UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE PSICOLOGIA

JÉSSICA URTADO DA SILVA

Estudo dos efeitos centrais da ocitocina sobre a percepção somatossensorial e a memória da dor em humanos

São Paulo

2016

JÉSSICA URTADO DA SILVA

Estudo dos efeitos centrais da ocitocina sobre a percepção somatossensorial e a memória da dor em humanos

(Versão original)

Dissertação apresentada ao Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Neurociências e Comportamento

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Ivana Brito

São Paulo

2016

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Catalogação na publicação
Biblioteca Dante Moreira Leite
Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo

Silva, Jéssica Urtado da.
Estudo dos efeitos centrais da ocitocina sobre a percepção somatossensorial e a memória da dor em humanos / Jéssica Urtado da Silva; orientadora Ivana Brito. -- São Paulo, 2016.
60 f.
Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Psicologia. Área de Concentração: Neurociências e Comportamento) – Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo.

1. Ocitocina 2. Percepção 3. Tato 4. Dor 5. Memória I. Título.

BF186

Nome: Jéssica Urtado da Silva

Título: Estudo dos efeitos centrais da ocitocina sobre a percepção somatossensorial e a memória da dor em humanos.

Dissertação apresentada ao Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Neurociências e Comportamento

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Ivana Brito

Aprovado em: ____/____/_____

Banca Examinadora

Prof.(a) Dr.(a)_____Instituição: _____

Julgamento: _____Assinatura: _____

Prof.(a) Dr.(a)_____Instituição: _____

Julgamento: _____Assinatura: _____

Prof.(a) Dr.(a)_____Instituição: _____

Julgamento: _____Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, que são minha maior fonte de amor, de apoio e inspiração. Que sempre acreditaram em mim, me incentivaram, e estiveram carinhosamente ao meu lado em cada momento.

AGRADECIMENTOS

À Ivana, minha querida orientadora, com quem aprendi muito ao longo dos anos, para além do contexto acadêmico, contribuindo para que eu crescesse como pessoa e como profissional. Sou grata por toda a paciência, disponibilidade, parceria e amizade. Levarei para sempre em meu coração.

Ao Grupo de Estudos da Dor do Instituto de Psiquiatria do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP, por nos abrir espaço em seus laboratórios, nos apresentar suas técnicas e disponibilizar os equipamentos. Agradecimento especial ao Ricardo Galhardoni, que com muita paciência me ensinou os protocolos e a aplicação do QST.

Aos voluntários, sem os quais essa pesquisa não teria acontecido, pela disponibilidade e generosidade em contribuir para construção de novos conhecimentos científicos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão da bolsa de mestrado e apoio financeiro para que esta pesquisa se concretizasse.

Aos meus pais e meu querido irmão, minha eterna gratidão por todo o amor, carinho, cuidado e companheirismo. Por me guiarem pelos caminhos da bondade e sabedoria, contribuindo para que eu pudesse abraçar as oportunidades e realizar os meus sonhos.

Ao meu noivo, que com muito amor, carinho e compreensão esteve ao meu lado em todos os momentos, sempre me incentivando e me mostrando o quanto sou capaz.

Às minhas amigas e irmãs de coração, que acompanharam cada passo, com as quais compartilhei todas as alegrias e angustias, tornando a caminhada mais leve e amparada.

Aos meus familiares, que sempre torceram por mim, compartilhando cada fase com muito carinho e entusiasmo.

À Deus, sem o qual nada seria possível.

“A ocitocina nos conecta com as pessoas. A ocitocina nos faz sentir o que outras pessoas sentem. E é tão fácil promover, no cérebro das pessoas, a liberação de ocitocina. Sei como fazê-lo, e meu modo favorito de fazer isto é, na verdade, o mais fácil. Deixem-me mostrá-lo para vocês. Vem cá. Dê-me um abraço”.

Paul Zak

RESUMO

SILVA, J. U. (2016). **Estudo dos efeitos centrais da ocitocina sobre a percepção somatossensorial e a memória da dor em humanos.** Dissertação de Mestrado - Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo.

Diversos estudos têm demonstrado a participação da ocitocina em promover a interação social presente no comportamento materno, sexual e interpessoal, bem como em processos de memória e aprendizagem. Recentemente, a influência da ocitocina sobre a modulação da percepção da dor também tem sido discutida. Estudos histológicos mostraram a presença de receptores de ocitocina em diferentes áreas cerebrais, como a substância cinzenta periaquedutal, envolvida no controle descendente da dor e o hipocampo, envolvido nos mecanismos de memória e aprendizagem aversiva. Este trabalho teve como objetivo investigar os efeitos centrais da ocitocina intranasal sobre a percepção somatossensorial e a memória da dor em humanos. O estudo foi realizado com 31 voluntários do sexo masculino, possuindo idades entre 18 e 45 anos. Para avaliar a influência da ocitocina sobre a percepção e a memória da dor, grupos placebo (solução salina) e experimental (ocitocina intranasal 24 UI ou 40 UI) foram submetidos a Testes de Quantificação Sensorial- QST, que envolveram a aplicação de estímulos térmicos (frio e calor) e mecânicos, a fim de identificar os limiares de detecção e de dor. A memória da dor percebida foi acessada pela Escala Visual Analógica, apresentada após a administração de ocitocina. Os resultados encontrados foram significativos para o efeito da ocitocina sobre o limiar de detecção mecânico ($p<0,05$), para o grupo ocitocina 40 UI. Ainda, foi possível observar uma tendência à atenuação da memória, frente ao estímulo doloroso frio ($p= 0.09$). Os demais testes realizados não apresentaram resultados significativos. Estes dados sugerem que a ocitocina, que também é liberada pelo toque não-nocivo, pode aumentar a percepção do toque cutâneo, favorecendo o estabelecimento de vínculos sociais, que são fortemente modulados pela ocitocina. Entretanto, não influencia na detecção de estímulos térmicos inócuos ou na detecção de dor mecânica e térmica, bem como na memória da dor ao calor e ao frio, apesar da clara tendência a uma possível modulação da memória da dor ao frio, o que sugere que os efeitos centrais da ocitocina podem influenciar seletivamente a memória da dor, dependendo da relevância psicobiológica do estímulo.

Palavras-Chave: Ocitocina; Percepção; Dor; Memória; Tato.

ABSTRACT

SILVA, J. U. (2016). **Study of central effects of oxytocin on somatosensory perception and memory of pain in humans.** Master´s Dissertation – Institute of Psychology, University of São Paulo.

In addition to its role in childbirth labor and lactation, oxytocin is a well-known neurohormone, having several prosocial effects. Moreover, oxytocin seems to play a significant modulatory role in painful experiences, due to its participation in central and peripheral processing of nociceptive somatosensory information. Histological studies have shown the presence of oxytocin receptors in different brain areas, such as periaqueductal gray matter, involved in descending pain control and the hippocampus, involved in memory mechanisms and aversive learning. This work aimed to investigate the effects of intranasal oxytocin on somatosensory perception and pain memory in humans. The participants were 31 healthy men (ages ranging from 18 to 45 years old). To evaluate the influence of oxytocin on the perception and memory of pain, placebo (saline) and experimental groups (intranasal oxytocin 24 IU or 40 IU) were submitted to QST- Quantitative Sensory Testing, which involved the application of thermal stimuli (cold and heat) and mechanical, in order to identify the thresholds of detection and pain. The memory of perceived pain was accessed by the Visual Analog Scale, presented after the administration of oxytocin. The results were significant for the effect of oxytocin on the mechanical detection threshold ($p < 0.05$) for the oxytocin group 40 IU. The data showed a significant increase in tactile perception in an experimental 40 IU oxytocin group. We suggest that this effect could be the basis for the oxytocin-bonding effect via touch. Also, it was possible to observe a tendency to attenuation of the memory, in front of the cold painful stimulus ($p = 0.09$). The other tests performed did not present significant results. However, it does not influence the detection of harmless thermal stimuli or the detection of mechanical and thermal pain, as well as the memory of pain to heat and cold, despite the clear tendency to a possible modulation of pain memory to cold, suggesting that the central effects of oxytocin may selectively influence pain memory, depending on the psychobiological relevance of the stimulus.

Keywords: Oxytocin; Perception; Touch; Pain; Memory.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação das possíveis rotas e destinos da ocitocina inalatória 21
Figura 2 – Proporção das doses de ocitocina utilizadas entre os estudos analisados 24
Figura 3 - Relação de artigos por tempo de espera 25
Figura 4 - Aparatos utilizados nos procedimentos experimentais 28
Figura 5 – Linha do tempo experimental 29
Figura 6 - Efeito da ocitocina sobre o limiar de detecção ao frio 30
Figura 7 - Efeito da ocitocina sobre o limiar de dor ao frio 31
Figura 8- Efeito da ocitocina sobre a percepção de estímulo supralimiar de dor ao frio (10º C e 5º C) 31
Figura 9 - Efeito da ocitocina sobre o limiar de detecção ao calor 32
Figura 10 - Efeito da ocitocina sobre o limiar de dor ao calor 33
Figura 11 - Efeito da ocitocina sobre a percepção de estímulo supralimiar de dor ao calor (46º C e 48º C) 33
Figura 12 - Efeito da ocitocina sobre o limiar de detecção mecânico 34
Figura 13 - Efeito da ocitocina sobre o limiar de dor mecânico 35
Figura 14 - Efeito da ocitocina sobre a percepção do estímulo supralimiar de dor mecânico 35
Figura 15 - Memória da percepção de dor ao calor 36
Figura 16 - Memória da percepção de dor ao frio 37
Figura 17 - A ocitocina como molécula integradora e moduladora das funções sensoriais e comportamentais 42

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 11
1.1 A ocitocina na dor 12
1.2 A ocitocina na memória da dor 16
1.3 Rotas da ocitocina inalatória 18
2. OBJETIVO 22
2.1 Objetivo geral: 22
2.2 Objetivos específicos: 22
3. MATERIAIS E MÉTODOS 23
3.1 Voluntários 23
3.2 Ocitocina intranasal 23
3.5 Procedimento experimental 28
3.6 Análises Estatísticas 29
4. RESULTADOS 30
4.1. Efeito da ocitocina sobre a percepção de estímulos térmicos e mecânicos 30
4.1.1 Efeito da ocitocina sobre o limiar de detecção e dor ao frio. 30
4.1.2 Efeito da ocitocina sobre o limiar de detecção e dor ao calor. 32
4.1.3 Efeito da ocitocina sobre o limiar de detecção e dor ao estímulo mecânico. 34
4.2. Efeito da ocitocina sobre a memória da dor percebida 36
5. DISCUSSÃO 38
6. CONCLUSÃO 46
7. REFERÊNCIAS 47
8. ANEXOS 58

1. INTRODUÇÃO

A ocitocina é um importante neuro-hormônio, sabidamente envolvido em processos fisiológicos como a lactação e o parto (Viero et al, 2010; Lee et al., 2009). Além disso, diversos estudos têm demonstrado sua participação em promover a interação social presente no comportamento materno, reprodução e relações humanas, além de diminuir as respostas do organismo ao estresse e influenciar nos processos de memória e aprendizagem (Viero et al, 2010; Lee et al., 2009; Yang et al., 2007; Heinrichs et al., 2004). Estudos recentes têm discutido a influência da ocitocina na modulação da percepção da dor (Yang et al., 2007; Yang et al., 2011; Lee et al., 2009; Rash et al., 2014; Zunhammer et al., 2015).

A ocitocina é um nonapeptídeo sintetizado nos neurônios magnocelulares dos núcleos hipotalâmicos paraventricular e supraóptico (Vandesande & Dierick, 1975) e transportado ao longo das projeções axonais combinado à proteína transportadora neurofisina, até a hipófise posterior, onde é estocado e liberado por exocitose para a circulação, em resposta a múltiplos estímulos que levam à despolarização da membrana (Hatton, 1990). Tanto a ocitocina quanto a vasopressina podem também ser liberadas pelos terminais dendríticos (Ludwig & Leng, 2006), identificando assim sua ação parácrina, podendo até mesmo difundir-se ao longo de distâncias maiores. Por essa razão, podemos compreender sua ação em sítios contento receptores ocitocinérgicos, apesar das ausentes ou escassas projeções axonais. O núcleo paraventricular também possui projeções para outras áreas encefálicas, como o hipocampo, envolvido nos mecanismos de memória e aprendizagem aversiva; a amígdala, considerada estrutura chave no processamento do medo; o corno dorsal da medula espinhal, que tem participação crucial na modulação da transmissão nociceptiva (Viero et al., 2010); o tronco encefálico, em neurônios do complexo vagal solitário, relacionados com a regulação cardiovascular; e ainda para o córtex pré-frontal, que desempenha importante papel na cognição, comunicação e comportamento social (Quintana et al., 2015). Essas projeções provavelmente estão envolvidas com a modulação dos diversos comportamentos influenciados pela ocitocina, dentre eles a percepção e memória da dor. Lesões no núcleo paraventricular resultam em pronunciada redução de fibras imunorreativas para ocitocina em todo o encéfalo (Vries & Buijs, 1983). Essas projeções ainda não estão totalmente documentadas, mas provavelmente contribuem para a regulação do comportamento.

O efeito da ocitocina sobre os neurônios alvos é predominantemente excitatório. Raggenbass e Dreifuss (1992) demostraram, por meio de registros de *voltage-clamp* em tecido

do núcleo motor do vago, que a ocitocina aumenta a excitabilidade dos neurônios vagais, gerando persistente corrente de sódio. Outros trabalhos realizados *in vivo* e *in vitro* também demostraram a predominante ação excitatória da ocitocina sobre diferentes tecidos alvos (Kow et al., 1991; Muhlethaler et al. 1984; Ingram & Moos, 1992; Yamashita et al. 1987). A excitação desses neurônios causa como resultado final a elevação de Ca^{++} intracelular (Lambert et al., 1994). Esses efeitos certamente são mediados por receptores pós-sinápticos. Por outro lado, a ocitocina também é capaz de causar inibição de terminais glutamatérgicos pré-sinápticos, induzindo a diminuição na liberação do glutamato (Kombian et al., 1997). Moos e colegas (1998) propuseram que a ocitocina responsável pela inibição pré-sináptica deve ser liberada por terminais dendríticos do neurônio pós-sináptico, demonstrando a possibilidade da ocitocina modular sua própria atividade. Isso evidencia um importante mecanismo de auto-controle, envolvido no estabelecimento da atividade neural em pulsos, característica dos neurônios ocitocinérgicos.

Theodosis e colaboradores (2006) evidenciaram que a ocitocina participa do remodelamento neuroglial no hipotálamo. Sua liberação é acompanhada por retração dos prolongamentos dos astrócitos localizados no núcleo paraventricular e supraóptico, permitindo assim a justaposição das membranas de corpos celulares e dendritos adjacentes, possibilitando a formação de novos sítios sinápticos. Essa retração dos astrócitos está relacionada com a formação de novas sinapses GABAérgicas e glutamatérgicas localizadas no soma e dendritos dos neurônios ocitocinérgicos. O efeito da ocitocina sobre a plasticidade neuroglial parece representar mais um mecanismo parácrino, por meio do qual a ocitocina influencia sua própria atividade. Outras regiões do sistema nervoso central estão sendo alvo de análises do efeito da ocitocina sobre a plasticidade sináptica, como o hipocampo (Tomizawa et al., 2003; Lee et al., 2015).

1.1 A ocitocina na dor

A dor é considerada uma experiência tanto sensorial como emocional, apresentando-se de forma complexa, genuinamente subjetiva e pessoal. Seu componente emocional é particularmente essencial para a sobrevivência. Foi considerada pela primeira vez em 1996, por James Campbell (Presidente da Sociedade Americana de dor), o 5º sinal vital, associada à preservação da integridade e da própria vida (SBED, 2013).

Os receptores da dor, ou seja, receptores sensitivos especializados, chamados de nociceptores, distribuem-se por praticamente todos os tecidos corporais, tendo a notável exceção do Sistema Nervoso Central (Lent, 2010). Diferentes estímulos nocivos ativam esses nociceptores, que são considerados em três principais classes – térmicos, mecânicos e polimodais – assim como uma classe denominada de nociceptores silentes (Kandel et al., 2003).

Os nociceptores térmicos são ativados por temperaturas extremas (>45º ou <5º), enquanto que os nociceptores mecânicos são ativados por pressão intensa sobre a pele. Ambos possuem fibras Aδ de pequeno diâmetro, finamente mielinizadas que conduzem sinais cerca de 5-30 m/s. Essas fibras transmitem rapidamente a informação da dor aguda, resultante de um estímulo pontual, portanto, bem localizado e discriminativo. Outro conjunto de nociceptores, denominados polimodais, são ativados por estímulos mecânicos, químicos ou térmicos (frio ou quente) de alta intensidade. Possuem fibras C de pequeno diâmetro e não-mielinizadas que conduzem sinais lentamente, geralmente em velocidades abaixo de 1,0 m/s, transmitindo uma dor difusa e lenta (Kandel et al., 2003).

As fibras aferentes nociceptivas terminam, predominantemente, no corno dorsal da medula espinhal, de onde a informação nociceptiva é transmitida para diferentes regiões do sistema nervoso central, como tálamo e córtex cerebral, por meio de cinco vias aferentes. Destas, o trato espinotalâmico é a via nociceptiva ascendente mais proeminente. As demais vias são: trato espinorreticular, trato espinomesencefálico, trato cervicotalâmico e trato espino - hipotalâmico (Lent, 2010; Kandel et al., 2003).

Sabidamente, o sistema de peptídeos opióides está envolvido no controle endógeno da dor. Regiões como a substância cinzenta periaquedutal (PAG), bulbo ventral e corno dorsal superficial da medula espinhal, responsáveis pela modulação descendente da dor, possuem elevada concentração de receptores opióides (Lent, 2010; Kandel et al., 2003). Na medula espinhal, esses receptores podem ser encontrados tanto no terminal pré-sináptico dos nociceptores, como na membrana pós-sináptica do neurônio de projeção. A regulação ou inibição da transmissão nociceptiva ocorre devido às características funcionais desses receptores. A ativação dos receptores pré-sinápticos está envolvida com a diminuição na liberação de glutamato e/ou substância P pelo nociceptor, causada pela diminuição no influxo de Ca^{++}, inibindo assim a transmissão da informação nociceptica. Além disso, pode ocorrer uma inibição pós-sináptica, relacionada ao aumento na condutância do K^{+}, o que leva à hiperpolarização da membrana pós-sináptica (Kandel et al., 2003).

Na medula espinhal, terminais ocitocinérgicos são encontrados principalmente nas camadas mais superficiais do corno dorsal e nos núcleos autonômicos. Estas estruturas-alvo espinhais contém uma densidade importante de sítios de ligação de ocitocina. A co-localização dos terminais ocitocinérgicos e sítios de ligação de ocitocina nas camadas superficiais da medula espinal sugerem fortemente a participação da ocitocina no processamento nociceptivo (Breton et al., 2009). Além disso, estudos histológicos demonstram a presença de receptores para ocitocina em diferentes regiões encefálicas, como a substância cinzenta periaquedutal (PAG), envolvida no controle descendente da dor (Campbell et al., 2009; Loup et al., 1991).

Outras evidências sugerem a participação da ocitocina na modulação da dor. A estimulação dolorosa aumenta a concentração de ocitocina no líquido de perfusão da PAG (Yang et al., 2011a; Yang et al., 2011b), no núcleo caudado (Yang, et al., 2011c), no núcleo hipotalâmico supraóptico (Yang et al., 2011d), no núcleo hipotalâmico ventromedial, núcleo talâmico reticular, locus ceruleus, núcleo magno da rafe, hipófise posterior e medula espinhal (Yang et al., 2007). Ainda, ocorre um aumento na concentração de endorfina e das encefalinas metionina e leucina no líquido de perfusão da PAG e da medula espinhal (Yang et al., 2011a; Yang et al., 2011b; Yang et al., 2007; Uvnäs-Moberg et al., 1997). A relação entre a administração de ocitocina e o aumento no limiar de dor em roedores tem sido demonstrada em associação com a inibição de seus efeitos antinociceptivos, por meio do uso de antagonistas (Yang et al., 2011a; Yang et al., 2011b; Yang et al., 2007; Uvnäs-Moberg et al., 1992).

O efeito antinociceptivo causado pela administração de ocitocina também foi relatado em estudos com humanos, onde observaram a diminuição na percepção de dor lombar após injeção intratecal de ocitocina (Yang, 1994), a diminuição da dor abdominal em pacientes com Síndrome do Intestino irritável após infusão contínua de ocitocina em doses iguais ou maiores que 20 mU/min (Louvel et al., 1996), bem como a diminuição de cefaléia em pacientes com enxaqueca, após sua administração intranasal, com efeito dose-dependente (Wang et al., 2013). Ainda, Grewen e colaboradores (2008) associaram a ocitocina endógena à antinocicepção para isquemia experimental e de pressão ao frio.

Estudos sugerem que o efeito antinociceptivo da ocitocina esteja também atrelado à participação da ocitocina como importante modulador das respostas comportamentais, como ansiedade e medo, atenuando a resposta ao estresse (Grewen et al., 2011; Heinrichs et al., 2003). Ainda, Rash e colaboradores (2014) apontam que a ocitocina pode diminuir a

sensibilidade à dor ao atenuar a reatividade fisiológica à dor, uma vez que menor reatividade da frequência cardíaca a dor ao frio foi observada após a administração inalatória de ocitocina em relação ao placebo. Segundo os autores, é possível que a atenuação observada da frequência cardíaca associada à administração de ocitocina resulte de sua ligação direta aos receptores ocitocinérgicos localizados no coração. Entretanto, atualmente ainda é incerto se as alterações cardíacas observadas após administração intranasal estão relacionadas aos maiores níveis plasmáticos circulantes de ocitocina ou se o aumento na regulação autonômica cardíaca se deve a um impacto direto da ocitocina em neurônios motores vagais do tronco encefálico, entregue por meio de fibras do nervo trigêmeo, que será discutido adiante, ou ainda por meio de outras vias indiretas que precisam ser descritas (Gutkowska & Jankowski, 2012).

A ideia de a sensibilidade à dor ser diminuída ao atenuar a reatividade fisiológica aos estímulos dolorosos remete à Teoria de James-Lange, desenvolvida no século 19. De acordo com esta teoria, a percepção das manifestações fisiológicas provocaria o estado interior corresponde, indicando que se a informação retroativa não causa, ao menos influencia a experiência emocional subjetiva, potencializando-a (Lent, 2010).

O estudo da dor em seres humanos é importante para compreendermos os mecanismos subjacentes desta função essencial, como também para entendermos mecanismos de controles endógenos e exógenos da dor, e, a partir de tais conhecimentos, elaborar medidas que auxiliem os indivíduos melhorando sua qualidade de vida. Apesar dos avanços que vêm ocorrendo na compreensão dos mecanismos da dor, drogas como a morfina e anti-inflamatórios não esteroidais, que foram introduzidas para o tratamento da dor há mais de um século, continuam dominando a literatura de tratamento farmacológico da dor (Kissin, 2010), ainda que sejam conhecidos os inúmeros efeitos colaterais e eficácia limitada para o tratamento de determinados quadros álgicos, como na dor neuropática (Gregorian et al., 2010; Laine et al., 2006; Sostres et al., 2010).

Mesmo sendo considerada importante para a preservação da própria vida, dor excessiva é angustiante e pode até mesmo comprometer o desenvolvimento de processos fisiológicos, como o parto normal. Sabe-se que o limiar de dor é aumentado em mulheres durante o parto, refletindo uma mudança psicométrica à estimulação de alta intensidade (Kandel et al, 2003), tendo a ocitocina importante papel antinociceptivo neste processo (Mazzuca et al., 2011). Durante o trabalho de parto, a ocitocina é liberada na corrente sanguínea através da hipófise posterior, e ao se ligar em receptores presentes no útero, provoca sua contração e consequente expulsão fetal. Ainda, é possível que sua liberação através de projeções do núcleo

paraventricular para regiões como a amígdala, hipocampo, tronco encefálico, córtex pré-frontal e corno dorsal da medula espinhal, durante o trabalho de parto, module a percepção e a memória aversiva da dor materna, atenuando a experiência dolorosa associada à parturição. Vale ressaltar que a ocitocina exógena, administrada por via endovenosa, não atravessa a barreira hematoencefálica, limitando-se aos efeitos periféricos (Wang et al., 2013; Yang et al., 2011a; Gimpl & Fahrenholz, 2001; Quintana et al., 2015).

Uma vez que diferentes regiões e mecanismos podem estar envolvidos na modulação da dor pela ocitocina, novos estudos são necessários na tentativa de melhor compreender a participação dessa substância na nocicepção humana. Além disso, investigar e relacionar os mecanismos já propostos é um importante passo para elucidar os eventos neurais envolvidos na percepção da dor.

1.2 A ocitocina na memória da dor

De acordo com Squire (2004), a memória humana pode ser classificada tendo como base o tipo de estímulo processado, sendo dividida em: memória explícita (ou declarativa) e memória de procedimento (ou implícita). As memórias explícitas são aquelas que conseguimos transmitir verbalmente (Lombroso, 2004) e referem-se ao armazenamento de elementos conscientemente evocados (Squire, 2004). Já as memórias implícitas, correspondem às habilidades motoras e àquelas relacionadas à percepção (Squire, 2004), que não podem ser relatadas (Squire, 1992).

As memórias também são classificadas de acordo com o tempo de armazenamento (Baddeley & Warrington, 1970), depois de terem sido adquiridas. Memórias consideradas de longo prazo são constituídas por experiências do passado, ausentes de consciência, sendo recordadas por estímulos a elas associados (Albuquerque et al., 2010). Durante a sua consolidação, permanecem vulneráveis às modulações neuroquímicas das vias eferentes que se projetam para regiões responsáveis pelo seu armazenamento (Alberini et al., 2006; Izquierdo et al., 2006). Já as de curto prazo, correspondem às memórias formadas por elementos de um passado recente que ainda permanecem na consciência (Albuquerque et al., 2010).

Os primeiros trabalhos envolvendo os mecanismos celulares e moleculares referentes aos processos de retenção e consolidação da memória foram realizados por Barco e colaboradores (2006), onde descreveram esses mecanismos responsáveis pela formação da

memória de curto e longo prazo na aplysia. Em seus estudos, verificou-se a presença de duas classes de modificação sináptica: alterações funcionais, pelo aumento da secreção de neurotransmissores, e estruturais, pela formação de novas sinapses.

No hipocampo ocorrem os processos de consolidação da memória explícita, divididos na fase precoce e tardia. Para isso, sinapses glutametérgicas desencadeiam cascatas de eventos intracelulares responsáveis pela potenciação de longo prazo (LTP) e, posteriormente, pela ativação de expressão gênica, levando à síntese de proteínas efetoras e reguladoras das funções celulares, bem como ampliando as conexões sinápticas. De acordo com García-Segura (2009), a ocitocina pode afetar a plasticidade sináptica hipocampal, interferindo da cascata de sinalização intracelular responsável pela LTP, em ratas multíparas. Ainda, estudos evidenciaram que lesões hipocampais impedem a formação da memória aversiva (Lombroso, 2004; Squire, 1992; Scoville et al., 1957) e a consolidação da memória de curto prazo em longo prazo (Albuquerque et al., 2010). Kovács e colegas (1979) constataram em seus estudos com ratos, após testes de aprendizagem utilizando choque elétrico, que a ocitocina administrada no giro denteado ou nos núcleos da rafe mesencefálicos causou prejuízo no desempenho em tarefa de esquiva inibitória.

Em humanos, os efeitos da ocitocina inalatória sobre diferentes tipos de memória têm sido observados em trabalhos que relatam a diminuição na recordação de palavras com significado relevante (Heinrichs et al., 2004), como também no reconhecimento de faces representando o medo (Savaskan et al., 2008). O que sugere que os efeitos centrais da ocitocina influenciam seletivamente no desempenho mnemônico dependendo do tipo de memória exigida e da relevância psicobiológica do estímulo. Neste sentido, sendo a amígdala uma estrutura importante para a formação da memória aversiva, estudos constataram deficiência no condicionamento aversivo e diminuição na recordação de eventos emocionais, em pacientes com danos na amígdala, (LaBar et al., 1995; Bechara et al., 1995; Cahill et al., 1995). Kirsch e colaboradores (2005) demonstraram redução acentuada na ativação da amígdala para estímulos aversivos, após a administração de ocitocina, indicando a modulação da ocitocina sobre a formação da memória aversiva.

A dor é considerada um importante estímulo aversivo e pode ser compreendida como um fenômeno complexo e multidimensional, inerente a cada indivíduo, não se tratando apenas de sensação percebida pelos receptores e órgãos sensoriais (Varoli & Pedrazzi, 2006). Possui inúmeros significados de acordo com a cultura e as experiências prévias de cada um. A experiência dolorosa pode gerar diferentes respostas em diferentes indivíduos, e em diferentes

momentos do mesmo indivíduo; permite-nos selecionar comportamentos e influencia na percepção de novos estímulos dolorosos (Frutuoso et al., 2004). Assim, se faz relevante a utilização de instrumentos de auto-relato que possibilitem a avaliação da dor nas suas diversas dimensões, criando uma linguagem universal representativa da experiência dolorosa e permitindo a comparação de quadros dolorosos entre diferentes grupos (Pimenta & Teixeira, 1996). A Escala Visual Analógica (EVA), comumente usada como um instrumento para avaliação da intensidade da dor percebida (Jensen et al., 1986), é considerada um instrumento unidimensional, pois é designada apenas para mensurar a intensidade da dor. Tem sido amplamente utilizada em diversos contextos clínicos e científicos, é facilmente aplicada, permitindo obter informações rápidas, não invasivas e válidas sobre a dor, bem como sobre a analgesia, possibilitando a comparação de quadros dolorosos ao longo do tempo (Sousa, 2002).

Deste modo, faz-se relevante estudar os possíveis efeitos da ocitocina sobre a memória da dor em seres humanos, que podem estar relacionados à modulação da experiência dolorosa, sendo importante para compreendermos os mecanismos subjacentes desta função essencial.

1.3 Rotas da ocitocina inalatória

A ocitocina atinge com dificuldade o sistema nervoso central a partir da circulação sanguínea, devido à barreira hematoencefálica (BHE). Deste modo, a administração intranasal de ocitocina fornece uma alternativa potencialmente promissora para alcançar seus efeitos centrais, uma vez que existe um caminho direto entre o neuroepitélio olfatório e o cérebro. A mucosa nasal é a única localização do corpo que proporciona essa relação entre o sistema nervoso central e o meio ambiente (Wang et al., 2013; Guastella et al., 2013). Assim, um número crescente de estudos têm utilizado a ocitocina intranasal para investigar seus efeitos sobre os mecanismos neurais envolvidos no comportamento e cognição social, após a descoberta de que a administração intranasal de neuropeptídeos pode atingir o sistema nervoso central (Wang et. al., 2013; Petrovic et al., 2008; Kirsch et al., 2005; Singer et al., 2008).

Em revisão recentemente realizada por Quintana e colegas (2015), os autores sinalisaram as seguintes rotas para a ocitocina, após administração intranasal: (1) via vasculatura nasal para a circulação sistêmica; (2) via nervo olfatório para o bulbo olfatório, e diretamente para o líquor e cérebro, inclusive por meio do fluído linfático circundante; e (3)

via nervo trigêmeo para o tronco cerebral (Figura 1). Além disso, a ocitocina inalatória pode provocar alguns de seus efeitos no sitema nervoso central ao estimular o sistema ocitocinérgico endógeno, que secreta ocitocina na circulação periférica, bem como a distribui pelo sistema nervoso central via alvo sináptico e liberação dendrítica, ou até mesmo através de difusão a partir dos sítios de liberação hipotalâmicos (Stoop, 2012). Outras possíveis rotas foram descartadas, como por exemplo, pelo epitélio alveolar, uma vez que as moléculas de ocitocina são muito grandes (1007 Daltons) para serem absorvidas pelo epitélio alveolar nos pulmões, adaptados para captar peptídeos menores do que 30 Daltons (Irngartinger et al., 2004).

As moléculas de ocitocina podem atravessar o epitélio olfatório tanto por via extracelular (por difusão paracelular), como por via intracelular (por endocitose realizada pelos neurônios sensoriais) (Jansson e Björk, 2002). A via periférica (via extracelular) envolve a transferência do fármaco intranasal para a circulação sistêmica, sendo absorvido através do epitélio por uma rede de capilares sanguíneos fornecidos pelas artérias carótidas interna e externa, localizados abaixo da membrana da cavidade nasal, nos epitélios olfatório e respiratório. Uma vez que as moléculas atingem a lâmina própria destes epitélios por difusão paracelular, eles podem entrar na circulação sistêmica através destes capilares, capazes de captar grandes moléculas. Essa absorção ocorre, na maior parte, por meio do fármaco que permanece anteriormente à válvula nasal (Figura 1) (Wolburg et al., 2008; Guastella et al., 2013; Quintana et al., 2015). Embora a ocitocina circulando sistemicamente não atravesse com facilidade a BHE, possui acesso aos seus receptores em órgãos como o coração, pulmões e rins, podendo exercer diversos efeitos periféricos, bem como enviar sinais ao sistema nervoso central (Gimpl & Fahrenholz, 2001). O aumento nos níveis centrais de ocitocina após a administração intranasal pode, indiretamente, ocorrer por meio desses sinais, estimulando liberação endógena para o sistema nervoso central, bem como para a circulação sistêmica (Striepens et al., 2013).

Pela via olfatória (via intracelular), a ocitocina inalada além da válvula nasal é captada pelos neurônios olfatórios presentes no epitélio olfatório, os únicos neurônios sensoriais que possuem seus corpos expostos ao meio ambiente, e em seguida é transferida através do epitélio, via nervo olfatório, para o bulbo olfatório (Figura 1) (Quintana et al., 2015; Weller et al., 2010), de onde pode ser transferida para o líquido cefalorraquidiano (LCR) (Bahadur e Pathak, 2012). Vale lembrar que os axônios do córtex olfatório primário projetam-se para núcleos na amígdala e hipotálamo (Jolkkonen et al., 2001; Kang et al, 2011), indo ao encontro

de estudos que demonstram o impacto funcional da administração intranasal de ocitocina sobre o processamento neural em humanos (Kirsch et al, 2005). A via olfatória potencialmente proporciona o caminho mais direto para a absorção da ocitocina pelo sistema nervoso central.

Recentemente, o trajeto por meio do nervo trigêmeo teve crescente reconhecimento como possível rota para moléculas, administradas via intranasal, exercerem efeitos diretos sobre o sistema nervoso central (Guastella et al., 2013; Thorne et al., 2004). Entretanto, estudos com seres humanos que caracterizam a absorção por esta via ainda são escassos. A via trigeminal consiste em fibras nervosas aferentes trigeminais que inervam amplamente o epitélio olfatório e respiratório da cavidade nasal, projetando-se para núcleos no tronco encefálico (Figura 1) (Anton & Peppel, 1991). Quintana e colaboradores (2015) discutem que muitos outros produtos administrados por via intranasal, como a lidocaína, células estaminais e inibidor da telomerase, por exemplo, foram relatados alcançando o tronco encefálico de roedores por meio de fibras nervosas trigeminais, embora seja possível que tais substâncias cheguem ao tronco encefálico por outros mecanismos, como a difusão através do epitélio olfatório. Projeções da amígdala e núcleo paraventricular hipotalâmico estendem-se aos núcleos no tronco encefálico que regulam a atividade cardíaca (Viviani et al., 2011). Além disso, a via olfatória e trigeminal estão relacionas funcionalmente, uma vez que há vias aferentes tanto do tronco encefálico como do bulbo olfatório para o núcleo hipotalâmico paraventricular (Meddle et al., 2000).

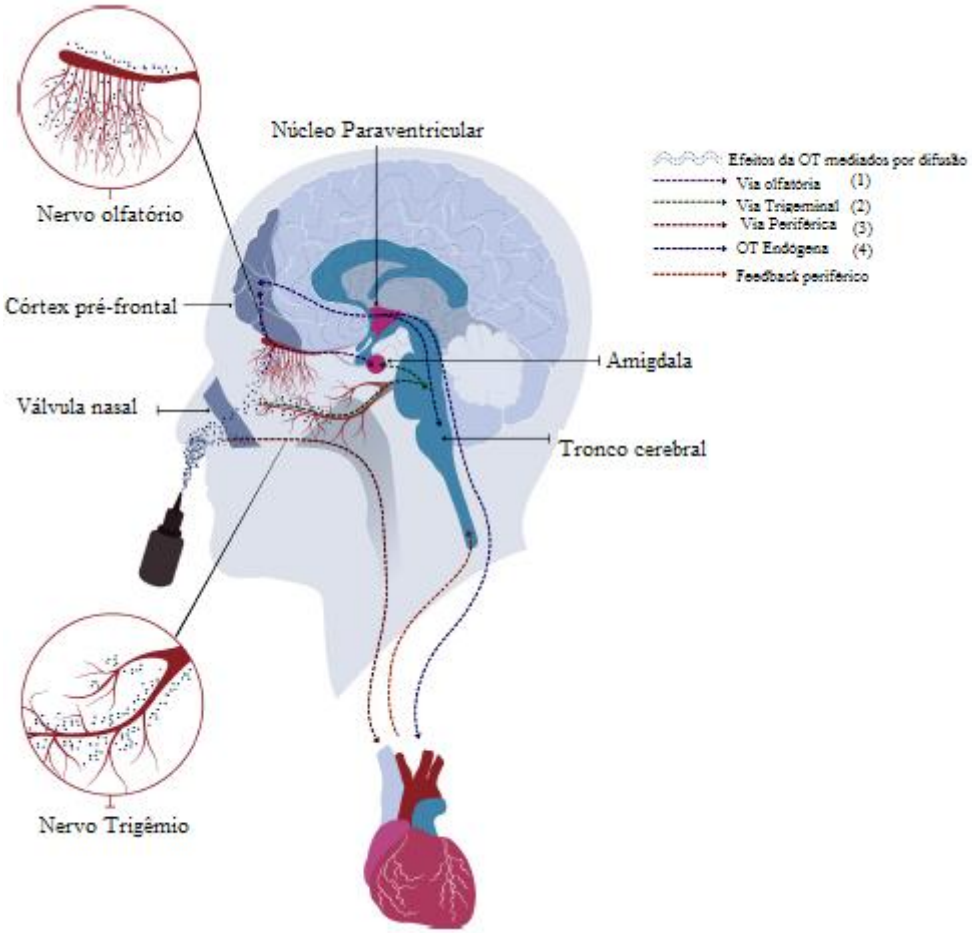

Figura 1. Representação das possíveis rotas e destinos da ocitocina inalatória. Para a amígdala, através do bulbo olfatório e, em seguida, por meio de projeções axonais, bem como por difusão através do líquido cefalorraquidiano (LCR) (1); Para o tronco encefálico, por meio de fibras nervosas trigeminais (2); Para a periferia, por meio de capilares sanguíneos presentes no epitélio olfatório e respiratório (3). A absorção de ocitocina pelas vias olfatória e trigeminal pode estimular sua produção endógena pelo núcleo paraventricular (PVN), que possui projeções ocitocinérgicas para o córtex pré-frontal e tronco encefálico, bem como para a circulação sistêmica (4). (Adaptada de Quintana et al, 2015).

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo geral:

Investigar os efeitos centrais da ocitocina inalatória sobre a percepção somatossensorial e a memória da dor em humanos.

2.2 Objetivos específicos:

a) Investigar o efeito central da ocitocina inalatória sobre o limiar de detecção e de dor aos estímulos térmicos (frio e calor);

b) Investigar o efeito central da ocitocina inalatória sobre o limiar de detecção e de dor aos estímulos mecânicos estáticos;

c) Investigar o efeito central da ocitocina inalatória sobre a memória da dor aos estímulos térmicos (frio e calor);

d) Comparar os efeitos centrais de diferentes doses de ocitocina inalatória (24 UI e 40 UI) sobre o limiar de detecção e de dor aos estímulos térmicos e mecânicos, bem como sobre a memória aversiva da dor aos estímulos térmicos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Voluntários

Os voluntários foram homens saudáveis, em um total de 31 sujeitos, possuindo idades variando entre 18 e 45 anos. O estudo foi realizado apenas com homens para que diferenças hormonais entre os sexos não influenciassem nos resultados. Foram recrutados por meio de anúncios informativos sobre a pesquisa, fixados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP - HCFMUSP e na Escola de Artes, Ciências e Humanidades da USP - EACH. Foram informados sobre o tipo de tarefa a ser realizada e respectivos procedimentos, sem que soubessem de fato qual o real objetivo de investigação do estudo. Posteriormente, após esclarecimento de todos os procedimentos, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecimento (TCLE) foi devidamente compreendido e assinado, conforme resolução 196/96 do Ministério da Saúde. Ainda, os voluntários responderam ao Questionário de Avaliação Geral (Anexo I) para filtrar doenças crônicas, distúrbios mentais, uso de medicamentos e abuso de drogas ou álcool, o qual serviu como critério de inclusão no estudo.

3.2 Ocitocina intranasal

A ocitocina utilizada neste trabalho é comercializada pelo laboratório Novartis, com o nome comercial de Syntocinon. A prescrição da ocitocina inalatória, na dose de 24 UI ou 40 UI, foi realizada pelo médico neurologista vinculado ao HCFMUSP, Dr. Daniel Ciampi de Andrade – CRM 108232. Caso ocorresse alguma complicação por uso da ocitocina, os voluntários seriam acompanhados presencialmente ao pronto socorro do Hospital das Clínicas de São Paulo, localizado no mesmo complexo onde os experimentos foram realizados, munidos do TCLE e prescrição médica. Os voluntários permaneceram no local durante 20 minutos após o término do experimento e não foi observada nenhuma complicação.

Toda a ocitocina utilizada na pesquisa foi adquirida de um mesmo lote, para adequado controle. Além disso, foi mantida sob refrigeração (temperatura entre 2 ºC a 8 ºC), em refrigerador destinado para esse fim, localizado no local dos experimentos. Foi realizado um registro diário da temperatura do refrigerador, para controle de possíveis flutuações em sua temperatura.

Estudos utilizando administração de ocitocina inalatória para identificação de efeitos centrais têm apresentado uso de distintas doses e tempo de espera entre a administração do fármaco e a realização dos testes (tempo aguardado para a suposta ação do fármaco sobre o sistema nervoso central). Dentro desta perspectiva, fizemos o levantamento a cerca da proporção das doses e tempo de espera utilizados entre os estudos, para a escolha adequada da dose de ocitocina inalatória a ser utilizada neste trabalho e o tempo de espera entre a administração e realização dos experimentos. A Figura 2 mostra a proporção das diferentes doses de ocitocina utilizadas nos 74 estudos analisados, entre os anos de 2012 e 2015.

Figura 2. Proporção das doses de ocitocina inalatória em Unidades Internacionais (UI) utilizadas nos 74 artigos analisados.

Com base nos dados encontrados, a maior parte dos estudos utilizaram a dose de 24 UI (46 estudos), sendo que a segunda dose mais utilizada foi a dose de 40 UI (21 estudos). A escolha das doses foi baseada, na maioria das vezes, em artigos que relatam a concentração de ocitocina plasmática e no líquor após diferentes intervalos de administração inalatória em humanos (Striepens et al., 2013; Landgraf, 1985; Gossen et al., 2012). No que diz respeito ao tempo de espera entre a administração do fármaco e a realização dos testes, o tempo mais utilizado foi o de 45 minutos de espera (24 estudos), seguido pela utilização de 30 minutos de espera (14 estudos), conforme é mostrado na Figura 3. Assim, a dose utilizada (24UI e 40UI) e tempo escolhido entre administração da ocitocina e início da realização dos testes (45 minutos) neste trabalho reflete essa análise, no sentido de investigar os efeitos da ocitocina no momento em que sua concentração está potencialmente alta. Ainda, essa escolha contribui

para a investigação de possíveis efeitos dose-dependentes, além de possibilitar relacionar nossos dados aos relatos existentes neste cenário.

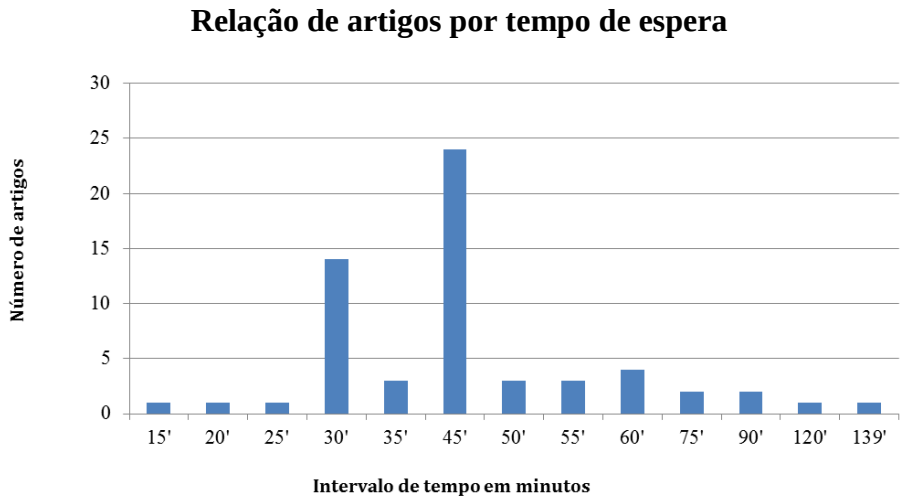

Figura 3. Relação entre o número de artigos e o tempo de espera escolhido entre a administração de ocitocina e os experimentos realizados, dentre os 74 estudos analisados.

3.3 Testes de Quantificação Sensorial (QST)

Para avaliar os efeitos centrais da ocitocina sobre o limiar de detecção e de dor para estímulos térmicos e mecânicos foram realizados Testes de Quantificação Sensorial (Quantitative Sensory Testing- QST), comumente utilizados para avaliar função somatossensorial e determinar de forma quantificada déficits ou aumento de sensibilidade (Rolke et. al., 2006), permitindo identificar possíveis alterações no limiar sensorial após a administração de ocitocina.

O protocolo de QST utilizado (Anexo II) compreendeu a realização de estímulos mecânicos estáticos e térmicos graduados (frio e calor), ambos aplicados na região da eminência tênar da mão não dominante do voluntário (Figura 4).

Para a avaliação dos limiares mecânicos estáticos, foi utilizado o método de escolha forçada, no qual series pré-definidas (em termos de intensidade e modalidade) são aplicadas sobre a pele na região de teste. O indivíduo permanece de olhos fechados e responde (sim ou não) se o estímulo foi ou não percebido (limiar de detecção a estímulo incócuo) ou se foi ou não doloroso (limiar de detecção de dor) para cada estímulo. A intensidade do próximo estímulo é sistematicamente aumentada ou diminuída com base nas respostas do indivíduo (Hansson et al., 2007).

A avaliação dos limiares de mecanosensibilidade estática foi realizada utilizando monofilamentos de Von Frey fabricados pela Somedic, Suíça (Senselab Aesthesiometer). O conjunto utilizado contém 17 monofilamentos de nailon de diferentes diâmetros calibrados para exercer pressão específica sobre a pele da região teste, exercendo respectivamente maior pressão sobre a pele conforme aumenta o calibre do monofilamento (Sydney & Conti, 2011). Os monofilamentos de nailon estão inseridos em um cabo de plástico, e tem um comprimento de quatro centímetros. O diâmetro varia entre 0,12 - 1,0 mm. Quando o monofilamento é mantido perpendicularmente à pele, com o cabo de plástico na posição horizontal, a pressão para iniciar uma curvatura no monofilamento é calibrada em 1,7 g / mm2 para o mais fino até 137,3 g / mm2 para o monofilamento mais grosso (Rommel et al, 2001). Este método permitiu determinar o limiar de detecção e limiar de detecção de dor tátil pelo método de escolha forçada. Após a identificação do filamento correspondente ao limiar de detecção de dor mecânico, utilizava-se um filamento quatro números acima (os filamentos vão do número 3, de menor diâmetro e menor pressão, até o número 19, de maior diâmetro e maior pressão), a fim de realizar um estímulo supralimiar de dor, que era mensurado por meio da EVA.

No que se refere à avaliação dos limiares térmicos, foi utilizado o método de limites, no qual a intensidade dos estímulos aplicados sobre a pele é aumentada (ou diminuída) até que o sujeito perceba o estímulo (limiar de detecção a estímulo inócuo) ou sinta um estímulo doloroso (limiar de detecção de dor) e pare o estímulo por meio de um controle de feedback (pressionando um botão). Os limiares são então calculados como médias dos valores obtidos durante uma série de três estímulos.

A aplicação dos estímulos térmicos ocorreu por meio de sistema computadorizado que inclui sensor baseado no Princípio de Peltier (Figura 4). O estímulo térmico foi realizado por meio do aumento e diminuição da temperatura de uma sonda de 35X2 cm de forma linear, utilizando um sensor térmico (TSA-II, MEDOC, Israel) a uma temperatura neutra de 32ºC. Esta temperatura foi aumentada ou diminuída em uma taxa de 1ºC/s à 35ºC (limiar de detecção ao calor) ou à 29ºC (limiar de detecção ao frio). O limiar final (média) foi considerado a partir de três respostas. No que se refere ao limiar de dor ao calor e ao frio, a refrigeração e aquecimento foram produzidos a uma velocidade linear de 1ºC/s, a partir também de uma temperatura inicial neutra (32ºC). O limiar de dor final foi considerado a partir da média de três respostas sequenciais. Ao receberem o estímulo térmico graduado os voluntários indicavam, apertando um botão, o momento em que detectavam a temperatura fria ou quente (limiar de detecção) e a percepção dolorosa ao frio e ao calor (limiar de detecção

dolorosa), quando, então, o estímulo era cessado e a temperatura registrada. Para evitar acomodação sensorial, o sensor térmico era gentilmente movido dentro dos limites da área de teste após cada estimulação. As temperaturas não foram superiores a 50ºC (limiar de dor ao calor) e não foram inferiores a 0ºC (limiar de dor ao frio) para evitar danos teciduais.

Posteriormente, foram apresentados estímulos supralimiares padronizados, frio e quente, seguidos da apresentação da EVA, a fim de mensurar a intensidade da dor. Foram apresentados dois estímulos quentes e dois frios, de maneira alternada. No quente, a temperatura aumentou em uma taxa linear de 2°C por segundo a partir de uma temperatura inicial neutra de 32ºC, sendo mantida constante por 2 segundos entre duas temperaturas-alvo diferentes (46ºC e 48ºC). No frio, o estímulo térmico diminuiu de 32ºC para 10ºC e 5ºC.

A bateria de testes descrita proporcionou a mensuração dos limiares de detecção e de dor ao frio e ao quente pelo método de limites. A escolha deste método nos parece apropriada e é comumente utilizada, uma vez que a estimulação é segura, reprodutível e graduada (Rolke et. al., 2006).

3.4 Mensuração da memória da dor percebida

Como mencionado acima, para a mensuração da dor utilizamos a EVA. A escala numérica, mostrada na posição horizontal, era vista apenas pelo avaliador, enquanto o voluntário graduava a dor dentro de dois limites extremos (“sem dor nenhuma” e “pior dor possível”). O voluntário era orientado a mover o cursor da régua no sentido que quantificasse a intensidade da dor percebida, sendo o escore registrado (de 0 a 100) de acordo com a distância a partir do “sem dor nenhuma”. A escala foi inicialmente aplicada logo após a apresentação de cada estímulo supralimiar (térmico e mecânico), nos dois testes (QST1 e QST2).

Os voluntários foram apresentados novamente à EVA, 45 minutos após a administração de ocitocina que procedeu ao QST1, para registrar o quanto lembravam da intensidade da dor sentida aos estímulos térmicos (quente e frio) durante o QST1, a fim de identificar possíveis influências da ocitocina sobre os mecanismos envolvidos na memória da dor percebida. A escala apresentada para avaliar a memória (EVAm) possuía as mesmas característica da primeira, mas era de papel e o registro foi feito à caneta, com o intuito de que não fosse resgatada a memória do registro anterior, mas sim, a memória da dor percebida.

Foto representativa da sala onde foram realizados os experimentos.

Foto representativa de um voluntário participando da bateria QST de estímulos térmicos.

Foto dos dispositivos utilizados para realizar os estímulos térmicos (QST)

Sensor térmico 30 x 30 cm (TSA-II, MEDOC, Israel).

Figura 4. Aparatos utilizados nos procedimentos experimentais.

3.5 Procedimento experimental

Trata-se de um estudo prospectivo randomizado placebo - controlado. A coleta de dados foi realizada em uma sala específica para estes procedimentos (Figura 4), localizada no setor de neurologia do Instituto Central do HCFMUSP. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Escola de Artes, Ciências e Humanidades da USP. Parecer consubstanciado do CEP: CAAE 11369913.2.0000.539.

Inicialmente os participantes foram submetidos aos estímulos mecânicos estáticos do nosso protocolo QST, onde foram registrados os limiares de detecção e de dor mecânica. Em seguida foram realizados os estímulos térmicos para registro dos limiares de detecção e de dor ao frio e ao calor, os quais serviram como controle. Após o término desta bateria

experimental, os participantes receberam ocitocina intranasal ou placebo (solução salina). A dose total de ocitocina administrada foi de 24 UI ou 40 UI. Estes três grupos, ocitocina 24 UI (n=11), 40 UI (n=10) e placebo (n=10), após aguardar 45 minutos, foram submetidos à EVA e novamente ao protocolo de QST (Figura 5).

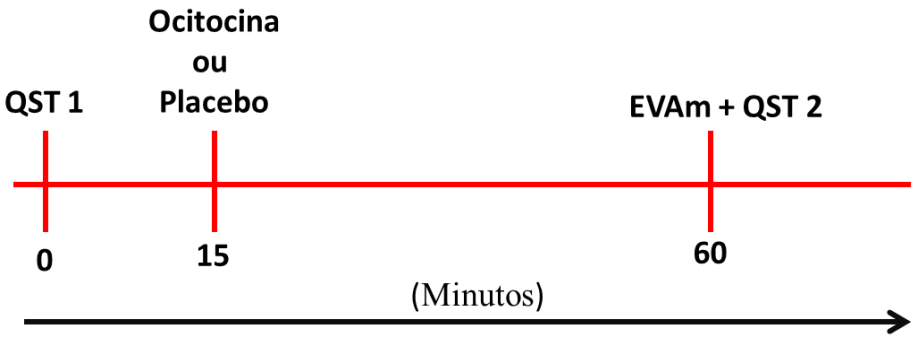

Figura 5. Linha do tempo experimental

3.6 Análises Estatísticas

Os dados estatísticos para o limiar de detecção e de dor foram obtidos a partir do cálculo da diferença entre os limiares encontrados no QST1 e QST2 (QST2 – QST1) para cada sujeito. Da mesma maneira, os dados estatísticos para os estímulos supralimiares foram obtidos a partir do cálculo da diferença entre os escores da EVA encontrados no QST1 e QST2 (QST2 – QST1).

Para analisar o efeito da ocitocina sobre a memória da dor, os resultados foram obtidos a partir da média individual dos escores da EVA para os dois estímulos supralimiares ao calor e ao frio, realizados no QST1. Feito isso, foi calculada a diferença, para cada sujeito, entre a média do escore da EVA do QST1 e o score registrado após 45 minutos da administração de ocitocina ou placebo (EVAm).

A análise e o processamento dos valores encontrados para as diferenças entre o QST1 e QST2, bem como para os registros da EVA antes e após a ocitocina e placebo foram realizadas por análises de variância (ANOVA), sendo considerados estatisticamente significativos somente valores para $p<0,05$.

4. RESULTADOS

4.1. Efeito da ocitocina sobre a percepção de estímulos térmicos e mecânicos

4.1.1 Efeito da ocitocina sobre o limiar de detecção e dor ao frio.

Os resultados do efeito da ocitocina sobre o limiar de detecção e de dor ao frio são apresentados como a média da diferença, entre o primeiro e o segundo QST de cada sujeito, do limiar de detecção e dor ao frio. Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos ($p > 0,05$) tanto para o limiar de detecção (Figura 6) como para o limiar de dor ao frio (Figura 7). Ainda, para a análise da percepção da dor frente a estímulos supralimiares, não houve diferença significativa entre os grupos para os escores de mensuração pela EVA ($p > 0,05$), nos dois estímulos supralimiares de dor ao frio analisados (Figura 8). O escore comparado foi obtido pela subtração do QST1 do QST2, ou seja, a média da diferença de escore entre o QST1 e o QST2 para cada sujeito.

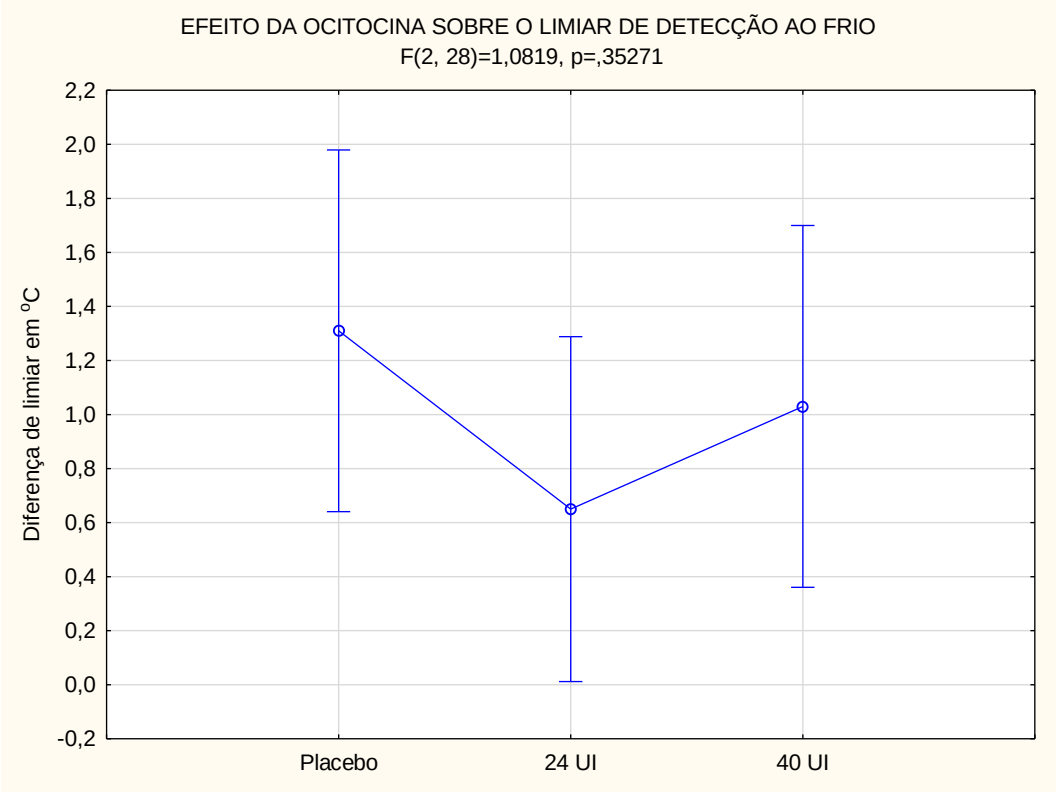

Figura 6. Média da diferença do limiar de detecção ao frio entre o QST1 e QST2 (QST2-QST1) para os grupos placebo, ocitocina 24 UI e 40 UI.

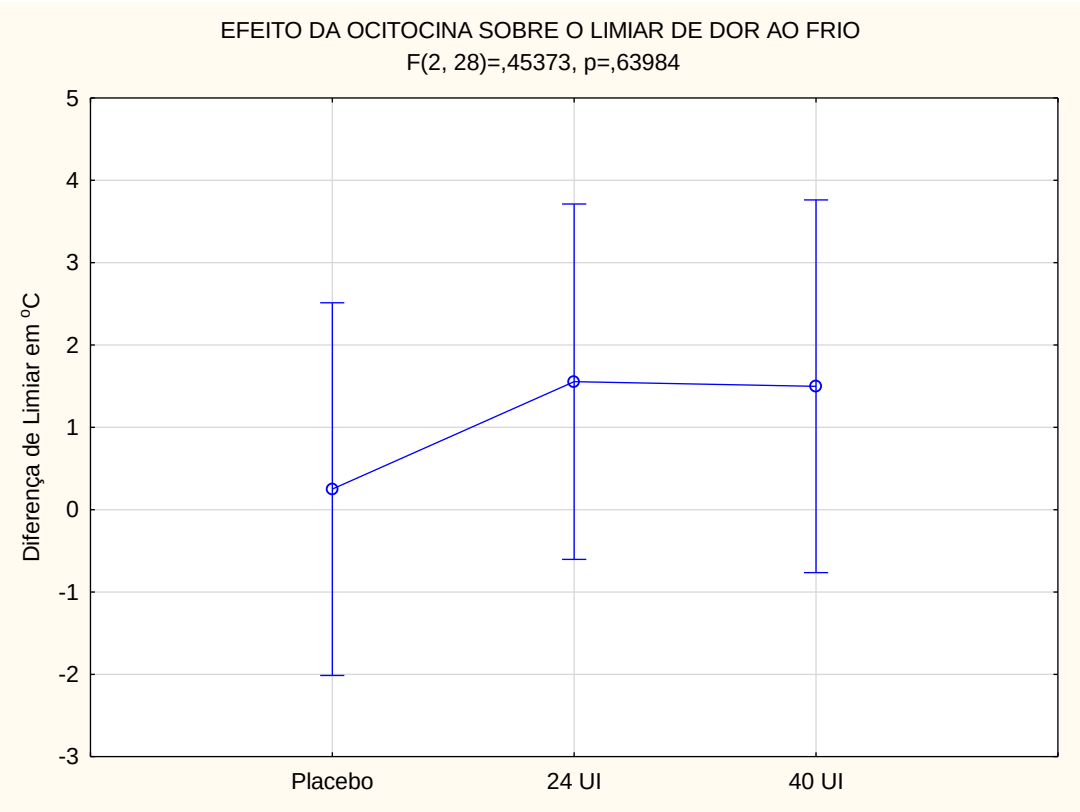

Figura 7. Média da diferença do limiar de dor ao frio entre o QST1 e QST2 (QST2 - QST1) para os grupos placebo, ocitocina 24 UI e 40 UI.

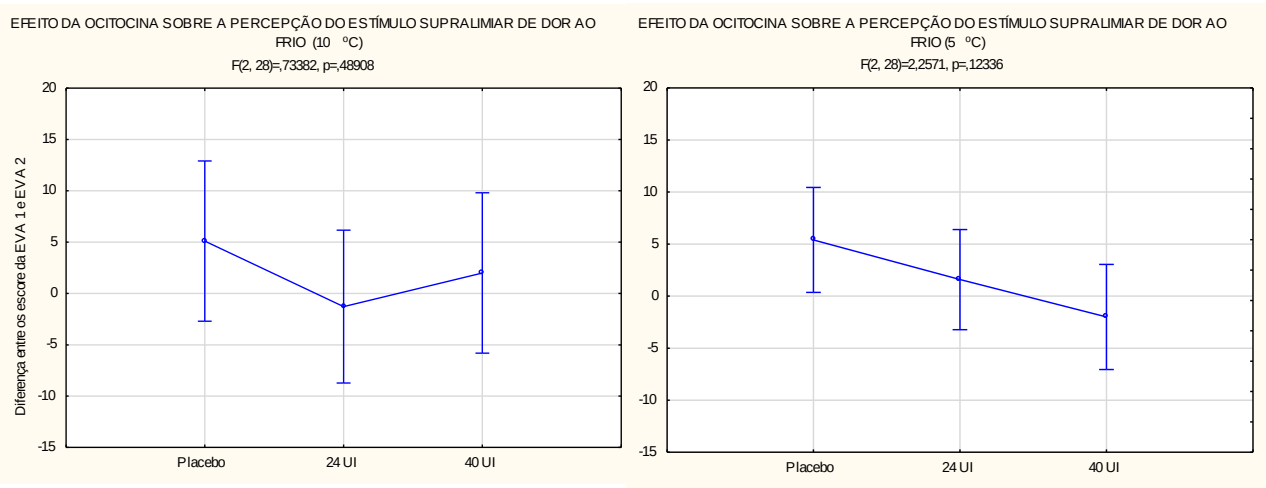

Figura 8. Média por grupo da diferença entre os escores da EVA, encontrados no QST1 e QST2 (QST2 – QST1) para os estímulos supralimiares de dor ao frio (10°C e 5°C) nos grupos placebo, ocitocina 24UI e 40 UI.

4.1.2 Efeito da ocitocina sobre o limiar de detecção e dor ao calor.

Os dados utilizados para a análise do efeito da ocitocina sobre os limiares de detecção e de dor ao calor foram obtidos de maneira semelhante aos dados relacionados aos estímulos frios, descritos anteriormente. Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos para o limiar de detecção (Figura 9) e limiar de dor (Figura 10) ao calor (p>0,05). Ainda, não houve diferença significativa entre os grupos para os escores de mensuração da dor pela EVA, nos dois estímulos supralimiares de dor ao calor (Figuras 11) (p>0,05).

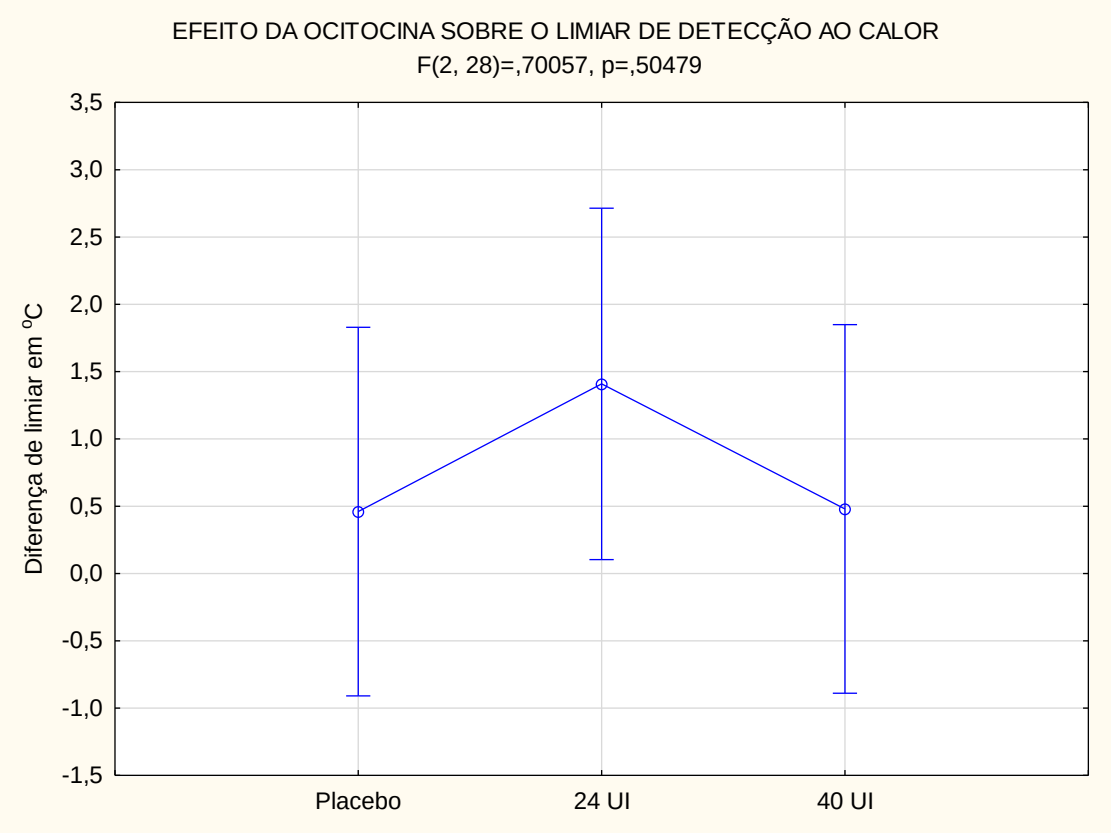

Figura 9. Média da diferença do limiar de detecção ao calor entre o QST1 e QST2 (QST2-QST1) para os grupos placebo, ocitocina 24 UI e 40 UI.

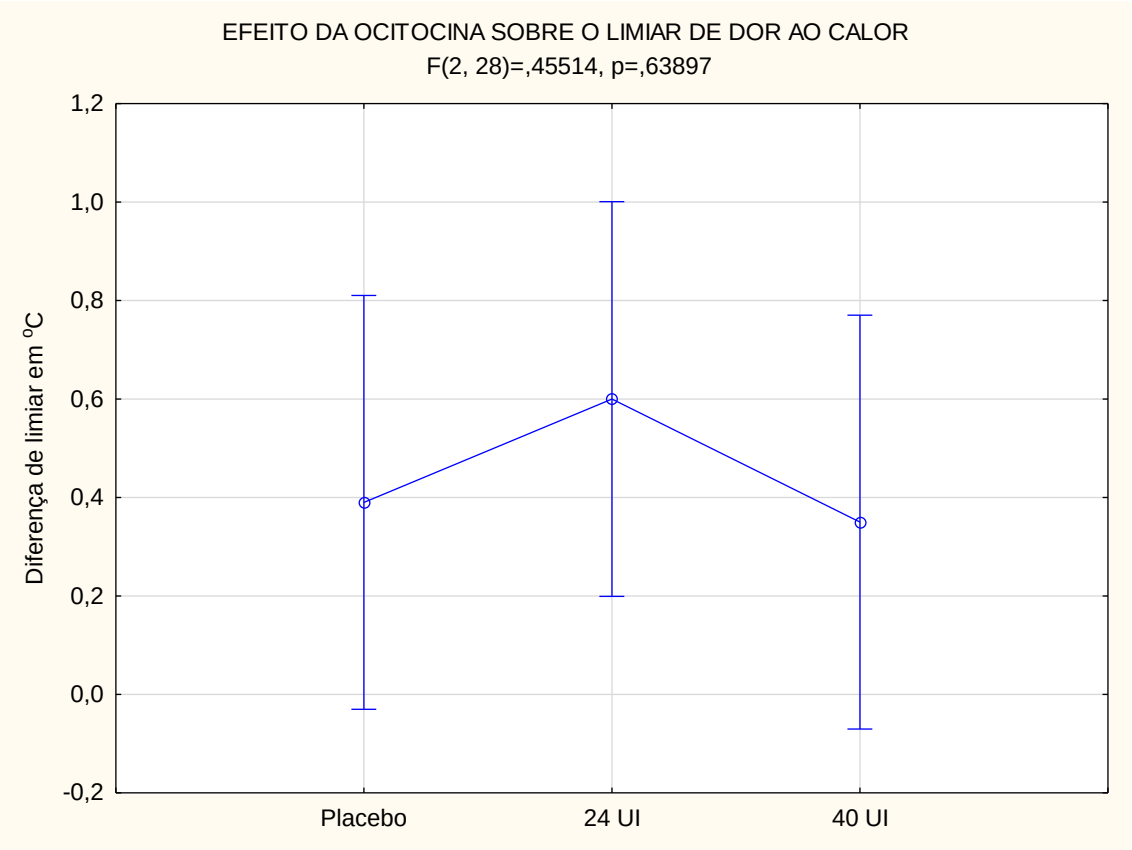

Figura 10. Média da diferença do limiar de dor ao calor entre o QST1 e QST2 (QST2-QST1) para os grupos placebo, ocitocina 24 UI e 40 UI.

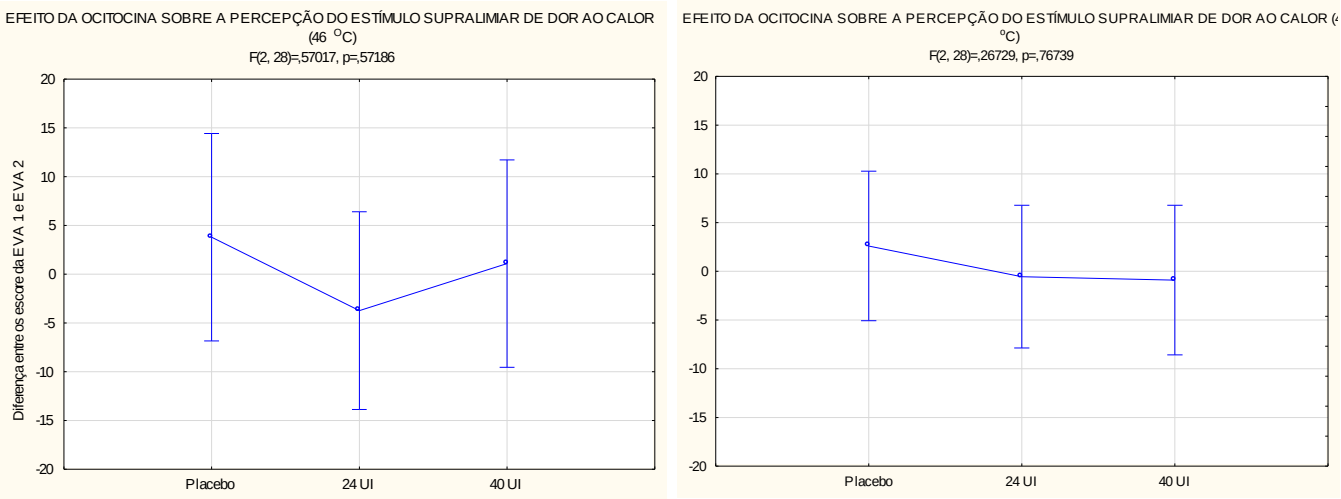

Figura 11. Média por grupo da diferença entre os escores da EVA, encontrados no QST1 e QST2 (QST2 – QST1) para os estímulos supralimiares de dor ao calor (46°C e 48°C) nos grupos placebo, ocitocina 24UI e 40 UI.

4.1.3 Efeito da ocitocina sobre o limiar de detecção e dor ao estímulo mecânico.

O efeito da ocitocina sobre a percepção mecânica se deu por meio da análise da diferença entre a média do limiar de detecção do estímulo mecânico do QST1 para o QST2, para cada grupo. Os dados mostraram uma ligeira tendência não significativa entre os grupos 24 UI e placebo. Verificou-se uma diminuição significativa no limiar de detecção mecânica para o grupo de 40 UI, em comparação com os grupos 24 UI e placebo ($p < 0,05$). Ou seja, detectaram o toque de monofilamento de menor calibre (Figura 12).

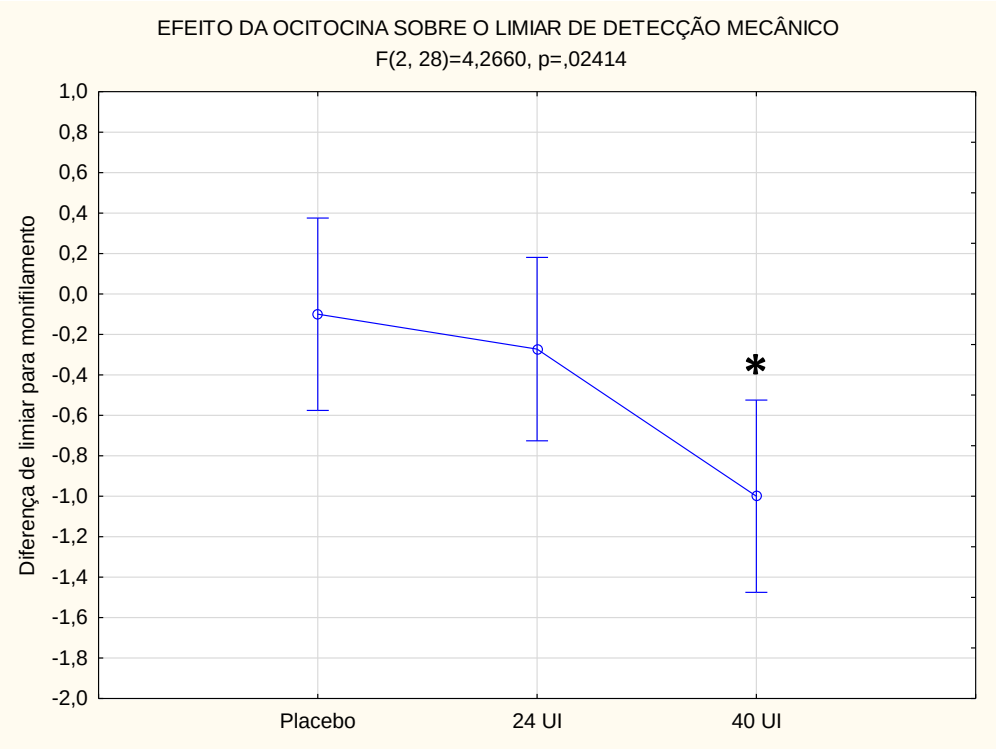

Figura 12. Média da diferença do limiar de detecção ao estímulo mecânico entre o QST1 e QST2 (QST2-QST1) para os grupos placebo, ocitocina 24 UI e 40 UI. É possível notar que os sujeitos sob efeito ocitocina 40 UI detectaram o toque de monofilamento mais fino na pele.

A análise da diferença entre a média do limiar de dor ao estímulo mecânico do QST1 para o QST2, para cada grupo, não mostrou diferença significativa entre os grupos ($p > 0,05$) (Figura 13). Ainda, não houve diferença significativa entre os grupos ($p > 0,05$) para o escore de mensuração da dor ao estímulo mecânico supralimiar (Figura 14).

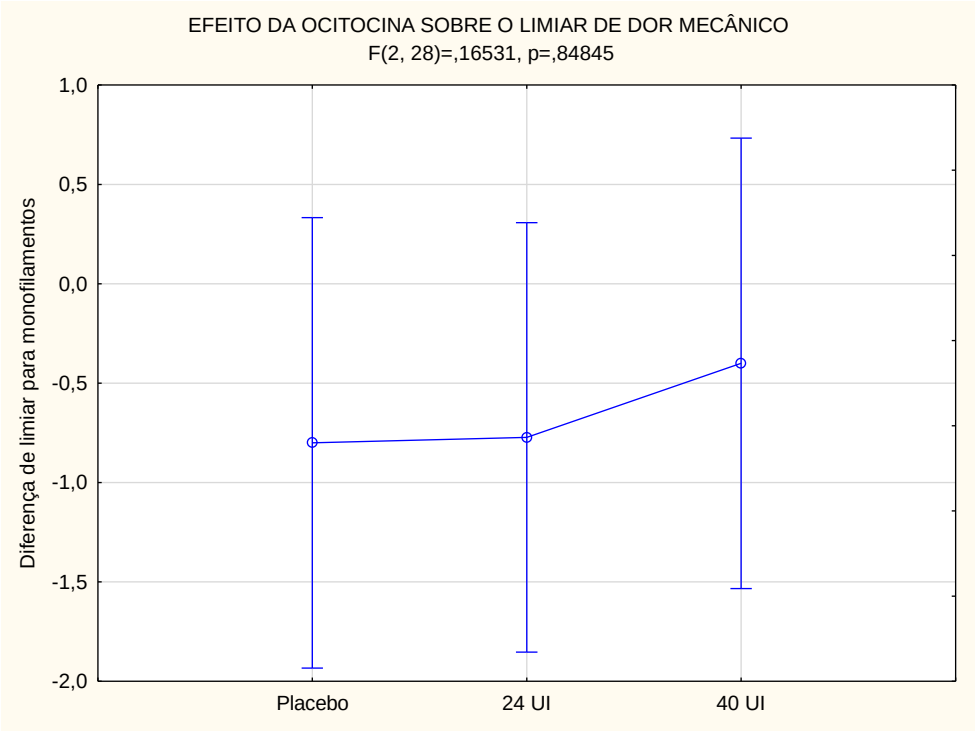

Figura 13. Média da diferença do limiar de dor ao estímulo mecânico entre o QST1 e QST2 (QST2-QST1) para os grupos placebo, ocitocina 24 UI e 40 UI. O limiar foi quantificado pela espessura do monofilamento.

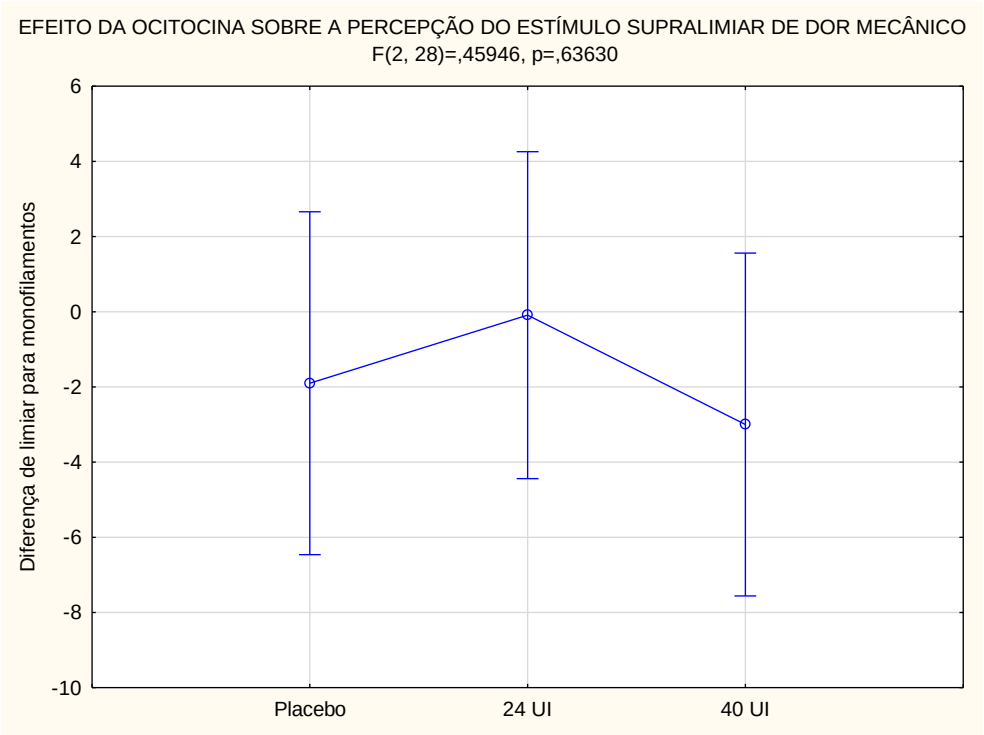

Figura 14. Média da diferença entre os escores da EVA, encontrados no QST1 e QST2 (QST2 – QST1) para o estímulo mecânico supralimiar de dor (monofilamento limiar de dor + 4 monofilamentos) nos grupos placebo, ocitocina 24UI e 40 UI.

4.2. Efeito da ocitocina sobre a memória da dor percebida

Os resultados mostraram que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre a percepção da dor ao calor logo após a apresentação do estímulo doloroso e após 45 minutos da administração da ocitocina (Figura 15). Entretanto, observamos uma tendência a um possível efeito dose-dependente sobre a percepção da dor ao frio ($p < 0,1$), uma vez que os indivíduos lembraram-se do estímulo doloroso ao frio com menor intensidade, após 45 minutos da administração de ocitocina (Figura 16).

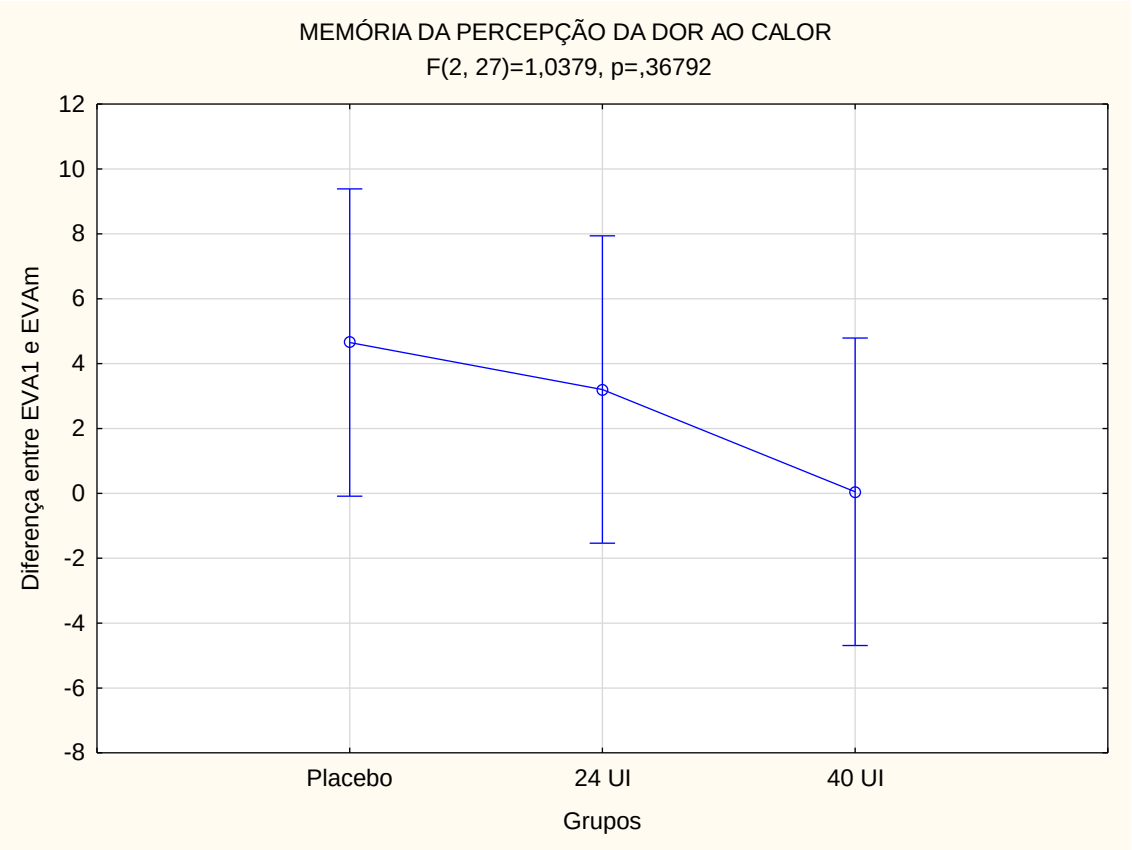

Figura 15. Média por grupo da diferença individual entre o escore da EVA registrado após a apresentação do estímulo doloroso supralimiar ao calor e 45 minutos após a administração de ocitocina (24 UI e 40 UI) ou placebo.

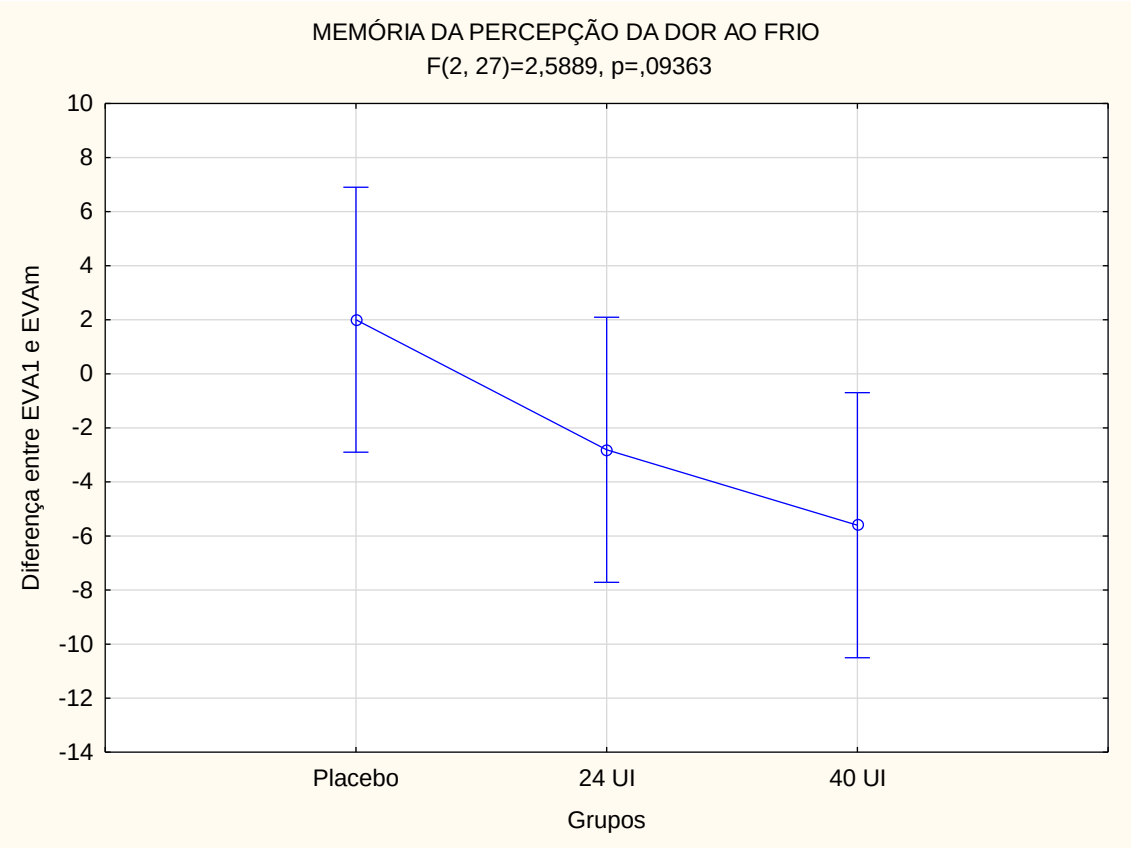

Figura 2. Média por grupo da diferença individual entre o escore da EVA registrado após a apresentação do estímulo doloroso supralimiar ao frio e 45 minutos após a administração de ocitocina (24 UI e 40 UI) ou placebo.

5. DISCUSSÃO

De acordo com Hansson e colegas (2007), testes sensoriais quantitativos baseiam-se na definição precisa das propriedades de um estímulo (modalidade, intensidade, características espaciais e temporais), bem como na análise da qualidade da sensação evocada e quantificação da sua intensidade. Para tanto, compreendem a avaliação dos limiares sensoriais a estímulos inócuos (limiar de detecção) e estímulos dolorosos (limiar de dor), bem como a avaliação das sensações evocadas por estímulos supralimiares (Lindblom & Verrillo, 1979; Samuelsson et al, 2005). Protocolos padronizados de QST incluem estímulos térmicos bem como estímulos mecânicos estáticos e dinâmicos, os quais são usados em ordem para acessar diferentes modalidades sensoriais correspondentes a diferentes tipos de receptores, fibras nervosas periféricas e vias do SNC.

Nossos resultados utilizando o QST não indicaram diferença significativa entre os grupos para o limiar de detecção e de dor térmica ao frio e ao calor, nem em relação aos escores da EVA para os estímulos térmicos supralimiares de dor. Já para o estímulo mecânico, observamos diminuição significativa no limiar de detecção mecânico no grupo de 40 UI ($p < 0,05$), em comparação com os grupos 24 UI e placebo. Nossos resultados indicaram uma provável modulação da ocitocina sobre a percepção tátil de estímulo não-nocivo, uma vez que foi constatada diminuição significativa no limiar de detecção mecânica nos indivíduos sob efeito da ocitocina intranasal, ou seja, apresentaram uma maior sensibilidade ao toque cutâneo sob o efeito da ocitocina. Não houve diferença significativa entre os grupos no limiar de dor e nos escores da EVA para o estímulo mecânico doloroso supralimiar, entre o primeiro e segundo QST.

Sabemos que o sistema somatossensorial transmite quatro tipos de informações principais, sendo elas o tato, a propriocepção, sensação térmica e dor. Embora compartilhem o mesmo tipo de neurônio (a célula do gânglio da raiz dorsal), possuem receptores morfologicamente distintos para cada tipo de modalidade de informação, com especializações moleculares distintas, que permitem que cada tipo de receptor seja ativado seletivamente por propriedades qualitativas e espaciais, identifiquem e sejam sensíveis a diferentes estímulos específicos. O tato discriminativo depende de mecanoceptores encapsulados sensíveis a deformações físicas, sendo especializados na transdução da pressão e do movimento. Os mecanoceptores são inervados por fibras mielinizadas de grande calibre, que transmitem a informação com maior velocidade (fibras A- β). Já a sensação térmica é mediada por

terminações nervosas livres de axônios finamente mielinizados (fibras A- δ) ou não mielinizadas (fibras C), que são sensíveis a um determinado espectro de energia térmica. No que se refere à sensação dolorosa, é mediada por terminações nervosas livres, os nociceptores, que respondem a estímulos mecânicos, térmicos e químicos potencialmente destrutivos.

Ambas as modalidades somatossensoriais são transmitidas para o tálamo e córtex somatossensorial através de vias ascendentes segregadas anatomicamente. O tato e a propriocepção são transmitidos ao corno dorsal da medula espinhal pelas fibras de grosso calibre e alta velocidade de condução, para o tronco cerebral e tálamo através do feixe lemnisco medial, enquanto as sensações dolorosas e térmicas, que são conduzidas por fibras A-δ e fibras C, terminam em camadas mais superficiais do corno dorsal medular, e são conduzidas diretamente e por meio de circuitos multissinápticos para o tálamo por meio da via ântero-lateral contralateral. No processamento da informação somestésica, neurônios de terceira ordem do tálamo enviam axônios ao córtex somatossensorial primário (S-I). Os neurônios de diferentes partes do córtex estão organizados de forma somatotópica, formando o chamado homúnculo sensório. O córtex somatossensorial secundário (S-II), localizado na parte superior da fissura lateral, é inervado por neurônios de cada uma das quatro áreas de S-I, que são necessárias para a função de S-II. O córtex secundário projeta-se ao córtex insular, que por sua vez inerva regiões do lobo temporal, sendo importantes para a memória tátil. Por fim, outras áreas corticais somatossensoriais importantes, como as áreas 5 e 7 de Broadmann, estão localizadas no córtex parietal posterior, tendo funções associativas (Kandel et al., 2003; Lent, 2010).

Levando em consideração que as informações térmicas e mecânicas inócuas, bem como as dolorosas são captadas por diferentes tipos de receptores e ascendem para regiões superiores de processamento do sistema nervoso central através de vias distintas, os resultados encontrados sugerem que os efeitos centrais da ocitocina podem influenciar seletivamente a percepção de estímulos somatossensoriais.

Apesar de robusta literatura investigando os efeitos da ocitocina na modulação da dor em animais (Breton et al., 2009; Yang et al., 2011a; Yang et al., 2011b Yang et al., 2011c; Yang et al., 2011d; Yang et al., 2007; Uvnäs-Moberg et al., 1992; Uvnäs-Moberg et al., 1997), e em menor número em humanos (Yang, 1994; Louvel et al., 1996; Wang et al., 2013; Grewen et al., 2008), não há estudos investigando a participação da ocitocina na percepção tátil.

Os resultados encontrados não permitem dizer, de fato, quais regiões ou mecanismos

estão sendo alvo da ação da ocitocina. Porém, alguns estudos nos levam a considerar que a ocitocina atue modulando a percepção ao toque por meio de mecanismos corticais.

Boccia et al (2013) descreveram a presença de receptores de ocitocina em diversas áreas do encéfalo humano, como o Córtex Cingulado Anterior, envolvido em processos associativos multimodais de informações somatossensoriais (Kandel, 2013), mais especificamente em mecanimos atencionais do sistema anterior, constituido também pelo córtex frontal. Participam do recrutamento atencional para a detecção de estímulos e processamento cognitivo de tarefas complexas, mobilizando a atenção para a ação (Nahas & Xavier, 2014). Ainda, diversos estudos têm demonstrado que a ocitocina atua como um importante modulador da atenção para pistas sociais relevantes, de acordo com características contextuais e individuais, de forma a ajustar as informações sociais disponíveis à tomada de decisão (Shamay-Tsoory & Abu-Akel, 2015; Olff et al., 2013). Para isso, Shamay-Tsoory & Abu-Akel (2015), propoem que sua interação com o sistema dopaminérgico promove a modulação da saliência e relevância dos estímulos sociais, uma vez que sítios de ligação para ocitocina foram descritos em todo o sistema mesocorticolímbico dopaminérgico (Stoop, 2012). Evidências indicam que a ocitocina exerce efeito direto sobre a liberação de dopamina dentro deste sistema (Shahrokh et al., 2010), destacando a relevância de estímulos sociais ao aumentar os efeitos do sistema dopaminérgico, que tem papel na reorientação da atenção e atribuição de saliência aos estímulos.

A amígdala, estrutura envolvida na atribuição de relevância emocional a estimulos sociais e reorientação da atenção, tem sido pensada como a principal região envolvida nos efeitos da interação entre ocitocina e dopamina (Rosenfeld et al., 2011). Além disso, foi demonstrado que a conectividade funcional entre a amígdala e colículos superiores foi aumentada após a administração de ocitocina, possivelmente modulando a atenção seletiva para as informações sociais através do sistema visual (Gamer et al., 2010). Domes et al (2007) destacaram seu envolvimento com a direção do olhar na região dos olhos para o reconhecimento de emoções e interpretação de expressões faciais (Guastella et al., 2008).

A ativação de receptores de ocitocina em regiões envolvidas no processamento auditivo favorece a hipótese de um papel neuromodulador da ocitocina nas primeiras fases do processamento auditivo, direcionando a atenção sonora para estímulos sociais relevantes (Freeman et al., 2014), como o reconhecimento do tom de voz (Hollander et al., 2007). Além disso, estudo realizado com humanos relatou papel da ocitocina sobre a audição e compreensão de estimulos sonoros, modulando, inclusive, o efeito coquetel, direcionando a

atenção auditiva para estímulos sonoros socialmente relevantes, facilitando comportamentos sociais comunicativos (Tops et al., 2011).

O conjunto dos achados aqui mensionados nos orientam para uma possível modulação das informações sensoriais táteis, também pelo direcionamento atencional ao estímulo estudado, ainda que não tenhamos realizado toque afetivo. Acreditamos que, ao ser dada a tarefa de identificar se o estímulo está ou não presente, o estímulo passa a ser relevante no contexto experimental, dando a ele as características necessárias para que a modulação ocitocinérgica sobre os mecanismos atencionais favoreça sua percepção.

Os efeitos da ocitocina sobre comportamentos sociais por meio de modificações no processamento sensorial visual (principalmente relacionado ao reconhecimento emocional de expressões faciais), e auditivo (relacionado ao processamento de voz e sons relevantes para a comunicação social) têm sido frequentemente demonstrados (Guastella et al., 2008; Gamer et al., 2010; Domes et al., 2007; Hollander et al., 2007; Freeman et al., 2014). Entretanto, apesar de o toque interpessoal ter grande importância no comportamento social, como a criação e fortalecimento de vínculos (McGlone et al., 2014; Gallace & Spence, 2010), esse é o primeiro estudo a analisar os efeitos da ocitocina sobre o processamento tátil de estímulo não-nocivo.

Estudos demonstram que estímulos táteis não-nocivos ativam neurônios ocitocinérgicos hipotalâmicos, refletindo em um aumento nos níveis plasmáticos (Morhenn et al., 2012; Matthiesen et al., 2001, Okabe et al., 2015; Uvnäs-Moberg, 1998; Uvnäs-Moberg et al., 2015), o que contribui para o estabelecimento de vínculo (Matthiesen et al., 2001; Bystrova et al., 2009). Nesse sentido e levando em conta os resultados aqui apresentados, é possível que a ocitocina liberada também aumente a percepção e sensibilidade a este toque, caracterizando um sistema de retroalimentação positiva. Assim, o toque promove a liberação de ocitocina, que por sua vez aumenta a percepção ao toque, e isso reflete no estabelecimento de vínculo e nas relações sociais, fortemente modulados pela ocitocina (Figura 17). A interação social, por sua vez, expoe o indivíduo a novos estímulos táteis, reforçando esse círculo virtuoso.

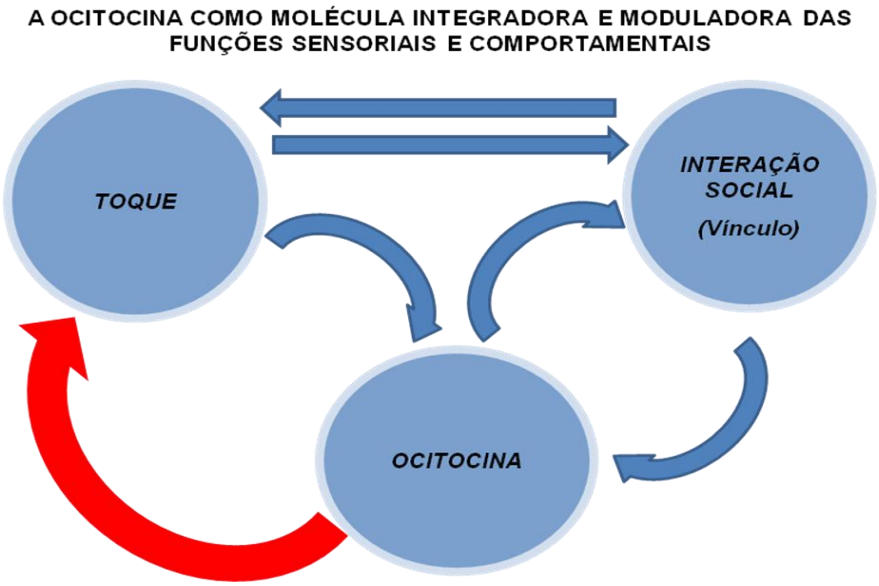

Figura 17. A liberação de ocitocina contribui para o estabelecimento dos laços sociais e criação de vínculo. Neste cenário, o toque, comumente presente nas relações sociais, e que também compõe o processo de estabelecimento de vínculos, estimula maior liberação de ocitocina, a qual aumentaria a percepção sensorial a este toque, aumentando as informações disponíveis do contexto ambiental externo, influenciando em todo o processo de desenvolvimento e manutenção dos laços sociais e vínculos afetivos.

Evidencias corroborando a hipótese aqui apresentada vem de estudos com o Transtorno do Espectro Autista (TEA). A ocitocina parece desempenhar um importante papel na etiologia do autismo como resultado de seus efeitos sobre os comportamentos social e emocional, e estabelecimento de vínculos afetivos (Husarova et al., 2016; Gurrieri & Neri, 2009). TEA é um transtorno do neurodesenvolvimento, caracterizado por permanente prejuízo na interação social, além de mudanças na comunicação e desenvolvimento emocional, entre outros sintomas (Klin, 2006). Indivíduos com TEA apresentam menores níveis plasmáticos de ocitocina, o que pode estar associado aos sintomas do autismo (Husarova et al., 2016). Essa ideia é apoiada por estudos que mostram que administração exógena de ocitocina em indivíduos com TEA resultou em melhorias na interação social (Hollander et al., 2007; Anagnostou et al., 2007; Andari et al., 2007). É importante lembrar que alterações na percepção sensorial é uma característica muito reconhecida no autismo, sendo um dos critérios estabelecidos pelo Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-V) para o diagnóstico do transtorno (Pus et al., 2014).

Com base nos resultados aqui encontrados, é possível sugerir que as alterações no processamento tátil encontradas no autismo também estejam atreladas ao déficit de ocitocina,

uma vez que a ocitocina poderia aumentar a percepção tátil. Além disso, o déficit de ocitocina relaciona-se a alterações nas relações sociais, favorecendo a restrição ao contato físico, e tudo isso contribui para menor estimulação e menor liberação de ocitocina. Interrupção no ciclo de feedback positivo reforçaria as mudanças nas interações sociais, bem como pode reforçar o déficit sensorial e a menor sensibilidade tátil. Para melhor compreender esse fenômeno, mais estudos são necessários para elucidar a relação entre ocitocina, processamento tátil e relações sociais.

No que diz respeito ao limiar e supralimiar de dor mecânico (4 monofilamentos acima do monofilamento de limiar de dor), não houve diferença significativa entre os grupos ocitocina e placebo. É importante mencionar que grande parte dos sujeitos relatava ainda no primeiro teste, não considerar o estímulo mecânico utilizado como doloroso, sendo nestes casos atribuído o monofilamento de maior calibre como doloroso. Assim, sugere-se que em estudos futuros seja utilizado outro método para evocar estímulos mecânicos dolorosos em indivíduos saudáveis, enquanto o método se apresentou adequado para acessar o limiar de detecção mecânico não nocivo.

Nos limiares térmicos (de detecção e de dor ao frio e ao calor) não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos ocitocina e placebo. Este resultado vai ao encontro do estudo publicado por Zunhammer et al (2015), que utilizando um protocolo semelhante de QST para limiares térmicos (frio e calor, inócuos e dolorosos) não encontrou diferenças significativas entre os grupos que receberam ocitocina inalatória (32 UI) ou placebo, não sendo identificado efeito antinociceptivo da ocitocina sobre esta modalidade de estímulos, utilizando a metodologia apresentada.

O limiar sensorial é definido como a menor força de um estímulo que um indivíduo é capaz de detectar, e recebe influencias de diversos fatores, entre eles, atencionais, emocionais e do contexto em que o estímulo ocorre. Modificações do limiar sensorial podem ser entendidas por meio de dois aspectos da sensação, sendo o primeiro relacionado à detectabilidade absoluta do estímulo, ou seja, relacionada à capacidade do sistema sensorial em processar um estímulo, e o segundo diz respeito ao critério usado pelo indivíduo para avaliar se o estímulo está presente, ou seja, reflete uma atitude ou viés do indivíduo frente à experiência sensorial (Kandel et al., 2003). Os experimentos em questão foram desenvolvidos pela mesma pesquisadora, utilizando-se dos mesmos procedimentos e orientações padronizadas para todos os indivíduos, que não sabiam dos objetivos exatos do estudo. Entretanto, não é possível desconsiderar que fatores externos possam ter influenciado a

detecção dos limiares pelos indivíduos, por se tratar de um ambiente hospitalar, no qual se torna difícil controlar todas as possíveis interferências atencionais, sonoras, psicológicas e de outras ordens. Ainda, o método de limites, em que a intensidade dos estímulos aplicados sobre a pele aumenta ou diminui até que o indivíduo perceba o estímulo (inócuo ou doloroso) e o pare pressionando um botão, o qual foi utilizado para detecção dos limiares térmicos neste estudo, apresenta desvantagens por depender do tempo de reação e, além disso, é altamente dependente das habilidades motoras e da atenção do indivíduo (Hansson et al., 2007).

Nossos resultados envolvendo o efeito da ocitocina sobre a memória da dor percebida, não apresentaram diferença significativa nos testes de memória da dor ao calor, bem como de memória da dor ao frio entre os grupos ocitocina e placebo. Entretanto, na memória da dor ao frio é possível observar uma tendência a um possível efeito dose-dependente da ocitocina sobre a memória ($p = 0,09$), atenuando a memória à experiência dolorosa no teste supralimiar de dor ao frio, sendo este efeito mais evidente no grupo ocitocina 40 UI.

Neste sentido, podemos considerar que o envolvimento da ocitocina com a formação de memórias pode estar relacionado à sua modulação sobre estruturas que participam do processamento menmônico, como o hipocampo. Em ratos, estudos relacionam a participação da ocitocina na plasticidade sináptica hipocampal, interferindo na cascata de sinalização intracelular responsável pela LTP (García-Segura, 2009). Ainda, estudos evidenciaram que lesões hipocampais impedem a formação da memória aversiva (Lombroso, 2004; Squire, 1992; Scoville et al., 1957) e a consolidação da memória de curto prazo em longo prazo (Albuquerque et al., 2010). Em humanos, os efeitos da ocitocina têm sido relacionados à atenuação de memórias relacionadas ao medo, como a evocação de palavras e reconhecimento de faces associadas ao medo (Heinrichs et al., 2004; Savaskan et al., 2008).

Outra estrutura estreitamente relacionada ao medo e à formação da memória aversiva é a amígdala, envolvida no processamento comportamental através de interações com outras regiões encefálicas (Izquierdo et al., 2016). Kirsch et al. (2005) demostraram redução acentuada na ativação da amígdala para estímulos aversivos, bem como redução na conectividade da amígdala com outras regiões do tronco encefálico, implicadas no controle autonômico de manifestações comportamentais, após a administração intranasal de ocitocina (27 UI), indicando a modulação da ocitocina sobre a formação da memória aversiva. Somado a este dado, Singer e colegas (2008) encontraram que a administração inalatória de ocitocina em homens saudáveis (32 UI) resultou em redução na ativação da amígdala quando os sujeitos receberam estimulação dolorosa.

Com base nesses achados, é possível que a ocitocina atue modulando a plasticidade hipocampal, o qual também está interconectado com a amígdala, que tem ativação reduzida sob efeito da ocitocina, passando a exercer menor influência em mecanismos de memória aversiva. Além disso, nossos resultados parecem sugerir a participação da ocitocina no desempenho mnemônico da dor em humanos de distintas maneiras, o que sugere que os efeitos centrais da ocitocina podem influenciar seletivamente a memória da dor, dependendo da relevância psicobiológica do estímulo. Desta forma, é ressaltada a necessidade de mais estudos para uma melhor compreensão da influência da ocitocina sobre a memória sensorial da dor, e os mecanismos envolvidos neste processo.

6. CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo sugerem que a ocitocina pode facilitar a detecção de estímulos táteis mecânicos inócuos, mas não influencia na detecção de estímulos térmicos inócuos ou na detecção de dor mecânica e térmica, podendo, deste modo, estar envolvida seletivamente na modulação da percepção de estímulos sensoriais. Os resultados encontrados mostram pela primeira vez o efeito da ocitocina intranasal na diminuição do limiar para a detecção de estímulos tácteis não nocivos. Propomos que este efeito contribua para o estabelecimento de vínculo mediado pela ocitocina.

Ainda, a ocitocina parece não influenciar significativamente a memória da dor ao calor e ao frio, apesar da clara tendência a uma possível modulação da memória da dor ao frio, contribuindo para que os indivíduos se lembrassem da dor ao frio com menor intensidade.

A ocitocina é um importante neuro-hormônio envolvido em diversos processos biopsicossociais. Muitos mecanismos de ação ainda precisam ser desvendados e melhor esclarecidos por meio de estudos futuros, o que renderá importantes conhecimentos a respeito da fisiologia e neuromodulação de diversos fenômenos em seres humanos.

7. REFERÊNCIAS

Alberini, C., Milekic, M., Tronel, S. Mechanisms of memory stabilization and de-stabilization. *Cell Mol Life Sci*. **63**: 999 – 1008, 2006.

Albuquerque, F., Silva, R. A amígdala e a tênue fronteira entre memória e emoção. *Rev. psiquiatr. Rio Gd. Sul*. **31**: 1 – 18, 2010.

Amico, J. A., Tenicela, R., Johnston, J., Robinson, A. G. A time-dependent peak of oxytocin exists in cerebrospinal fluid but not in plasma of humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. **57**: 947 – 951, 1983.

Anagnostou, E., Soorya, L., Chaplin, W., Bartz, J., Halpern, D., Wasserman, S., Wang, A.T., Pepa, L., Tanel, N., Kushki, A., Hollander, E. Intranasal oxytocin versus placebo in the treatment of adults with autism spectrum disorders: a randomized controlled trial. *Mol Autism*. **3**: 16, 2012.

Andari, E., Duhamel, J.R., Zalla, T., Herbrecht, E., Leboyer, M., Sirigu, A. Promoting social behavior with oxytocin in high-functioning autism spectrum disorders. *Proc Natl Acad Sci.* **107**: 4389 – 4394, 2010.

Anton, F., Peppel, P. Central projections of trigeminal primary afferents innervating the nasal mucosa: a horseradish peroxidase study in the rat. *Neuroscience.* **41**: 617 -628, 1991.

Baddeley, A., Warrington, E. K. Amnesia and the distinction between long and short-term memory. *J Verbal Learn Verbal Behav*. **9**: 176 – 189, 1970.

Bahadur, S., Pathak, K. Physicochemical and physiological considerations for efficient nose-to-brain targeting. *Expert Opin. Drug Deliv*. **9**: 19 - 31, 2012.

Baker, H., Spencer, R. F. Transneuronal transport of peroxidase-conjugated wheat germ agglutinin (WGA-HRP) from the olfactory epithelium to the brain of the adult rat. *Exp. Brain Res*. **63**: 461 - 473, 1986.

Barco, A., Bailey. C. H., Kandel, E. R. Common molecular mechanisms in explicit and implicit memory. *J of Neuroch*, **97**: 1520 – 1533, 2006.

Bechara, A., Tranel, D., Damasio, H., Adolphs, R., Rockland, C., Damasio, A. R. Double dissociation of conditioning and declarative knowledge relative to the amygdala and hippocampus in humans. *Science*. **269**: 1115 – 1118, 1995.

Boccia, M.L.,Petrusz, P., Suzuki, K., Marson, L., Pedersen, C.A. Immunohistochemical localization of oxytocin receptors in human brain. *Neuroscience* . **253**: 155 – 164, 2013.

Breton, J.D., Poisbeau P., Darbon, P. Antinociceptive action of oxytocin involves inhibition of potassium channel currents in lamina II neurons of the rat spinal cord. *Molecular Pain*. **5**: 63 - 75, 2009.

Broadwell, R. D., Balin, B. J. Endocytic and exocytic pathways of the neuronal secretory process and trans synaptic transfer of wheat germ agglutinin-horseradish peroxidase in vivo. *J. Comp. Neurol*. **242**: 632–650, 1985.

Bystrova, K., Ivanova, V. Edhborg, M., Matthiesen,A-S., Ransjö-Arvidson,A-B., Mukhamedrakhimov, R., Uvnäs-Moberg, K., Widström, A-M. Early Contact versus Separation: Effects on Mother–Infant Interaction One Year Later. *Birth*. **36**(2): 97 – 110, 2009.

Cahill, L., Babinsky, R., Markowitsch, H., McGaugh, J. L. The amygdala and emotional memory. *Science*. **377**: 295 – 296, 1995.

Campbell P, Ophir AG, Phelps SM. Central Vasopressin and oxytocin receptor distribution in two species of singing mice. *J Comp Neurol*. **4**: 321 – 333, 2009.

DeLaTorre, S., Rojas-Piloni, G., Martínez-Lorenzana, G., Rodríguez-Jiménez, J., Villanueva, L., Condés-Lara, M. Paraventricular oxytocinergic hypothalamic prevention or interruption of long-term potentiation in dorsal horn nociceptive neurons: Electrophysiological and behavioral evidence. *Internat Pain.* **144**: 320 - 328, 2009.

Domes, G., Heinrichs, M., Glascher, J., Buchel, C., Braus, D.F., Herpertz, S.C. Oxytocin attenuates amygdale responses to emotional faces regardless of valence. *Biol. Psychiatry*. **62**: 1187 – 1190, 2007.

Freeman, S.M., Inoue, K., Smith, A.L., Goodman, M.M., Young, L.J. The neuroanatomical distribution of oxytocin receptor binding and mRNA in the male rhesus macaque (Macaca mulatta). *Psychoneuroendocrinology*. **45**: 128 – 141, 2014.

Frutuoso, J. T., Cruz, R. M. Relato verbal na avaliação psicológica da dor. *Aval. psicol*. **3**: 107 - 114, 2004.

Gallace, A., Spence, C. Touch and the Body: The Role of the Somatosensory Cortex in Tactile Awareness. *Psyche*. **16** (1): 30 – 67, 2010.

Gamer, M., Zurowski, B., Buchel, C. Different amygdala subregions mediate valence-related and attentional effects of oxytocin in humans. *Proc Natl Acad Sci*. **107**: 9400 – 9405, 2010.

García-Segura, L. M. **Hormones and brain plasticity**. Peptide Hormones, Introduction: Peptide Hormones as Regulators of Brain Remodeling; p. 105 – 109. Oxford: 2009.

Gimpl, G., Fahrenholz, F. The oxytocin receptor system: structure, function, and regulation. *Physiol. Rev*. **81**: 629 – 683, 2001.

Gossen, A., Hahn, A., Westphal, L., Prinz, S., Schultz, R. T., Gründer, G., Spreckelmeyer, K. N. Oxytocin plasma concentrations after single intranasal oxytocin administration - a study in healthy men. *Neuropeptides.* **46**: 211 – 215, 2012.

Gregorian, R. S. J., Gasik, A., Kwong, W. J., Voeller, S., Kavanagh, S. Importance of side effects in opioid treatment: a trade-off analysis with patients and physicians. *J Pain*. **11**: 1095- 1108, 2010.

Grewen, K. M., Light, K. C., Mechlin, B., Girdler, S. S. Ethnicity is associated with alterations in oxytocin relationships to pain sensitivity in women. *Ethn Health*. **13**: 219 – 241, 2008.

Grewen, K. M., Light, K. C. Plasma oxytocin is related to lower cardiovascular and sympathetic reactivity to stress. *Biol Psychol*. **87**: 340 - 349, 2011.

Guastella, A. J., Hickie, I. B., McGuinness, M. M., Otis, M., Woods, E. A., Disinger, H. M., Chan, H. - K., Chen, T. F., Banati, R. B. Recommendations for the standardisation of oxytocin nasal administration and guidelines for its reporting in human research. *Psychoneuroendocrin*. **38**: 612 – 625, 2013.

Guastella, A.J., Mitchell, P.B., Dadds, M.R. Oxytocin increases gaze to the eye region of human faces. *Biol Psychiatry*. **63**: 3 – 5, 2008.

Gurrieri, F., Neri, G. Defective oxytocin function: a clue to understanding the cause of autism? *BMC Med*. **7**: 63, 2009.

Gutkowska, J., Jankowski, M. Oxytocin revisited: its role in cardiovascularregulation. *J. Neuroendocrinol*. **24**: 599 – 608, 2012.

Hansson, P., Backonja, M., Bouhassira, D. Usefulness and limitations of quantitative sensory testing: Clinical and research application in neuropathic pain states. *Pain.* **129**: 256 – 259, 2007.

Hatton, G.I. Emerging concepts of structures-function dynamics in adult brain: The hypothalamo-neurohypophysial system. *Prog Neurobiol*. **34**: 437 – 504, 1990.

Heinrichs, M., Baumgartner, T., Kirschbaum, C., Ehlert, U. Social support and oxytocin interact to suppress cortisol and subjective responses to psychosocial stress. *Biol Psychiatry*. **54**: 1389 – 1398, 2003.

Heinrichs, M., Meinlschmidt, G., Wippich, W., Ehlert, U., Hellhammer, D.H. Selective amnesic effects of oxytocin on human memory. *Physiology and Behaviour*. **83**: 31 - 38, 2004.

Hollander, E., Bartz, J., Chaplin, W., Phillips, A., Sumner, J., Soorya, L., Anagnostou, E., Wasserman, S. Oxytocin increases retention of social cognition in autism. *Biol Psychiatry*. **61**: 498 - 503, 2007.

Horvat-Gordon, M., Granger, D. A., Schwartz, E. B., Nelson, V. J., Kivlighan, K. T. Oxytocin is not a valid biomarker when measured in saliva by immunoassay. *Physiol. Behav*. **16**: 445 – 448, 2005.

Husarova, V.M., Lakatosova1, S. Pivovarciova1, A., Babinska, K., Bakos, J., Durdiakova1, J., Kubranska1, A., Ondrejka, I., Ostatnikoval. D. Plasma Oxytocin in Children with Autism and Its Correlations with Behavioral Parameters in Children and Parents. *Psychiatry Investig*. **13** (2): 174 - 183, 2016.

Ingram, C.D., Moos, F. Oxytocin-containing pathway to the bed nuclei of the stria terminalis of the lactating rat brain: immunocytochemical and in vitro electrophysiological evidence. *Neurosci*. **47**: 439 – 52, 1992.

Irngartinger, M., Camuglia, V., Damm, M., Goede, J., Frijlink, H. W. Pulmonary delivery of therapeutic peptides via dry powder inhalation: effects of micronisation and manufacturing. *Eur. J. Pharm. Biopharm*. **58**: 7 - 14, 2004.

Izquierdo, I., Bevilaqua, L., Rossato, J., Bonini, J., Medina, J., Cammarota, M. Different molecular cascades in different sites of the brain control memory consolidation. *Trends Neurosci*. **29**: 496 – 505, 2006.

Izquierdo, I., Furini, C. R., Myskiw, J. C. Fear Memory. *Physiol Rev*. **96** (2): 695 – 750, 2016.

Jansson, B., Björk, E. Visualization of in vivo olfactory uptake and transfer using fluorescein dextran. *J. Drug Target*. **10**: 379 - 386, 2002.

Jensen, M.P., Karoly, P., Braver, S. The measurement of clinical pain intensity: a comparison of six methods. *Pain*. **27**: 117 – 126, 1986.

Jolkkonen, E., Miettinen, R., Pitkänen, A. Projections from the amygdalopiriform transition area to the amygdaloid complex: a PHA-l study in rat. *J. Comp.Neurol*. **432**: 440–465, 2001.

Kandel, E. R., Schwartz, J. H., Jessell, T. M. **Princípios da Neurociência**. 4ª Edição. Barueri: Manole: 2003.

Kang, N., Baum, M. J., Cherry, J. A. Different profiles of main and accessory olfactory bulb mitral/tufted cell projections revealed in mice using an anterograde tracer and a whole-mount, flattened cortex preparation. *Chem. Senses.* **36**: 251–260, 2011.

Kirsch, P., Esslinger, C., Chen, Q., Mier, D., Lis, S., Siddhanti, S., Gruppe, H., Mattay, V. S., Gallhofer, B.,Lindenberg, A. M. Oxytocin Modulates Neural Circuitry for Social Cognition and Fear in Humans. *The Jour of Neurosci*. **25** (49): 11489 –11493, 2005.

Kissin I. The development of new analgesics over the past 50 years: a lack of real breakthrough drugs. *Anesth Analg.***110**: 780 - 789, 2010.

Klin, A. Autismo e síndrome de Asperger: uma visão geral. *Rev Bras Psiquiatr*. **28**: S3-11, 2006.

Kombian, S. B., Mouginot, D., Pittman, Q. J. Dendritically released peptides act as retrograde modulators of afferent excitation in the supraoptic nucleus in vitro. *Neuron.* **19**: 903 - 912, 1997.

Kovács, G.L., Bohus, B., Versteeg, D.H., de Kloet, E.R., de Wied, D. Effect of oxytocin and vasopressin on memory consolidation: sites of action and catecholaminergic correlates after local microinjection into limbic-midbrain structures. *Brain Research*. **175**: 303 – 314, 1979.

Kow, L. M., Johnson, A. E., Ogawa, S., Pfaff, D. W. Electrophysiological actions of oxytocin on hypothalamic neurons in vitro: neuropharmacological characterization and effects of ovarian steroids. *Neuroendocrinology*. **54**: 526 – 35, 1991.

LaBar, K., LeDoux, J., Spencer, D., Phelps, E.A. Impaired fear conditioning following unilateral temporal lobectomy in humans. *J Neurosci*. **15**: 6846 – 6855, 1995.

Laine, L., Smith, R., Min, K., Chen, C., Dubois, R. Systematic review: the lower gastrointestinal adverse effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Aliment Pharmacol Ther*. **24**: 751 – 767, 2006.

Lambert, R. C., Dayanithi, G., Moos, F. C., Richard, P. A rise in the intracellular Ca2+ concentration of isolated rat supraoptic cells in response to oxytocin. *J Physiol.* **478**: 275 - 287, 1994.

Landgraf, R. Plasma oxytocin concentrations in man after different routes of administration of synthetic oxytocin. *Exp. Clin. Endocrinol*. **85**: 245 – 248, 1985.

Lee, H. J., Macbeth, A. H., Pagani, J., Young, W. S. Oxytocin: the great facilitator of life. *Prog. Neurobiol*. **88**: 127 – 151, 2009.

Lee, S.-Y., Park, S. –H., Chung, C., Kim, J. J., Choi, S. Y., Han, J. S. Oxytocin Protects Hippocampal Memory and Plasticity from Uncontrollable Stress. *Sci. Rep*. **5:** 18540, 2015.

Lent, R. **Cem Bilhões de neurônios?** Conceitos Fundamentais de Neurociência. 2ª Edição. Rio de Janeiro: Atheneu, 2010.

Lindblom, U., Verrillo, R. T. Sensory functions in chronic neuralgia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. **42**: 422 – 435, 1979.

Lombroso, P. Aprendizagem e memória. *Rev Bras de Psiquiat*. **26**: 207 – 210, 2004.

Loup, F., Tribollet, E., Dubois-Dauphin, M., Dreifuss, J. J. Localization of high-affinity binding sites for oxytocin and vasopressin in the human brain. An autoradiographic study. *Brain Res*. **555**: 220 – 232, 1991.

Louvel, D., Delvaux, M., Felez, A., Fioramonti, J., Bueno, L., Lazorthes, Y., Frexinos, J. Oxytocin increases thresholds of colonic visceral perception in patients with irritable bowel syndrome. *Gut*. **39**: 741-747, 1996.

Ludwig, M., Leng, G. Dendritic peptide release and peptide-dependent behaviours. *Nat Rev Neurosci*. **2**:126 – 236, 2006.

Matthiesen, A.S., Ransjö-Arvidson, A.B., Nissen, E., Uvnäs-Moberg, K. Postpartum maternal oxytocin release by newborns: effects of infant hand massage and sucking. *Birth*. **28** (1): 13 - 19, 2001.

Mazzuca, M., Minlebaev, M., Shakirzyanova, A., Tyzio, R., Taccola, G., Janackova, S., Gataullina, S., Ben-Aril., Y. Giniatullin, R., Khazipov, R. Newborn analgesia mediated by oxytocin during delivery. *Front in Cell Neurosci*. **5** (3): 1 - 9, 2011.

McGlone, F. Wessberg, J., Olausson, H. Discriminative and Affective Touch: Sensing and Feeling. *Neuron*. **82**: 737 – 755, 2014.

Meddle, S. L., Leng, G., Selvarajah, J. R., Bicknell, R. J., Russell, J. A. Direct pathways to the supraoptic nucleus from the brainstem and the main olfactory bulb are activated at parturition in the rat. *Neuroscience*. **101**: 1013 - 1021, 2000.

Moos, F., Gouzènes, L., Brown, D., Dayanithi, G., Sabatier, N., Boissin, L., Rabié, A., Richard, P. New aspects of firing pattern autocontrol in oxytocin and vasopressin neurones. *Adv Exp Med Biol*. **449**: 153 - 62, 1998.

Morhenn, V.B., Haider, L.E.B., Zak, P.J. Massage Increases Oxytocin and Reduces Adrenocorticotropin Hormone in Humans. *Alternative Therapies*. **18** (6): 11 – 18, 2012.

Mühlethaler, M., Charpak, S., Dreifuss, J. J. Contrasting effects of neurohypophysial peptides on pyramidal and non-pyramidal neurones in the rat hippocampus. *Brain Res*. **308**: 97 – 107, 1984.

Nahas, T., Xavier, G. Neurobiologia da atenção visual. In: Andrade, V., Santos, F., Bueno, O. Neuropsicologia hoje. São Paulo: Artes Médicas, 2004.

Neumann, I. D., Maloumby, R., Beiderbeck, D. I., Lukas, M., Landgraf, R. Increased brain and plasma oxytocin after nasal and peripheral administration in rats and mice. *Psychoneuroendocrinology*, **38**: 1985 – 1993, 2013.

Okabe, S., Yoshida, M., Takayanagi, Y., Onaka, T. Activation of hypothalamic oxytocin neurons following tactile stimuli in rats. *Neuroscience Letters*. **600**: 22 – 27, 2015.

Olff, M., Frijling, J.L., Kubzansky, L.D., Bradley, B., Ellenbogen, M.A., Cardoso, C., Bartz, J.A., Yee, J.R., van Zuiden, M. The role of oxytocin in social bonding, stress regulation and mental health: an update on the moderating effects of context and interindividual differences. *Psychoneuroendocrinology*. **38** (9): 1883 - 1894, 2013.

Petrovic, P., Kalisch, R., Singer, T., Dolan, R. J. Oxytocin Attenuates Affective Evaluations of Conditioned Faces and Amygdala Activity. *The Jour of Neurosci*. **28** (26): 6607–6615, 2008.

Pimenta, C., Teixeira, M. J. Questionário de dor McGill: proposta de adaptação para a língua portuguesa. *Rev. Esc. Enf. USP***. 30**: 473 – 483, 1996.

Puts, N.A., Wodka, E.L., Tommerdahl, M., Mostofsky, S.H., Edden, R.A. Impaired tactile processing in children with Autism Spectrum Disorder. *J Neurophysiol*. **111** (9): 1803 – 1811, 2014.

Quintana, D. S., Alvares, G. A., Hickie, I. B., Guastella, A. J. Do delivery routes of intranasally administered oxytocin account for observed effects on social cognition and behavior? A two-level model. *Neurosci. Biobehav. Reviews.***49***:* 182 – 192, 2015.

Raggenbass, M., Dreifuss, J. J. Mechanism of action of oxytocin in rat vagal neurones: induction of a sustained sodium-dependent current. *J Physiol*. **457**: 131– 142, 1992.

Rash, J. A., Campbell, T. S. The effect of intranasal oxytocin administration on acute cold pressor pain: a placebo-controlled, doubleblind, within-subjects crossover investigation. *Psychosom Med.* **76**: 422 - 429, 2014.

Rolke, R., Baron, R., Maier, C., et al. Quantitative sensory testing in the German Research Network on Neuropathic Pain (DFNS): standardized protocol and reference values. *Pain*. **123**: 231 – 43, 2006.

Rommel, O., Malin, J-P., Zenz, M., Jänig, W. Quantitative sensory testing, neurophysiological and psychological examination in patients with complex regional pain syndrome and hemisensory deficits. *Pain*. **93**: 279 – 293, 2001.

Rosenfeld, A.J., Lieberman, J.A., Jarskog, L.F. Oxytocin, dopamine, and the amygdala: A neurofunctional model of social cognitive deficits in schizophrenia. *Schizophr Bull*. **37**: 1077 – 1087, 2011.

Samuelsson, M., Leffler, A. S., Hansson, P. Dynamic mechanical allodynia: on the relationship between temporo-spatial stimulus parameters and evoked pain in patients with peripheral neuropathy. *Pain*. **115**: 264 – 272, 2005.

Savaskan, E., Ehrhardt, R., Schulz, A., Walter, M., Schachinger, H. Post-learning intranasal oxytocin modulates human memory for facial identity. *Psychoneuroendocrinology*. **33**: 368 – 374, 2008.

Scoville, W., Milner, B. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurochem*. **20**: 11 – 21, 1957.

Shahrokh, D.K., Zhang, T.Y., Diorio, J., Gratton, A., Meaney, M.J. Oxytocin-dopamine interactions mediate variations in maternal behavior in the rat. *Endocrinology*. **151**: 2276 – 2286, 2010.

Shamay-Tsoory, S.G., Abu-Akel, A. The Social Salience Hypothesis of Oxytocin. *Biological Psychiatry*. **79**: 194 – 202, 2016.

Simons, L., Moulton, E. A., Linnman, C., Carpino, E., Becerra, L., Borsook, D. The Human Amygdala and Pain: Evidence from Neuroimaging. *Hum Brain Mapp*. **35** (2): 527 – 538, 2014.

Singer, T., Snozzi, R., Petrovic, P., Bird, G., Silani, G., Heinrichs, M., Dolan, R. J. Effects of Oxytocin and Prosocial Behavior on Brain Responses to Direct and Vicariously Experienced Pain. *Amer Psychol Assoc.* **8** (6): 781 – 791, 2008.

Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor. Hospital sem dor diretrizes para implantação da dor como 5º sinal vital. Disponível em <http://www.dor.org.br/profissionais/5_sinal_vital.asp> Acesso em 15 de janeiro de 2013.

Sostres, C., Gargallo, C. J., Arroyo, M. T., Lanas, A. Adverse effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs, aspirin and coxibs) on upper gastrointestinal tract. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* **24**: 121 – 132, 2010.

Sousa, F. A. E. F. Dor: o quinto sinal vital. *Rev Latino-am Enfermagem*. **10** (3): 446- 447, 2002.

Squire, L.R. Memory and the hippocampus: a syntesis from findings with rats, monkes and humans. *Psychological Review*. **99**: 195 – 231, 1992.

Squire, L.R. Memory systems of the brain: A brief history and current perspective. *Neurobiol Learn Mem*. **82**: 171 – 177, 2004.

Stoop, R. Neuromodulation by oxytocin and vasopressin. *Neuron*. **76**: 142 – 159, 2012.

Striepens, N., Kendrick, K. M., Hanking, V., Landgraf, R., Wüllner, U., Maier, W., Hurlemann, R. Elevated cerebrospinal fluid and blood concentrations of oxytocin following its intranasal administration in humans. *Sci Rep*.**3** (3440): 1 – 5, 2013.

Sydney, P. B. H., Conti, P. C. R. Diretrizes para avaliação somatossensorial em pacientes portadores de disfunção temporomandibular e dor orofacial. *Rev. Dor*. **12** (4): 349 – 353, 2011.

Theodosis, D.T., Trailin, A., Poulain, D.A. Remodeling of astrocytes, a prerequisite for synapse turnover in the adult brain? Insights from the oxytocin system of the hypothalamus. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. **290**: 1175 - 1182, 2006.

Thorne, R. G., Pronk, G. J., Padmanabhan, V., Frey, I. W. H. Delivery of insulin-like growth factor-I to the rat brain and spinal cord along olfactory and trigeminal pathways following intranasal administration. *Neuroscience.* **127**: 481 – 496, 2004.

Tomizawa, K., Iga, N., Lu, Y.F., Moriwaki, A., Matsushita, M., Li, S.T., Miyamoto, O., Itano, T., Matsui, H. Oxytocin improves long-lasting spatial memory during motherhood through MAP kinase cascade. *Nat Neurosci*. **6**: 384 - 390, 2003.

Tops, M., van IJzendoorn, M.H., Riem, M.M.E., Boksem, M.A.S, Bakermans-Kranenburg, M.J. Oxytocin Receptor Gene Associated with the Efficiency of Social Auditory Processing. *Frente Psychiatry* . **2**: 60, 2011.

Uvnäs-Moberg, k., Alster, P., Petersson, M., Sohlström, A., Björkstrand, E. Postnatal Oxytocin Injections Cause Sustained Weight Gain and Increased Nociceptive Thresholds in Male and Female Rats. *Pediatr Res.* **43** (3): 344 - 348, 1997.

Uvnäs-Moberg, k., Bruzelius, G., Alster P., Bileviciute, I., Lundeberg, T. Oxytocin increases and a specific oxytocin antagonist decreases pain threshold in male rats. *Acta Phisiol Scand*. **144**: 487- 488, 1992.

Uvnäs-Moberg, K., Handlin, L., Petersson, M. Self-soothing behaviors with particular reference to oxytocin release induced by non-noxious sensory stimulation. *Front in Psychol*. **5** (1529) 1 - 16, 2015.

Uvnäs-Moberg, K. Oxytocin may mediate the benefits of positive social interaction and emotions. *Psychoneuroendocrinology*. **23**: 819 – 835, 1998.

Van Ijzendoorn, M. H., Bhandari, R., Van der Veen, R., Grewen, K. M., Bakermans - Kranenburg, M. J. Elevated salivary levels of oxytocin persist more than 7h after intranasal administration. *Front. Neurosci*. **6:** (174), 1 – 6, 2012.

Vandesande, F., Dierick, K. Identification of vasopressin producing and of the oxytocin producing neurons in the hypothalamic magnocellular neurosecretory system of the rat. *Cell Tissue Res*. **164**: 163 – 162, 1975.

Varoli, F. K., Pedrazzi, V. Adapted Version of the McGill Pain Questionnaire to Brazilian Portuguese. *Braz Dent J*. **17** (4): 328 - 335, 2006.

Viero, C., Shibuya, I., Kitamura, N., Verkhratsky, A., Fujihara, H., Katoh, A., Ueta, Y.,Zingg, H.H., Chvatal, A., Sykova, E., Dayanithi, G. Oxytocin: crossing the bridge between basic science and pharmacotherapy. *Neurosci and Therap*, **16**: 138 – 156, 2010.

Vining, R. F., McGinley, R. A., Symons, R. G. Hormones in saliva: mode of entry and consequent implications for clinical interpretation. *Clin Chem*. **29**: 1752 - 1758, 1983.

Viviani, D., Charlet, A., Van Den Burg, E., Robinet, C., Hurni, N., Abatis, M., Magara, F., Stoop, R.. Oxytocin selectively gates fear responses through distinct outputs from the central amygdala. *Science*. **333**: 104 –107, 2011.

Vries, G. J., Buijs, R. M. The origin of the vasopressinergic and oxytocinergic innervation of the rat brain with special reference to the lateral septum. *Brain Res*. **273** (2): 307 – 317, 1983.

Wang Y.L., Yuan, Y., Yang, J., Wang, C.H., Pan, Y.J., Lu, L., Wu, Y.Q., Wang, D.X., Lv, L.X., Li, R.R., Xue, L., Wang, X.H., Bi, J.W., Liu, X.F., Qian, Y.N., Deng, Z.K., Zhang, Z.J., Zhai, X.H., Zhou, X.J., Wang, G.L., Zhai, J.X., Liu, W.Y. The interaction between the oxytocin and pain modulation in headache patients. *Neuropeptides*, **47**: 93 - 97, 2013.

Weller, R., Galea, I., Carare, R., Minagar, A. Pathophysiology of the lymphatic drainage of the central nervous system: implications for pathogenesis and therapy of multiple sclerosis. *Pathophysiology*. **17**: 295 – 306, 2010.

Wolburg, H., Wolburg-Buchholz, K., Sam, H., Horvát, S., Deli, M. A., Mack, A. F. Epithelial and endothelial barriers in the olfactory region of the nasal cavity of the rat. *Histochem Cell Biol*. **130**: 12 – 140, 2008.

Yamashita, H., Okuya, S., Inenaga, K., Kasai, M., Uesugi, S., Kannan, H., Kaneko, T. Oxytocin predominantly excites putative oxytocin neurons in the rat supraoptic nucleus in vitro. *Brain Res.* **416**: 364 – 8, 1987.

Yang, J. Intratecal administration of oxytocin induces analgesia in low back pain involving the endogenous opiate peptides system. *Spine*. **9**: 867 – 871, 1994.

Yang, J., Yang, Y., Chen, J.M., Liu, W.Y., Wang, C.H., Lin, B.C. Central oxytocin enhances antinociception in the rat. *Peptides*. **28**: 1113 – 1119, 2007.

Yang, J., Li, P., Liang, J.Y., Pan, Y. J., Yan, X.Q., Yan F.L., Hao, F., Zhang, X.Y., Zhang, J., Qiu, P.Y., Wang, D.X. Oxytocin in the periaquedutal grey regulates nociception in the rat. *Peptides*. **169**: 39 – 42, 2011a.

Yang, J., Liang, J.Y., Li, P., Pan, Y.J., Qiu, P.Y., Zhang, J., Hao, F., Wang, D.X. Oxytocin in the periaqueductal gray participates in pain modulation in the rat by influencing endogenous opiate peptides. *Peptides*. **32**: 1255 - 1261, 2011b.

Yang, J., Pan, Y.J., Zhao, Y., Qiu, P.Y., Lu, L., Li, P., Chen, F., Yan, X.Q., Wang, D.X. Oxytocin in the rat caudate nucleus influences pain modulation. *Peptides*. **32**: 2104 - 2107, 2011c.

Yang, J., Liang, J.Y., Zhang, X.Y., Qiu, P.Y., Pan, Y.J., Li, P., Zhang, J., Hao, F., Wang, D.X., Yan, F.L. Oxytocin, but not arginine vasopressin is involving in the antinociceptiva role of hypothalamic supraoptic nucleus. *Peptides*. **32**: 1042 - 1046, 2011d.

Zunhammer, M., Geis, S., Busch, V., Greenlee, M. W., Eichhammer, P. Effects of Intranasal Oxytocin on Thermal Pain in Healthy Men: A Randomized Functional Magnetic Resonance Imaging Study. *Psychos Med*. **77**: 156 - 166, 2015.

8. ANEXOS

Anexo I

Questionário de Avaliação Geral

Estudo dos efeitos centrais da Ocitocina sobre a percepção e a memória da dor

Nome:_____ Idade:_____

Telefone: ( ) _____ e-mail: _____

Você possui algum problema de saúde ( ) Sim ( ) Não

Se sim, qual? _____

Você possui alguma doença, ou faz algum acompanhamento neurológico ou psiquiátrico? ( ) Sim ( ) Não

Se sim, qual? _____

Faz uso de rotina de algum medicamento? ( ) Sim ( ) Não

Se sim, qual? _____

Fuma? ( ) Sim ( ) Não Se sim, quantos cigarros por dia? _____

Faz uso de álcool? ( ) Não ( ) raramente ( ) em poucas ocasiões ( ) todos finais de semana ( ) todos os dias

Faz uso de algum tipo de droga ilícita? ( ) Sim ( ) Não

Se sim, qual droga?_____ Com qual frequência?_____

São Paulo, _____de_____de 201__.

Assinatura do voluntário:_____

Anexo II

Protocolo Experimental

Estudo dos efeitos centrais da Ocitocina sobre o limiar e a memória da dor

Nome:_____ Idade:_____

Nº do estudo:_____Grupo no estudo: O ( ) P ( ) Telefone ( )_____

Data avaliação:_____/_____/_____

Primeiro QST (antes da administração de ocitocina / placebo)

TESTE 1	Resultados
Limiar detecção ao frio (Média)	ºC
Limiar detecção ao quente (Média)	ºC
Limiar de dor ao frio (Média)	ºC
Limiar de dor ao quente (Média)	ºC
SUPRA limiar de dor ao quente	(EVA)
	(EVA)
SUPRA limiar de dor ao frio	(EVA)
	(EVA)
Limiar detecção mecânico (Média)	mN
Limiar doloroso mecânico (Média)	mN
SUPRA limiar de dor mecânica (+ 4 filamentos) (1x)	(EVA)

Segundo QST (após 45 minutos da administração de ocitocina / placebo)

TESTE 2	Resultados
Limiar detecção ao frio (Média)	ºC
Limiar detecção ao quente (Média)	ºC
Limiar de dor ao frio (Média)	ºC
Limiar de dor ao quente (Média)	ºC
SUPRA limiar de dor ao quente	(EVA)
	(EVA)
SUPRA limiar de dor ao frio	(EVA)
	(EVA)
Limiar detecção mecânico (Média)	mN
Limiar doloroso mecânico (Média)	mN
SUPRA limiar de dor mecânica (+ 4 filamentos) (1x)	(EVA)