci Lett. 1993;154:23-6.

Keay KA, Clement CI, Depaulis A, Bandler R. Different representations of inescapable noxious stimuli in the periaqueductal gray and upper cervical spinal cord of freely moving rats. Neurosci Lett. 2001;313:17-20.

Keay KA, Bandler R. Parallel circuits mediating distinct emotional coping reactions to different types of stress. Neurosci Biobehav Rev. 2001;25:669-78.

Kiernan JA. Neuroanatomia humana de Barr. 7. ed. São Paulo: Manole; 2003.

Kober F, Ilti I, Cozzone PJ, Bernard M. Myocardial blood flow mapping in mice using high-resolution spin labeling magnetic resonance imaging: influence of ketamine/xylazine and isoflurane anesthesia. Magn Reson Med. 2005;53:601-6.

Krout KE, Belzer RE, Loewy AD. Brainstem projections to midline and intralaminar thalamic nuclei of the rat. J. Comp. Neurol. 2002;448(1):53-101.

Kuroda R, Kawabata A, Kawao N, Umeda W, Takemura M, Shigenaga Y. Somatosensory cortex stimulation-evoked analgesia in rats: potentiation by NO synthase inhibition. Life Sciences. 2000;66:271-6.

Kuroda R, Kawao N, Yoshimura H, Umeda W, Takemura M, Shigenaga Y, Kawabata A. Secondary somatosensory cortex stimulation facilitates the antinociceptive effect of the NO synthase inhibitor through suppression of spinal nociceptive neurons in the rat. Brain Res. 2001;903:110-6.

Lee Y, Lee CH, Oh U. Painful channels in sensory neurons. Mol Cells. 2005;20:315-24.

Lefaucheur JP, Drouot X, Nguyen JP. Interventional neurophysiology for pain control: duration of pain relief following repetitive transcranial magnetic stimulation of the motor cortex. Neurophysiol Clin. 2001;31(4):247-52.

Lefaucheur JP, Drouot X, Cunin P, Bruckert R, Lepetit H, Créange A, Wolkenstein P, Maison P, Keravel Y, Nguyen JP. Motor cortex stimulation for the treatment of refractory peripheral neuropathic pain. Brain. 2009;132(6):1463-71.

Lindblom UF, Ottosson JO. Influence of pyramidal stimulation upon the relay of coarse cutaneous afferents in the dorsal horn. Acta Physiol Scand. 1957;38:309-18.

Loeser JD, Ward Jr AA, White Jr LE. Chronic deafferentation of human spinal cord neurons. J Neurosurg. 1968;29(1):48-50.

Lumb BM. Inescapable and escapable pain is represented in distinct hypothalamic-midbrain circuits: specific roles for Adelta- and C-nociceptors. Exp Physiol. 2002; 87(2):281-6.

Mason P. Contributions of the medullary raphe and ventromedial reticular region to pain modulation and other homeostatic functions. Annu Rev Neurosci. 2001; 24:737-77.

Mayer DJ, Wolfle TL, Akil H, Carder B, Liebeskind JC. Analgesia from electrical stimulation in the brainstem of the rat. Science. 1971;174(16):1351-4.

Melzack R, Wall PD. Pain mechanisms: a new theory. Science. 1965;150:971-9.

Meyerson BA, Lindblom U, Linderoth B, Lind G, Herregodts P. Motor cortex stimulation as treatment of trigeminal neuropathic pain. Acta Neurochir Suppl (wien). 1993;58:150-3.

Millan MJ. The induction of pain: an integrative review. Prog Neurobiol. 1999;57(1):1-164.

Mineta Y, Eisenberg E, Strassman AM. Distribution of Fos-like immunoreactivity in the caudal medullary reticular formation following noxious facial stimulation in the rat. Exp Brain Res. 1995;107:34-8.

Morgan JI, Curran T. Stimulus-transcription coupling in neurons: role of cellular immediate-early genes. Trends Neurosci. 1989;12:459-62.

Nathan PW. Pain. Br Med Bull. 1977;33(2):149-55.

Nalwalk JW, Koch JE, Barke KE, Bodnar RJ, Hough LB. Modulation of morphine antinociception by the brain-penetrating H2 antagonist zolantidine: detailed characterization in five nociceptive test systems. Pharm Biochem and Behavior. 1995;50:421-9.

Nguyen JP, Keravel Y, Feve A, Uchiyama T, Cesaro P, Le Guerinel C, Pollin B. Treatment of deafferentation pain by chronic stimulation of the motor cortex: report of a series of 20 cases. Acta Neurochir Suppl. 1997;68:54-60.

Nguyen JP, Lefaucher JP, Le Guerinel C, Eizenbaum JF, Nakano N, Carpentier A, Brugières P, Pollin B, Rostaing S, Keravel Y. Motor cortex stimulation in the treatment of central and neuropathic pain. Arq. Med Res. 2000;31:263-5.

Nuti C, Peyron R, Garcia-Larrea L, Brunon J, Laurent B, Sindou M, Mertens P. Motor cortex stimulation for refractory neuropathic pain: four year outcome and predictors of efficacy. Pain. 2005;118:43-52.

Oleson TD, Liebeskind JC. Relationship of neural activity in the raphe nuclei of the rat to brain stimulation-produced analgesia. Physiologist. 1975;18:338.

Pagano RL, Assis DV, Clara JA, Alves AS, Dale CS, Teixeira MJ, Fonoff ET, Britto LR. Transdural motor cortex stimulation reverses neuropathic pain in rats: A profile of neuronal activation. Eur J Pain. 2011;15:268-74.

Pagano RL, Fonoff ET, Dale CS, Ballester G, Teixeira MJ, Britto LR. Motor cortex stimulation and analgesia: possible pathways and Mechanisms. Pain, 2012. In press

Penfield W, Perot P. The brains record of auditory and visual experience: a final summary and discussion. Brain. 1963,86:595-696.

Pertovaara A, Bravo R, Herdegen T. Induction and suppression of immediate-early genes in the rat brain by a selective alpha-2-adrenoceptor agonist and antagonist following noxious peripheral stimulation. Neuroscience. 1993;54:117-26.

Raja SN, Meyer RA, Ringkamp M, Campbell JN. Peripherial neural mechanisms of nociception. In: Wall PD, Melzack R, editors. Textbook of pain. London: Churchill Livingstone; 1999. p. 11-57.

Randall LO, Sellitto JJ. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. Arch Intern Pharmacodyn. 1957;111:209-19.

Reynolds DV. Surgery in the rat during electrical analgesia induced by focal brain stimulation. Science. 1969;164(878):444-5.

Riedel W, Neeck G. Nociception, pain, and antinociception: current concepts. Z Rheumatol. 2001;60:404-15.

Rosenfeld JP. Interacting brain stem components of opiate-activated, descending, pain-inhibitory systems. Neurosci Biobehav Rev. 1994;18(3):403-9.

Ruiz-Torner A, Olucha-Bordonau F, Valverde-Navarro AA, Martı´nez-Soriano F. The chemical architecture of the rat's periaqueductal gray based on acetylcholinesterase histochemistry: a quantitative and qualitative study. J Chem Neuroanat. 2001;21:295-312.

Rusina R, Vaculin S, Yamamotova A, Barek S, Dvorakova H, Rokyta R. The effect of motor cortex stimulation in deafferentated rats. Neuro Endocrinol Lett. 2005;26:283-8.

Sagar SM, Sharp FR, Curran T. Expression of c-fos protein in brain: metabolic mapping at the cellular level. Science. 1988;240:1328-31.

Schnitzler A, Ploner M. Neurophysiology and functional neuroanatomy of pain perception. J Clin Neurophysiol. 2000;17(6):592-603.

Senapati AK, Huntington PJ, Peng YB. Spinal dorsal horn neuron response to mechanical stimuli is decreased by electrical stimulation of the primary motor córtex. Brain Research. 2005a;1036:173–9.

Senapati AK, Huntington PJ, LaGraize SC, Wilson HD, Fuchs PN, Peng YB. Electrical stimulation of the primary somatosensory cortex inhibits spinal dorsal horn neuron activity. Brain Research. 2005b;1057:134-40.

Snedecor GM. Statistical methods applied to experiments in agriculture and biology. Iowa: The Iowa State University Press Ames; 1956.

Snedecor GM, Cochran WG. Statistical methods. Iowa: the Iowa State University Press Ames; 1974.

Suzuki R, Rygh LJ, Dickenson AH. Bad news from the brain: descending 5-HT pathways that control spinal pain processing. Trends Pharmacol Sci. 2004;25(12):613-7.

Takasaki I, Andoh T, Nojima H, Shiraki K, Kuraishi Y. Gabapentin antinociception in mice with acute herpetic pain induced by herpes simplex virus infection. J Pharmacol Exp Ther. 2001;296:270-5.

Terman GW, Shavit Y, Lewis JW, Cannon JT, Liebeskind JC. Intrinsic mechanisms of pain inhibition: activation by stress. Science. 1984;226(4680):1270-7.

Todd AJ. Neuronal circuitry for pain processing in the dorsal horn. Nature reviews. Neuroscience. 2010;11(12):823-36.

Tsubokawa T, Yamamoto T, Katayama Y, Hirayama T, Maejima S, Moriya T. Deep-brain stimulation in a persistent vegetative state: follow-up results and criteria for selection of candidates. Brain Injury. 1990;4:315-27.

Tsubokawa T, Katayama Y, Yamamoto T, Hirayama T, Koyama S. Treatment of thalamic pain by chronic motor cortex stimulation. Pacing Clin Electrophysiol. 1991;14:131-4.

Tsubokawa T, Katayama Y, Yamamoto T, Hirayama T, Koyama S. Chronic motor cortex stimulation in patients with thalamic pain. J Neurosurg. 1993;78:393-401.

Vaculín S, Franek M, Yamamotová A, Rokyta R. Motor cortex stimulation in rats with chronic constriction injury. Exp Brain Res. 2008;185:331-5.

Vanegas H, Schaible HG. Descending control of persistent pain: inhibitory or facilitatory? Brain Res Brain Res Rev. 2004;46(3):295-309.

Viisanen H, Pertovaara A. Antinociception by motor cortex stimulation in the neuropathic rat: does the locus coeruleus play a role? Exp Brain Res. 2010a;201:283-96.

Viisanen H, Pertovaara A. Roles of the rostroventromedial medulla and the spinal 5-HT(1A) receptor in descending antinociception induced by motor cortex stimulation in the neuropathic rat. Neurosci Lett. 2010b;476:133-7.

Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. Pain. 1983;16:109-10.