ERICH TALAMONI FONOFF

**Efeitos da estimulação elétrica do córtex motor
na modulação da dor: análise comportamental e
eletrofisiológica em ratos**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Área de concentração: Neurologia

Orientador: Prof. Dr. Manoel Jacobsen Teixeira

São Paulo

2007

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Fonoff, Erich Talamoni

Efeitos da estimulação elétrica do córtex motor na modulação da dor : análise comportamental e eletrofisiológica em ratos / Erich Talamoni Fonoff. -- São Paulo, 2007.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Departamento de Neurologia.

Área de concentração: Neurologia.

Orientador: Manoel Jacobsen Teixeira.

Descritores: 1.Dor 2.Córtex motor/fisiologia 3.Tálamo 4.Estimulação elétrica
5.Comportamento 6.Potenciais de ação 7.Neurônios 8.Modelos animais

USP/FM/SBD-298/07

À Fernanda e ao Pedro

Pelo amor, generosidade e
prazerosas conversas sobre
ciência e cultura.

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. Manoel Jacobsen Teixeira pelos ensinamentos em vários ramos da ciência e da medicina principalmente em neurocirurgia funcional, a quem devo agradecimentos pelo respeito mútuo, profissionalismo, orientação e apoio irrestrito em projetos no passado, hoje e futuras realizações.
- Ao Prof. Dr. César Timo-laria (*in memoriam*) a quem devo o direcionamento inicial dos meus estudos em neurofisiologia e sobretudo quem enunciou muitos dos conceitos e hipóteses que motivaram a realização deste trabalho.
- Ao Prof. Dr. Milberto Scaff pelos fundamentos semiológicos neurológicos fundamentais à formação dos alunos do Departamento de Neurologia.
- Ao Dr. Gerson Ballester, quem acompanhou minha trajetória desde a iniciação científica nos primeiros anos da graduação, pela amizade e co-orientação contínua nos estudos e desenvolvimentos de hipóteses e teorias em vários ramos da ciência, além de sua preocupação humanitária com os semelhantes.
- Ao Prof. Dr. Gerson Chadi, Prof. Dr. Paulo Marchiori e Dra. Lin Tchia Yeng pelos comentários e sugestões na apresentação à banca de qualificação que fizeram aperfeiçoar este trabalho.

- Aos dirigentes e pesquisadores do Instituto Butantã que nos possibilitaram condições para que este trabalho se tornasse uma realidade.
- À Dra. Renata Giorgi, Dra. Rosana Lima Pagano, Dra. Camila Squarizoni Dale e pós-graduanda Carina Cicconi Paccola que participaram continuamente da elaboração, desenvolvimento experimental e realização dos protocolos de avaliação comportamental fundamentais para grande parte das conclusões deste trabalho; quem me acompanham como co-autores nos artigos e prêmios acumulados com esta colaboração.
- Aos Dirigentes, funcionários e pesquisadores do Instituto de Ensino e Pesquisa do Hospital Sírio-Libanês, instituição que contribuiu com recursos e instalações laboratoriais para realização de grande parte deste trabalho; em especial ao Dr. Roberto Padilha diretor do IEP-HSL, Dr. João Valverde Filho responsável pela anestesiologia do grupo de dor do HSL, Dra. Flávia Coelho, Lucimar e Lucas pelo auxílio diário no laboratório.
- Às bibliotecárias e secretárias Rita Ortega, Corina, Alair e Alessandra por facilitar o acesso às publicações e auxílio de bibliografia e correção de texto.
- Aos amigos Eng. Ricardo Bonifácio, Dr. Jose Francisco Pereira e Dr. Leonardo Camargo pelo auxílio em fases cruciais do desenvolvimento experimental e de análise de resultados dos registros neuronais que refinaram as conclusões deste trabalho.

- Aos funcionários e colaboradores do Departamento de Neurologia, Divisão de Clínica Neurológica e Divisão de Neurocirurgia do Instituto Central e Divisão Neurocirurgia do Funcional do Instituto de Psiquiatria do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
- À minha estimada família, Vanderlei, Maria Eli, Giuliana, Filipe e Nádia, pelos sinceros amor, carinho e valiosa experiência de união familiar.
- À Deus...

“The intellectual instinct is the one that makes us search while knowing that we are never going to find the answer. I think Lessing said that if God were to declare that in His right hand He had the truth and in His left hand He had the investigation of the truth, Lessing¹ would ask God to open His left hand; he would want God to give him the investigation of the truth, not the truth itself. Of course he would want that, because the investigation permits infinite hypotheses, and the truth is only one, and that does not suit the intellect, because the intellect needs curiosity.”

Jorge Luis Borges (The New York Times Book Review, 13 July 1986, p. 27-29).

¹ **Gotthold Ephraim Lessing** (22-01-1729 – 15-02-1781) foi um escritor alemão, filósofo, jornalista e crítico de arte e um dos mais destacados representantes do iluminismo europeu.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas

Lista de siglas

Lista de símbolos

Lista de tabelas

Lista de gráficos

Lista de figuras

Resumo

Summary

INTRODUÇÃO 1

OBJETIVOS 6

REVISÃO DE LITERATURA..... 8

 Transdução e transmissão da dor 9

 Mecanismo de modulação da dor 42

MÉTODO 59

RESULTADOS 73

 Mapeamento cortical 74

 Limiar motor 78

 Efeito comportamental da estimulação cortical..... 79

 Registro da atividade neuronal..... 90

DISCUSSÃO 105

CONCLUSÕES 118

REFERÊNCIAS..... 120

Esta tese está de acordo com:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertação, tese e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2004.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

LISTA DE ABREVIATURAS

ACPD	aminociclopentano-1
AMP	adenosina monofosfato
AMPA	ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilisoxazol-4-propiónico
AMPc	adenosina monofosfato-cíclica
ANOVA	análise de variância
ATP	adenosina trifosfato
COVL	córtex orbital ventrolateral
CPME	substância cinzenta do corno posterior da medula espinal
CM	núcleo centro mediano
DAG	diacil-glicerol
ECM	estimulação do córtex motor
E.P.M.	erro padrão da média
GABA	ácido gama-aminobutírico
IL	interleucina
MI	córtex motor primário
n	número de indivíduos
Nadr	noradrenalina
NMDA	N-metil-D-aspartato
NO	óxido nítrico
NOS	óxido nítrico sintetase
NPY	neuropeptídeo Y
SPM	substância cinzenta periaquedutal mesencefálico

PD	pata direita
PE	pata esquerda
PGs	prostaglandina
PGE₂	prostaglandina E ₂
PGRC	peptídeo geneticamente relacionado à calcitonina
PKC	proteína-cinase C
PVI	peptídeo vasoativo intestinal
RNA	ácido ribonucléico
SI	córtex sensitivo primário
SII	córtex sensitivo secundário
SNC	sistema nervoso central
SNP	sistema nervoso periférico
SP	substância P
TPI₃	trifosfato de inositol
VPL	núcleo talâmico ventral pósterio-lateral
VPM	núcleo talâmico ventral pósterio-medial

LISTA DE SIGLAS

FMUSP Faculdade de Medicina da Universidade São Paulo

LISTA DE SÍMBOLOS

Ca^{++}	cálcio iônico
Mg^{++}	magnésio iônico
Na^{+}	sódio
K^{+}	potássio
Hz	Hertz
V	Volt
W	Watt
g	grama
kg	quilograma
mm	milímetro
ml	mililitro
ms	milisegundo
mA	miliampere
μs	microssegundo
μg	micrograma
μA	microampere
μl	microlitro
$\text{m}\Omega$	miliohm
$\text{k}\Omega$	quiloohm
s	segundo
p	probabilidade

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Coordenadas estereotáxicas.....	69
Tabela 2.	Limiar nociceptivo em gramas (g) de pressão no teste plantar antes e durante a estimulação do córtex motor direito.	80
Tabela 3.	Limiar nociceptivo em gramas (g) de pressão no teste plantar antes e durante a estimulação do córtex motor esquerdo.	82
Tabela 4.	Efeito da estimulação cortical na atividade neuronal da substância periaquedutal mesencefálica.....	93
Tabela 5.	Atividade neuronal nos núcleos centromediano do tálamo (em Hz) a antes, durante e após a estimulação cortical. Houve diferenças estatisticamente significativas entre os valores em relação ao período precedente à estimulação.....	98
Tabela 6.	Atividades neuronal do núcleo ventral pósterolateral do tálamo antes, durante e após estimulação do córtex motor ipsi e contralateral.....	101

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1.	Mapa funcional motor probabilístico tridimensional.	77
Gráfico 2.	Limiares motores para as patas posteriores.	78
Gráfico 3.	Limiares nociceptivos em gramas (g) em animais operados sem estimulação.	79
Gráfico 4A.	Limiares nociceptivos de teste de pressão plantar em animais submetidos a implante cortical à direita.	81
Gráfico 4B.	Limiares nociceptivos em gramas (g) de teste de pressão plantar em animais submetidos a implante cortical à esquerda.	82
Gráfico 5.	Limiares nociceptivos de teste de pressão plantar em animais submetidos a implante cortical à esquerda.	83
Gráfico 6.	Limiares nociceptivos de teste de pressão plantar em animais submetidos a implante no córtex parietal posterior.	84
Gráfico 7.	Limiares nociceptivos de teste de pressão plantar em animais submetidos a implante no córtex sensitivo.	85
Gráfico 8.	Latência da retirada da cauda em animais submetido a implante no córtex sensitivo.	85
Gráfico 9.	Número de contagens de eventos no teste de campo aberto de animais com implante no córtex motor.	86
Gráfico 10.	Latência para a retirada da cauda em animais submetidos a implante no córtex motor.	87
Gráfico 11A.	Limiares nociceptivos de teste de pressão plantar em animais submetidos a implante no córtex motor 30 min após injeção de naloxona na pata contralateral à estimulação.	88
Gráfico 11B.	Limiares nociceptivos de teste de pressão plantar em animais submetidos a implante no córtex motor 30 min após injeção de naloxona na pata ipsilateral à estimulação.	89
Gráfico 12.	Representação gráfica de frequência dos potenciais de ação antes, durante e após a estimulação elétrica do córtex motor ipsilateral na atividade neuronal da substância periaquedutal mesencefálica.	93
Gráfico 13.	Representação gráfica das frequências dos potenciais de ação nos neurônios antes, durante e após a estimulação contralateral do córtex motor na atividade neuronal da substância cinzenta periaquedutal mesencefálica.	96
Gráfico 14.	Representação gráfica das frequências (em Hz) dos potenciais de ação nos neurônios do núcleo centromediano do tálamo antes, durante e após o efeito da estimulação do córtex motor ipsilateral na atividade neuronal do núcleo.	99
Gráfico 15.	Representação gráfica das frequências (em Hz) dos potenciais de ação nos neurônios do núcleo centromediano do tálamo antes, durante e após estimulação do córtex motor contralateral.	100

Gráfico 16. Representação gráfica das frequências (em Hz) dos potenciais de ação nas unidades dos neurônios do núcleo ventral pósterio-lateral do tálamo antes, durante e após estimulação do córtex motor ipsilateral na atividade neuronal.....	102
Gráfico 17. Apresentação gráfica das frequências (em Hz) dos potenciais de ação dos neurônios do núcleo ventral pósterio-lateral do tálamo antes, durante e após a estimulação do córtex motor contralateral.	103

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Procedimento de mapeamento do córtex cerebral	62
Figura 2.	Testes de avaliação comportamental.....	67
Figura 3.	Individualização de unidades neuronais baseado em análise de <i>wavelet</i>	70
Figura 4.	Mapa funcional da área motora do rato Wistar.	75
Figura 5.	Representação matricial do mapa funcional cortical motor.	76
Figura 6.	Resposta neuronal à estimulação do córtex motor na substância periaquedutal mesencefálica.....	92
Figura 7.	Análise <i>wavelet</i> em segmento de registro multiunitário substância cinzenta periaquedutal mesencefálica.....	94
Figura 8.	Análise <i>wavelet</i> em segmento de registro multiunitário substância cinzenta periaquedutal mesencefálica.....	95
Figura 9.	Localização dos pontos de registro no mesencéfalo.	97
Figura 10.	Localização dos pontos de registro no tálamo	104

RESUMO

Fonoff ET. Efeitos da estimulação elétrica do córtex motor na modulação da dor: análise comportamental e eletrofisiológica em ratos.[tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2007. 140p.

Introdução. Nos últimos a função motora vem sendo associada com a atenuação sensitiva e de dor, logo antes, durante e após a contração muscular. No entanto as vias anatômicas e funcionais deste fenômeno não são conhecidas. O objetivo deste estudo é o de criar um modelo animal e investigar o efeito da estimulação subliminar do córtex motor (ECM) no limiar nociceptivo e na atividade neuronal subcortical. **Método.** O limiar nociceptivo foi avaliado por teste plantar e reflexo de retirada da cauda antes e após o implante dos eletródios epidurais sobre o córtex motor da pata posterior orientado por mapa funcional na mesma cepa de ratos. Os mesmos testes foram repetidos antes, durante e após a ECM. Antagonismo sistêmico do por naloxona foi incluído neste protocolo para investigar a relação com mediação opióide. O registro neuronal multiunitário do núcleo centro mediano (CM) e ventral posterolateral (VPL) do tálamo e da substância periaqueductal (SPM) foi realizado antes, durante e após ECM ipso e contralateral. **Resultados.** O implante per se não causou alterações no limiar nociceptivo. ECM induziu significativa antinocicepção seletiva na pata contralateral mas não na ipsilateral. Este efeito não mais foi observado 15 minutos após o término da estimulação. Nenhuma alteração motora e comportamental foi observada nos testes de campo aberto. A mesma estimulação no córtex sensitivo e parietal posterior não causou quaisquer alterações de limiar nociceptivo. Administração sistêmica de naloxone reverteu completamente o efeito antes observado com a ECM. O registro neuronal multiunitário evidenciou diminuição na atividade do CM durante e após a ECM contra e ipsilateral. O ritmo de disparos neuronais no VPL também mostrou diminuição apenas com a ECM ipsilateral. No entanto os neurônios da SPM aumentaram significativamente a frequência de disparos com ECM ipsilateral e não com a contralateral. **Conclusão.** A ECM subliminar está relacionada consistentemente com a atenuação sensitiva durante o comportamento, provavelmente mediado por inibição talâmica e ativação da SPM.

Descritores. Dor; Córtex motor/fisiologia; Tálamo; Estimulação elétrica; Comportamento; Potenciais de ação; Neurônios; Modelos animais.

SUMMARY

Fonoff ET. Effects of electrical stimulation of motor cortex on pain modulation: behavior and electrophysiological study in rats. [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2007. 140p.

Background. The motor function has been associated to sensory and pain attenuation, before during and shortly after the muscle activity. However the anatomical and functional basis of this phenomenon is not yet defined. The present study was designed to set an animal model and investigate the effect of subthreshold electrical stimulation of motor cortex (MCS) on pain threshold and neuron activity of thalamus and periaqueductal gray. **Method.** Nociceptive thresholds of hind paws and the tail flick reflex were evaluated before and after surgical placement of epidural electrodes; before during and after electrical stimulation of motor cortex. Opioid antagonism was also included in this protocol in order to define neurotransmitter mediation of this process. Multiunit recording of thalamic median center (CM) and ventral posterolateral nuclei (VPL) and lateral periaqueductal gray (SPM) were performed before and after electrical stimulation of ipso and contralateral motor cortex. **Results.** The procedure itself did not induce any threshold changes. MCS induced selective antinociception of contralateral paw, but no changes were detected in the nociceptive threshold of the ipsilateral side. This effect disappeared completely 15 minutes after the stimulation was ceased. No behavioral or motor impairment were observed during and after the stimulation session in the open field test. The same stimulation on sensory and posterior parietal cortex did not elicit any changes in behavioral and nociceptive tests. Systemic administration of naloxone completely reversed the previous observed antinociceptive effect. Multiunit recording evidenced decrease in spontaneous neuron firing in CM with short recovery time during ipso and contralateral MCS. Neuron activity in VPL was also significantly decreased during ipsilateral MCS but not with contralateral stimulation. However, neuron firing in SPM was significantly increased during and long after ipsilateral MCS but not with contralateral stimulation. **Conclusion.** Subthreshold MCS is consistently related to sensory attenuation during behavior, probably through thalamic inhibition and SPM activation.

Keywords. Pain; Motor cortex/physiology; Thalamus; Electrical Stimulation; Behavior; Action potentials; neurons; animal models.

INTRODUÇÃO

A dor é fenômeno que ocorre quase que universalmente no ser humano. Remete, de modo consensual, à sensação desagradável, embora sua interpretação seja subjetiva e varie conforme o indivíduo, ou mesmo conforme a situação vivida por um mesmo indivíduo em momentos diferentes. Há proporcionalidade entre a intensidade do estímulo nociceptivo e a sensação de dor induzida apenas em algumas raras situações idealmente controladas (*i.e.* experimentos laboratoriais). O mesmo estímulo pode, portanto, evocar sensações com intensidades diferentes e reações comportamentais diversas. Deste modo, a dor, como as demais sensações conscientes, é a imagem, a representação neural da estimulação nociceptiva gerada no meio exterior ou resultado das anormalidades funcionais ou estruturais do sistema nervoso. Sua representação é sujeita a interferências de natureza constitucional, etária, sexual, cognitiva e situacional, dentre outras, e sofre variações episódicas, mesmo que momentâneas, dos sistemas de reconhecimento e de modulação próprios do sistema nervoso. Os conceitos mais elaborados sobre modulação das sensibilidades foram fundamentados inicialmente em estudos experimentais que culminaram com a elaboração de teorias sobre a interação sensitiva e sobre as inibições segmentar e suprasegmentar da dor. A substância cinzenta periaquedutal mesencefálica é considerada uma das estruturas mais importantes do chamado sistema rostrocaudal inibidor da dor. Sua atividade é mediada principalmente por neurotransmissores opióides endógenos e envolve os núcleos que originam tratos de projeção rostrocaudais na ponte e no bulbo ventromedial que, por sua vez, inibem a transmissão das informações

nociceptivas no corno posterior da substância cinzenta da medula espinhal e no complexo nuclear do sistema trigeminal. Apesar de a substância cinzenta periaquedutal mesencefálica receber projeções de grande número de estruturas craniais, a relação entre estas e a modulação da dor foi pouco investigada. Os estudos melhor elaborados relacionaram manipulações de estruturas límbicas, como a amígdala, o córtex insular, o córtex pré-frontal e o giro do cíngulo e consistiram da indução de antinocicepção em animais de experimentação e ocasionando também alterações comportamentais não apenas relacionadas à inibição da dor.

Especialmente nas últimas décadas observou-se que a função motora é relacionada à inibição de sensações, entre elas a dor. Em voluntários normais evidenciou-se inibição da atividade nociceptiva gerada por estímulos aplicados na superfície cutânea dos membros em movimento imediatamente antes, durante e alguns milissegundos após a atividade muscular. O fato de haver componente supressor da dor que precede e coincide com o período de programação do movimento voluntário sugere que a inibição advém não de sistemas de retro-alimentação periféricos, mas de centros motores suprasegmentares. Investigações mais aprofundadas evidenciaram que este efeito apresentava representação topográfica, ou seja, o membro ou segmento do corpo envolvido no movimento apresenta inibição sensitiva que não é observada quando estão em repouso. Os resultados provenientes de experimentos em voluntários humanos revelaram de modo refinado a consistência de tais eventos. Contudo não esclareceram as possíveis estruturas encefálicas envolvidas no seu processamento.

O córtex motor primário é uma das estruturas que exibem maior discriminação espacial funcional de todo o encéfalo. Origina o componente importante do trato corticoespinal e assim distribui topograficamente o engrama dos movimentos aos motoneurônios do tronco encefálico e da medula espinal. Além da via motora, já bem conhecida, o trato corticoespinal origina colaterais que possibilitariam que o córtex motor primário modificasse a atividade de estruturas não diretamente relacionadas à contração muscular, uma vez que possui conexões com várias outras regiões do córtex cerebral, núcleos da base, tálamo, hipotálamo, substância cinzenta periaquedutal mesencefálica, núcleos pontinos e bulbares e neurônios do corno posterior da substância cinzenta da medula espinal entre outros. Hipoteticamente, durante a programação do movimento em condições normais de fisiologia animal, de forma adjacente ao padrão de acionamento de motoneurônios para a execução dos movimentos, ocorreria ativação de colaterais com inibição sensitiva, incluindo a dor, relacionados diretamente aos segmentos do corpo envolvidos em determinados comportamentos. Deste modo, pode-se postular que a dor poderia ser suprimida para priorizar o desempenho funcional do organismo em questão.

Corroborando esta hipótese, os estudos que consistiram da estimulação elétrica do córtex motor em animais revelaram que há evidente inibição da hiperatividade dos neurônios talâmicos secundário à desaferentação trigeminal. Resultados encorajadores foram observados com a estimulação crônica do córtex motor no tratamento de doentes com dor por desaferentação; os melhores efeitos ocorreram com a estimulação do córtex motor correspondente à representação cortical da região afetada pela dor, o

que denota a possibilidade de haver somatotopia no córtex motor primário relacionada à inibição da dor.

A necessidade de elaborar modelo animal para melhor avaliar os mecanismos e os efeitos analgésicos da estimulação elétrica epidural controlada da área motora primária motivaram a realização do presente trabalho.

OBJETIVOS

1. Desenvolver modelo animal para estudar a fisiologia da estimulação elétrica epidural do córtex motor destinada ao tratamento da dor,

2. Investigar o efeito da estimulação elétrica do córtex motor no limiar nociceptivo e o efeito de bloqueadores opióides por meio de testes comportamentais em animais normais,

3. Investigar o efeito da estimulação elétrica do córtex motor no ritmo de disparos neuronais em núcleos talâmicos e na substância cinzenta periaquedutal do mesencéfalo.

REVISÃO DE LITERATURA

Transdução e transmissão da dor

O primeiro passo na seqüência dos eventos que originam o fenômeno sensitivo-doloroso é a transdução dos estímulos ambientais em potenciais de ação que, das fibras nervosas do sistema nervoso periférico (SNP), são transferidos para o sistema nervoso central (SNC). Os receptores nociceptivos são representados por terminações nervosas livres presentes nas fibras mielínicas finas A- δ e amielínicas C do SNP (Besson e Perl, 1969). No entanto, sabe-se que a estimulação dos aferentes A- β pode também provocar sensação dolorosa quando há sensibilização central (Jensen, 1996). A região terminal do axônio é especializada em transformar eventos físicos e químicos que ocorrem nos tecidos, em potenciais da ação que podem ser interpretados como dolorosos após o processamento das informações no SNC; o processo de transdução de informações é limitado a poucas centenas de micrômetros da terminação axonal, ou seja, nas terminações nervosas livres. O restante da membrana axonal não apresenta propriedades específicas para geração de potenciais repetitivos frente aos estímulos naturais, mas sim para transmitir potenciais de ação. Quando os estímulos são mecânicos, a corrente de geração é devida a fluxo iônico em canais ativados pelo estiramento, presentes praticamente em todos os neurônios e, em especial, nos aferentes nociceptivos (Fang et al., 2005). O mecanismo da transdução térmica ainda não é bem conhecido e, provavelmente, envolve proteínas das membranas ou moléculas efetoras intracelulares com elevado coeficiente de temperatura. A maioria dos

receptores não-algiogênicos dos aferentes C são interorreceptores apropriados para detectar mediadores intrínsecos à inflamação (Kumazava et al., 1987). Os receptores sensitivos podem, portanto, ser classificados como terminações nervosas livres das fibras A- δ e C, terminações nociceptivas sensibilizadas pelo processo inflamatório e, quando há sensibilização central, de terminações dos aferentes A- β de baixo limiar (Levine e Taiwo, 1994; Loewenstein, 1971). Quase todos os nociceptores são ativados pela estimulação mecânica (Campbell et al., 1989). Os nociceptores relacionados às fibras C respondem à estimulação mecânica, térmica e química (Besson e Perl, 1969). Os nociceptores relacionados às fibras A- δ reagem à estimulação mecânica e térmica. Há receptores C ativados pelo frio intenso e não pelo calor e, provavelmente, receptores químicos específicos (La Motte e Campbell, 1978). Cerca de 80% a 90% das fibras nervosas periféricas do grupo C é ativada por receptores polimodais inespecíficos (Price e Dubner, 1977).

Os receptores nociceptivos são sensibilizados pela ação de substâncias químicas, denominadas algiogênicas, presentes no ambiente tecidual (Webster, 1977). Dentre elas, destacam-se a acetilcolina, a bradicinina, a histamina, a serotonina, o leucotrieno, a substância P (SP), o fator de ativação plaquetário, os radicais ácidos, os íons potássio, a acetilcolina, as prostaglandinas (prostaglandina E_2 /PGE $_2$), a tromboxana, as interleucinas (IL1 β , IL6, IL8), o fator de necrose tumoral α , os fatores tróficos e a adenosina monofosfato-cíclica (AMPc) (Bedbrook, 1976; Campbell et al., 1989; Piotrowski e Foreman, 1986). O fato de os

nociceptores serem sensíveis também a grande variedade de outras substâncias, não implica que estas apresentem atividade funcional (Jessell, 1982). As substâncias algio gênicas são liberadas no ambiente tecidual pelos mastócitos e outros leucócitos, vasos sangüíneos e células traumatizadas; são responsáveis pela hiperalgesia termomecânica e pela vasodilatação observada em lesões traumáticas, inflamatórias ou isquêmicas (Basbaum, 1974; Campbell et al., 1989; Nennesmo e Reinholt, 1986). Devido à ação das substâncias algio gênicas durante o processo inflamatório, muitos receptores “silenciosos” em condições normais, especialmente os relacionados com as fibras C, são recrutados. Alterações inflamatórias e imunológicas estão relacionadas à ativação de enzimas proteolíticas e colagenolíticas que causam degradação da matriz tecidual. A liberação tecidual de neuropeptídeos media a degeneração progressiva das unidades funcionais e estimula a síntese de substratos inflamatórios (citocinas, PGE₂) e enzimas degradativas (proteases, collagenases). Como resultado direto e indireto das interações químicas, podem ocorrer alterações secundárias nas propriedades mecânicas dos tecidos que perpetuam o processo degenerativo (Calvino et al., 1987; Meher et al., 1960).

Besson e Perl (1969) observaram que 46% das fibras amielínicas do SNP reage à estimulação mecânica e térmica não-nociva e 54% reage à estimulação mecânica, térmica e ou polimodal. As vias nervosas aferentes primárias têm o corpo celular localizado nos gânglios sensitivos de onde fibras emergem e seguem curso glomerular e dividem-se em ramos proximais e distais. Os proximais agrupam-se em radículas e penetram na medula espinal pelas raízes posteriores (Willis, 1989). Em um ponto situado

aproximadamente um milímetro antes da penetração das radículas na medula espinal, a bainha de mielina produzida pela oligodendroglia junta-se à bainha de mielina produzida pelas células de Schwann (Sindou, 1972). Em animais, há evidências de haver maior concentração de aferentes primários nociceptivos nos contingentes cefálicos que nos caudais das raízes sensitivas (Sindou e Keravel, 1976). No ser humano, tal segregação anatômica parece não ocorrer (Sindou, 1972). As fibras A- δ e A- γ estão localizadas no centro das radículas e concentram-se na região dorsomedial da junção entre a raiz e a medula espinal (Schvarcz, 1976). Foram observados também aferentes primários nociceptivos recorrentes das fibras das raízes posteriores nas raízes ventrais (Willis, 1989); aproximadamente 30% das fibras das raízes ventrais são amielínicas e, provavelmente, nociceptivas (Sindou, 1972).

Receptores de morfina μ , δ e κ estão presentes em alguns neurônios dos gânglios sensitivos posteriores. Os neurônios localizados nos gânglios são sensibilizados após a estimulação nociceptiva (Cervero e Iggo, 1980). Quando há inflamação, ocorre aumento da densidade de receptores μ e redução da proporção de receptores δ e κ (Zollner et al., 2003).

Na medula espinal, os aferentes primários bifurcam-se em ramos rostrais e caudais e entram na constituição do trato de Lissauer (Light, 1988; Sindou e Keravel, 1976). As vias aferentes C alcançam a região lateral da substância branca lateral da medula espinal e, os aferentes primários do grupo A, situam-se medialmente (Light e Perl, 1979). Os aferentes primários penetram na substância cinzenta da medula espinal por toda a superfície de

contato com a substância branca; há evidências de que a extensão da superfície de projeção dos aferentes C seja menor que a dos aferentes A- δ . Foram também identificadas projeções para a substância cinzenta da medula espinal contralateral (Campbell et al., 1989).

Apesar de controverso, o conceito de haver no SNP duas vias aferentes, a epicrítica e a protopática, conforme proposto por Head no início deste século XX (Head e Holms, 1911) é ainda bastante utilizado para explicar as diferentes qualidades de dor que ocorrem após lesões teciduais (Price e Dubner, 1977). A dor epicrítica, primária ou rápida é localizada, não permanece após cessar o estímulo e está envolvida no mecanismo da codificação e discriminação do estímulo nociceptivo. A dor protopática é menos localizada, inicia-se lentamente e perdura além do período de aplicação do estímulo. Há evidências de que os aferentes A- δ estejam relacionados à dor primária ou epicrítica e, os aferentes C, à dor secundária ou protopática (Price e Dubner, 1977; Scadding, 1989).

O trato de Lissauer é composto de fibras amielínicas e, em menor número, de fibras mielinizadas. Estas fibras originam-se das vias aferentes primárias e das projeções axonais dos neurônios localizados no corno posterior da substância cinzenta da medula espinal (CPME). Apesar das controvérsias (Nashold e Ostdahl, 1980; Sterling e Kuypers, 1967; Willis, 1989), admite-se que no trato de Lissauer predominem numericamente fibras dos aferentes primários (Fitzgerald, 1989). Nesta estrutura, as fibras aferentes nociceptivas com projeção rostral deslocam-se lateralmente e, as caudais, medialmente (Fitzgerald, 1989). No segmento interno deste trato,

há predomínio das fibras mielínicas finas e amielínicas que se projetam no CPME. No segmento externo, predominam as fibras inter-segmentares oriundas principalmente da substância gelatinosa da medula espinal (Sindou, 1972). Os aferentes primários A- β e A- δ que veiculam a informação captada por receptores de baixo limiar das estruturas superficiais e profundas, também entram na constituição do trato de Lissauer. Dividem-se em ramos rostrais e caudais e originam colaterais que penetram na região medial do CPME e alcançam suas lâminas intermediárias e profundas (Willis, 1989). Denny-Brown et al. (1973) observaram que a secção do segmento medial do trato de Lissauer resultava em aumento do campo receptivo das unidades nociceptivas do CPME, enquanto que a secção do segmento lateral resultava em redução do campo.

As fibras dos aferentes primários A- δ formam plexos transversais na superfície do CPME e, nas regiões profundas, são orientados longitudinalmente. As fibras aferentes C parecem terminar exclusivamente nas lâminas superficiais do CPME (Light e Perl, 1979) como um plexo com orientação longitudinal (Szentagothai, 1964) ou como feixes orientados sagitalmente (Fitzgerald, 1989).

O CPME, não é apenas uma estação de coleta de informações transmitidas pelos aferentes primários, contém interneurônios que interferem no processamento das informações sensitivas inibindo ou facilitando a transmissão dos potenciais veiculados pelos aferentes primários para os tratos que projetam-se no encéfalo. Além das aferências oriundas dos nervos periféricos, os neurônios do CPME recebem também projeções

originadas no córtex cerebral (Carpenter et al., 1962; Fetz, 1968; Shin e Chapin, 1989; Yuan et al., 1993; Senapati et al., 2005b), nas estruturas encefálicas subcorticais e no tronco encefálico (Tavares e Lima, 1994; Schomburg, 1990; Basbaum e Fields, 1984) que participam do mecanismo de modulação segmentar da sensibilidade.

O CPME localiza-se atrás do canal central da medula espinal e pode ser dividido em lâminas, de acordo com a morfologia celular, bioquímica das unidades celulares, atividade celular frente aos estímulos de diferentes naturezas ou em função das fibras que se projetam suprasegmentarmente (Sindou, 1972). O princípio mais aceito para a organização das unidades que compõem o CPME foi proposto por Rexed (1952), que dividiu a substância cinzenta da medula espinal de gatos em dez lâminas, de acordo com o padrão citoarquitetônico de suas unidades celulares. O CPME corresponde às seis primeiras lâminas da organização proposta por Rexed (1952).

Há evidências de que exista organização somatotópica das projeções terminais dos aferentes primários. As regiões segmentares proximais do organismo estão representadas lateralmente e as distais, medialmente, nas lâminas do CPME (Waisbrod et al., 1984).

A lâmina I ou lâmina marginal de Waldemir é constituída de camada delgada de células localizadas no ápice do CPME. Feixes de axônios mielinizados penetram nela, gerando aspecto esponjoso ou reticular (Willis, 1989). É composta por neurônios grandes e por maior número de células de pequenas dimensões (Rexed, 1954). As células dispõem-se transversalmente e os dendritos orientam-se longitudinalmente (Schady e

Torebjork, 1983). Os neurônios grandes têm dendritos longos e poucas arborizações que permanecem na mesma lâmina ou que se projetam profundamente na lâmina II (Schady e Torebjork, 1983; Swanson et al., 1976). Os neurônios da lâmina I recebem aferências do plexo marginal e do trato de Lissauer que se projetam na porção proximal dos dendritos e no corpo celular das células grandes. Os aferentes primários constituídos por fibras finas fazem sinapse nos dendritos distais (Schady e Torebjork, 1983). Há evidências de que os aferentes nociceptivos A- δ projetem-se nesta lâmina (Willis, 1989). Nela há sinapses de axônios mielínicos de grosso calibre que fazem contato com dendritos de pequenas e grandes dimensões sobre os quais projetam terminações axonais delgadas. Essas estruturas são similares aos glomérulos presentes nas lâminas II e III. Unidades celulares da lâmina I entram na constituição dos tratos espinotalâmico contralateral (Bowsher e Abdel-Maguid, 1984; Trevino et al., 1973), proprioespinais homo e contralateral (Szentagothai, 1964) e de Lissauer (Schady e Torebjork, 1983; Szentagothai, 1964).

A lâmina II do CPME constitui a substância gelatinosa propriamente dita (Cervero e Iggo, 1980; Willis, 1989). Alguns autores não fazem distinção entre as lâminas II e III (Szentagothai, 1964; Waisbrod et al., 1984). O padrão histológico, as características espaciais da árvore dendrítica e os resultados da rizotomia sensitiva demonstram haver aspectos morfológicos diferentes nestas duas lâminas, o que justifica a proposta de distingui-las (Sterling e Kuypers, 1967; Willis, 1989). A lâmina II situa-se ventralmente à lâmina I. Seus neurônios são menores e mais compactos que os da lâmina

III, têm disposição radial e conformação variada (Bowsher e Abdel-Maguid, 1984). A lâmina II pode ser subdividida em lâmina II interna e lâmina II externa (Cervero e Iggo, 1980). Na lâmina II há dois tipos de neurônios: os limítrofes ou “em haste” que se localizam na transição entre as lâminas I e II e os “em ilha” ou centrais que se situam na região central da lâmina II. Estes últimos são numerosos, têm pequenas dimensões, apresentam muitos dendritos finos que se ramificam entre os lóbulos da substância gelatinosa; adotam disposição longitudinal e projetam-se apenas nos neurônios da lâmina II constituindo lóbulos (Schabdy e Torebjork, 1983; Szentagothai, 1964). Esses lóbulos são devidos à arborização em chama dos colaterais dos aferentes primários mielinizados grossos que emergem da região medial do funículo posterior e penetram na face ventral da substância gelatinosa (Szentagothai, 1964). Apesar de haver controvérsias, aceita-se que os aferentes primários projetam-se diretamente nos neurônios da lâmina II (Cervero e Iggo, 1980; Rethelyi e Szentagothai, 1969; Schady e Toresbjork, 1983; Szentagothai, 1964). Muitas fibras mielínicas e amielínicas destacam-se em ângulo reto da região medial dos tratos de Lissauer e proprioespinal, atravessam a lâmina I e penetram na face dorsal da substância gelatinosa. Parte delas é constituída pelos aferentes primários C e A- δ (Rethelyi e Szentagothai, 1969; Schady e Torebjork, 1983). Há evidências de que fibras C térmicas e nociceptivas projetem-se na divisão externa da lâmina II e de que as fibras C e A- δ não se projetem na divisão interna da lâmina II. Apesar de discutível (LaMotte e Campbell, 1978), admite-se que colaterais das fibras aferentes de grosso calibre que entram na constituição dos funículos

posteriores penetram na região dorsomedial do CPME e curvam-se lateralmente, atingindo a substância gelatinosa onde arborizam-se em chama no plexo transversal e no sentido craniocaudal (Moosy e Nashold, 1988; Rethelyi e Szentagothai, 1969). A lesão das raízes nervosas resulta em degeneração mais precoce das terminações dos aferentes primários na lâmina II do que na lâmina III. Na lâmina II, há sinapses axodendríticas, axoaxonais e em glomérulos. Os glomérulos correspondem a menos de 5% das sinapses na substância gelatinosa, mas parecem ter papel integrativo importante (Rethelyi e Szentagothai, 1969). À microscopia eletrônica, consistem organizações sinápticas axodendríticas e axoaxonais complexas (Rethelyi e Szentagothai, 1969; Szentagothai, 1964). Há evidências de que a região central do glomérulo seja constituída de colaterais “em chama” dos aferentes de grosso calibre ou de projeções dorsais das células piramidais presentes nas lâminas profundas do CPME (Rethelyi e Szentagothai, 1969). No interior dos glomérulos ocorrem contatos sinápticos axoaxonais com aferentes primários do grupo A (Sterling e Kuypers, 1967) e escassos e regulares contatos axodendríticos (Rethelyi e Szentagothai, 1969). Os neurônios da lâmina II projetam-se no trato de Lissauer, fascículos próprios lateral e dorsal, nas lâminas II e III contralaterais, via comissura branca anterior, e nas lâminas I, III, IV e V homolaterais (Cervero e Iggo, 1980; Sindou, 1972; Szentagothai, 1964). Szentagothai (1964) imaginava que a substância gelatinosa fosse sistema fechado constituído de neurônios que apresentavam conexões tanto intrínsecas intrassegmentares e transcomissurais como extrínsecas, inter-segmentares. É provável que, mediante projeções que se fazem dos dendritos apicais dos neurônios das

lâminas IV e V, a lâmina II projete-se nos tratos espinorreticulares e espinotalâmicos e nos neurônios do corno anterior da substância cinzenta da medula espinal (Sindou e Keravel, 1976). Outros neurônios contêm axônios curtos, característicos das células do tipo II de Golgi (Willis, 1989), não emergem da substância gelatinosa e constituem um sistema axonal intrínseco (Szentagothai, 1964). As células limítrofes são grandes e semelhantes aos neurônios da lâmina I; originam dendritos que se projetam anterior, lateral e tangencialmente à superfície do CPME e originam projeções semelhantes aos neurônios da lâmina I.

A lâmina III, juntamente com as lâminas IV e V, constituem o núcleo próprio do CPME (Willis, 1989). Os neurônios que a constituem são menos densos que os da lâmina II, contêm pouco citoplasma e orientam-se verticalmente em relação à superfície do CPME. Possuem dendritos mais longos que se projetam nos neurônios das lâminas I à V do CPME (Szentagothai, 1964; Willis, 1989) e fazem contatos com aferentes primários representados principalmente por colaterais das fibras de grosso calibre que se projetam “em chama” (Schady e Torebjork, 1983; Szentagothai, 1964; Willis, 1989). Parece haver representação somatotópica nos neurônios da lâmina III: as regiões dorsais do corpo são representadas no segmento lateral do CPME e as ventrais, no medial (Sterling e Kuypers, 1967). Existem controvérsias a respeito da existência de projeções de aferentes primários de calibre fino na lâmina III (Schady e Torebjork, 1983); há evidências de que os aferentes primários de fino calibre do plexo apical e fibras proprioespinais projetem-se na base da lâmina III (Willis, 1989). Na lâmina III foram descritas sinapses axodendríticas, axossomáticas, axoaxonais e em

glomérulo. Os neurônios da lâmina III parecem ser ativados por estímulos mecânicos de baixo limiar aplicados a receptores periféricos de adaptações rápida e lenta. Os neurônios da lâmina III projetam-se nos tratos de Lissauer e propriospinais e na substância gelatinosa (Schady e Torebjork, 1983; Szentagothai, 1964).

A lâmina IV é a maior das lâminas do CPME. Apresenta limites precisos e aspecto heterogêneo (Sindou, 1972) e é constituída por neurônios estelares pequenos (Cervero e Iggo, 1980) e por neurônios grandes que possuem dendritos dirigidos dorsalmente com disposição espacial cônica e dendritos dirigidos ventralmente, freqüentemente, únicos e longos (Richardson e Siqueira, 1979; Schady e Torebjork, 1983). Recebe aferências de fibras do SNP de grosso calibre que se projetam diretamente nos corpos celulares e “em chama”, nos dendritos (Szentagothai, 1964) e de fibras finas ativadas por receptores mecânicos com velocidades de adaptação rápida e lenta (Willis, 1989). Os aferentes primários exteroceptivos originam-se na região dorsal dos funículos posteriores e constituem o plexo longitudinal aferente; os campos receptivos dos neurônios com que fazem sinapse são pequenos, alguns polimodais e outros específicos (Sindou, 1972). Recebe também aferências oriundas do trato corticoespinal e do fascículo cornocomissural (Schady e Torebjork, 1983) e origina fibras que trafegam pela substância branca lateral e que constituem o trato espinocervical homolateral (Rethelyi e Szentagothai, 1969) ou o trato espinotalâmico (Willis, 1989). Os aferentes primários projetam-se principalmente nos dendritos dorsais que alcançam a substância gelatinosa e as fibras corticoespinais, nos dendritos mediais. Há

também aferências oriundas dos feixes comissurais da substância branca adjacente e do CPME contralateral, assim como de colaterais dos aferentes primários. Dendritos dos neurônios da lâmina IV projetam-se dorsalmente na substância gelatinosa, o que lhes confere a função de transferência de informações da substância gelatinosa para outras regiões da medula espinal. O plexo longitudinal é constituído de aferentes primários ou de colaterais de interneurônios, localiza-se nas lâminas III e IV, talvez na região posterior da lâmina V e ramifica-se na lâmina VI (Willis, 1989). A organização sináptica da lâmina IV é semelhante à das lâminas V e VI. As sinapses são axossomáticas, axodendríticas e axoaxonais, mas não há glomérulos nesta lâmina (Willis, 1989).

A lâmina V corresponde ao colo do CPME (Sindou, 1972). Seu terço lateral tem aspecto reticular devido à presença de fibras mielinizadas e, os dois terços mediais, são mais claros (Willis, 1989). Contém menos axônios mielinizados e seus neurônios e seus dendritos têm disposição dorsoventral e mediolateral e poucos apresentam disposição longitudinal. A lâmina V recebe fibras mielínicas A- δ originadas do tegumento, das vísceras, dos músculos (Sindou, 1972) e do plexo longitudinal (Willis, 1989). A região medial da lâmina V recebe aferências de fibras grossas que aí se projetam sem distribuição somatotópica (Schady e Torebjork, 1983; Sindou e Keravel, 1976). Recebe também aferências da lâmina IV, dos tratos corticoespinais motores e sensitivos, rubroespinais, tetoespinais e reticuloespinais. As sinapses das projeções caudais são axodendríticas e axossomáticas. Em virtude da intensa convergência das informações oriundas da periférica e do

grande número de neurônios multimodais nesta lâmina, admite-se que o fenômeno de dor referida seja aí processado (Fitzgerald, 1989; Sindou, 1972). Os neurônios da lâmina V originam fibras que entram na constituição dos tratos espinotalâmico contralateral e espinocervical homolateral e dos funículos posteriores homo e contralateral (Sindou, 1972). Alguns axônios dos neurônios mediais da lâmina V originam colaterais próximos ao corpo celular que podem alcançar as lâminas II, III e IV, exercendo função possivelmente semelhante àquela dos neurônios do tipo II de Golgi.

A lâmina VI parece estar presente apenas nos segmentos cervicais e lombossacrais da medula espinal e pode ser dividida em região medial e lateral (Willis, 1989). Contém menor número de neurônios que a lâmina V. Seus dendritos dispõem-se mediolateral e dorsoventralmente, são longos, pouco ramificados e bastante dispersos (Schady e Torebjork, 1983) e recebe projeções de aferentes primários de grosso calibre dos tipos Ia e Ib (Light, 1988) que veiculam informações proprioceptivas e aferências de alguns tratos rostrocaudais (Willis, 1989). Seus neurônios originam projeções para os tratos espinotalâmico contralateral, espinocervical e propioespinal (Willis, 1989). Os neurônios da região medial originam projeções para as lâminas IV, V e VII da substância cinzenta da medula espinal e colaterais recorrentes próximos aos seus corpos celulares.

Aos aferentes nociceptivos primários alcançam também os neurônios motores presentes no corno anterior na coluna intermediolateral da substância cinzenta da medula espinal (Kori et al., 1981). Portanto, os aferentes primários do grupo A- δ formam um plexo transversal na superfície

do CPME, projetam-se nas regiões profundas da lâmina I e originam colaterais para regiões externas da lâmina II (Fitzgerald, 1989). Os aferentes primários do grupo C terminam no plexo longitudinal da lâmina I ou como feixes orientados sagitalmente (Szentagothai, 1964). Os aferentes primários A- β e A- δ dividem-se em ramos rostrais e caudais no trato de Lissauer que originam colaterais que penetram na região medial do CPME, alcançam as lâminas IV, V, VI e IX da substância cinzenta da medula espinal e recorrem para terminar na lâmina II e, com arborização “em chama”, na lâmina III do CPME (Light, 1988; Light e Perl, 1979). Os aferentes primários A- δ projetam-se nas lâminas I, II e V e, os aferentes C, nas lâminas I e II. As sinapses dos aferentes primários A- β são simples com os dendritos ou adquirem arranjo glomerular. Os aferentes oriundos dos folículos pilosos fazem contato direto com terminações nervosas contendo ácido glutâmico, o que sugere serem responsáveis pela inibição pré-sináptica, via ácido gama-aminobutírico (GABA) (Fitzgerald, 1989). Os neurônios da lâmina III reagem à estimulação de mecanorreceptores de baixo limiar (Willis, 1989), os da lâmina IV, à estimulação mecânica de baixo limiar e os da lâmina V, à estimulação de receptores mecânicos de baixo e alto limiares.

Estudos de potencial de campo evidenciaram grande densidade de projeção de aferentes nociceptivos nas lâminas I, II e V do CPME (Willis, 1989). Parecem existir neurônios nociceptivos específicos na lâmina I e na substância gelatinosa (Light e Perl, 1979). Os padrões de projeção dos aferentes viscerais e musculares são similares entre si (Fitzgerald, 1989; Jänig, 1987). As lâminas III e IV não recebem aferências viscerais e

musculares, o que sugere haver estratificação das projeções medulares dos aferentes cutâneos e das estruturas profundas. De acordo com Wall (1989), a divisão citoarquitetônica proposta por Rexed (1952) não apresenta significado funcional, pois as árvores dendríticas dos neurônios são muito extensas, não há relação entre a forma e a função das células e vários neurotransmissores estão envolvidos na fisiologia do CPME, atuando, muito deles, em regiões distantes do local em que são liberados. Além disso, vários sistemas neuronais projetam-se em diferentes locais do CPME.

Alguns neurônios do CPME que originam os tratos espinotalâmicos e espinoreticular e recebem projeções nociceptivas dos aferentes primários, são nociceptivos específicos e reagem exclusivamente à estimulação dolorosa intensa. Outros são de grande espectro de ação e recebem contatos sinápticos de aferentes mecânicos de baixo limiar assim como de aferentes nociceptivos. A dinâmica da atividade dos neurônios no CPME permite que estímulos sejam percebidos como dolorosos e não-dolorosos mesmo quando processados nas mesmas unidades celulares. O CPME contém também interneurônios que inibem ou facilitam a transmissão dos potenciais veiculados pelos aferentes primários para os sistemas de projeção suprasegmentares e recebe aferências de outros segmentos espinais, córtex cerebral, estruturas subcorticais e tronco encefálico que participam do mecanismo de modulação da atividade sensitiva (Cervero e Iggo, 1980).

Mais de uma dezena de neuropéptides foi identificada nos gânglios das raízes sensitivas e nos aferentes primários, incluindo-se dentre eles, a SP, o octapeptídeo colecistocinina, a somatostatina, o peptídeo geneticamente

relacionado à calcitonina (PGRC), o peptídeo vasoativo intestinal (PVI), o neuropeptídeo Y (NPY), a dinorfina, as encefalinas, o fator de liberação de corticotrofina, a arginina, a vasopressina, a oxitocina, o peptídeo liberador de gastrina, a bombesina, a angiotensina II, a galanina e o fator de crescimento de fibroblasto (Blumenkopf, 1984; Leeman e Mroz, 1974; Reynolds, 1969; Yaksh et al., 1985), além dos aminoácidos como o ácido glutâmico e aspártico, aminas, como a serotonina (5HT) e a dopamina, tirosina e adenosina (Fessell e Dodd, 1989). Alguns dos neurotransmissores dos aferentes primários apresentam precursores similares e, muitos deles, estão presentes nas mesmas vesículas das terminações nervosas (Fessell e Dodd, 1989). Os principais neurotransmissores excitatórios dos aferentes primários são o glutamato e o ATP. Os neurotransmissores são produzidos nos corpos celulares dos gânglios sensitivos e aproximadamente 10% deles são transportados ao longo da raiz proximal para as suas terminações nas lâminas do CPME e, aproximadamente 80%, distalmente (Bowsher, 1957; Meher et al., 1960).

Há evidências de que aminoácidos e outras substâncias excitatórias com ação rápida sejam liberados juntamente com neuropéptides de ação lenta pelas mesmas terminações nervosas aferentes no CPME (Salt, 1992). O fato de esses neurotransmissores difundirem-se facilmente no tecido nervoso e no líquido cefalorraquidiano sugere que possam atuar em regiões distantes daquelas em que foram liberados. A existência de muitos neurotransmissores sugerem que esteja relacionadas com a codificação dos estímulos nociceptivos periféricos; a atuação simultânea de vários peptídeos e aminoácidos pode ser necessária para que haja transmissão

adequada de determinadas modalidades sensitivas (Saria, 1987). É provável também, que os mesmos neurotransmissores relacionados à nocicepção estejam envolvidos na transmissão de informações não-nocivas. Além de suas atividades como neurotransmissores, os peptídeos podem ter ação neuromodulatória e modificar a sensibilidade dos receptores da medula espinal aos neurotransmissores rápidos ou alterar pré-sinápticamente sua liberação (Fessell e Dodd, 1989). Foi notada a liberação de SP frente a estímulos aplicados nos nociceptores mecânicos e receptores polimodais (Saria, 1987) e de somatostatina frente à estimulação térmica nociceptiva (Blumenkopf, 1984; Fessell e Dodd, 1989). A SP e a neurocinina parecem ter os mesmos precursores, talvez, sejam liberadas frente a estímulos similares e atuam em receptores distintos dos neurônios da medula espinal (Fessell e Dodd, 1989). A SP e o PGRC facilitam a transmissão da informação dos aferentes primários para os neurônios do CPME. A estimulação mecânica dos gânglios sensitivos e das raízes nervosas aumenta a concentração de SP nos corpos celulares dos gânglios sensitivos e na substância gelatinosa do CPME (Doi e Jurna, 1981). O PGRC é encontrado nas lâminas I e II do CPME e, além de atuar nos neurônios do CPME, ativa a endopeptidase que sintetiza a SP. A somatostatina é liberada por estímulos térmicos, participa das transmissões de informações nociceptiva e inflamatória, exerce atividade inibitória nos neurônios das lâminas I, II, e V do CPME e potencializa a ação da SP (Blumenkopf, 1984). O PVI parece estar envolvido no mecanismo da aferência nociceptiva visceral e é identificado no trato de Lissauer, nas lâminas I, V, VII e X da substância cinzenta da medula espinal e nas terminações dos aferentes

primários nociceptivos, principalmente, dos oriundos da região sacral (Blumenkopf, 1984). Atua via AMPc, apresenta atividade trófica, uma vez que melhora a perfusão sangüínea, está relacionado à glicogenólise e aumenta a sobrevivência neuronal. Há aumento de concentração nos gânglios das raízes sensitivas em áreas da medula espinal em que outros neuropeptídeos são depletados em caso de após neuropatias periféricas, participa da reorganização do sistema nervoso lesado e parece ter efeito na desmielinização óssea (Brodie e Proudfit, 1984; Meher et al., 1960). O NPY exerce atividade inibitória. A galanina inibe a transmissão sináptica no CPME, contrapõem-se ao efeito da SP, do PVI e da PGRC e acentua o efeito da morfina, evento revertido pela naloxona e potencializado pelos antagonistas das taquicininas. A colecistocinina antagoniza a ação dos neurotransmissores opióides. O ácido glutâmico, presente na lâmina I e na substância gelatinosa, parece ser o aminoácido excitatório dos aferentes primários de grande (Blumenkopf, 1984) e pequeno diâmetros e amielínicos (Fessell e Dodd, 1989). Nos neurônios do CPME há um receptor para cada neuropeptídeo e cada peptídeo pode acionar vários subtipos de receptores. O NPY apresenta seis receptores e a somatostatina, cinco. Foi evidenciada maior concentração de receptores de SP e de neurocininas A e B nas lâminas I, II e X e nas lâminas III e IV da medula espinal, respectivamente (Mantyh e Hunt, 1985), de receptores de bombesina com atividade despolarizante na substância gelatinosa e do NPY1 na profundidade da lâmina II. A SP exerce atividade excitatória em muitos neurônios multimodais do CPME (Willis, 1989). A somatostatina (5-HT) exerce tanto atividade excitatória quanto inibitória (Fessell e Dodd, 1989). Há receptores de

bombesina com atividade despolarizante na substância gelatinosa (Fessell e Dodd, 1989). Virtualmente todos os neuropeptídeos ocorrem nos neurônios que também contêm outros neurotransmissores como a acetilcolina, a 5-HT e o GABA. É possível que os neuropeptídeos não atuem apenas como mensageiros, mas também como agentes tróficos de longa duração.

Estímulos nociceptivos aplicados nos aferentes primários amielínicos induzem atividade prolongada e ampliam o campo receptivo dos neurônios do CPME (Cormier e Ferry, 1974). Os aferentes nociceptivos polimodais não apresentam atividade espontânea a não ser que se tornem sensibilizados pelos mediadores da inflamação quando, então, passam a apresentar atividade espontânea e despolarizam prolongadamente os neurônios do CPME. Estímulos leves e moderados liberam pequena quantidade de ácido glutâmico e de SP que, por sua vez, despolarizam a membrana neuronal e geram sensação dolorosa momentânea. Quando a estimulação é intensa e prolongada, há sensibilização dos neurônios do CPME através de vários mecanismos. A atividade dos aferentes nociceptivos C, mas não de outras fibras, promove somação temporal dos estímulos devido à liberação de neurotransmissores que ativam os receptores metabotrópicos e ionotrópicos dos neurônios do CPME. A sensibilização depende da atuação dos aminoácidos (ácido glutâmico, ácido aspártico) e das taquicininas (SP). Os receptores AMPA (ativados pelo ácido 2-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxasole-prôpionico) e os cainato são acionados imediatamente após a liberação de aminoácidos excitatórios e estão envolvidos no mecanismo de localização têmporo-espacial e na quantificação da dor. O glutamato ativa os receptores AMPA, que resulta em influxo de Na^+ , K^+ e Ca^{++} para o neurônio resultando

em despolarização rápida e efêmera da membrana neuronal. Imediatamente, ocorre ativação dos receptores NMDA (ativados pelo N-metil-D-aspartato) que propicia influxo citoplasmático de Ca^{++} e de Na^+ e efluxo de K^+ . Os receptores NMDA são canais iônicos mediados por mecanismos dependentes de voltagem, ativados por aminoácidos e modulados por neuropeptídeos (SP) e atuam centenas de milissegundos após a chegada dos estímulos. É necessária a presença de glicina e de glutamato para ser acionado (Blumenkopf, 1984). O receptor NMDA normalmente mantém-se inativo, mesmo na presença de glutamato porque seu canal é parcialmente bloqueado pelo Mg^{++} . A ativação dos receptores NMDA e a liberação do glutamato despolarizam parcialmente a membrana neuronal, reduzem o bloqueio pelo Mg^{++} do receptor e possibilitam a penetração de íons Ca^{++} para o interior do citoplasma. Como consequência, ocorre despolarização prolongada e deslocamento do Mg^{++} do receptor NMDA permitindo a ação do glutamato. O glutamato ativa os receptores metabotrópicos, inclusive o ACPD (aminociclopentano-1,3-de carboxilato), que resulta na ativação da fosforilase-C, promovendo a formação dos segundos-mensageiros, trifosfato de inositol (TPI_3) e diacil-glicerol (DAG). O DAG estimula a translocação da proteinocinase C (PKC) para as membranas celulares, o TPI_3 libera Ca^{++} das reservas intracelulares (microsossomais) e acarreta formação de PGs e de ácido araquidônico. A SP estimula a síntese de TPI_3 e ativa os canais de Ca^{++} dependentes de voltagem. Os canais de Ca^{++} dependentes de voltagem ativados aumentam a penetração de Ca^{++} no interior do neurônio. Ocorre aumento da concentração de Ca^{++} intraneural alguns minutos após a aplicação de

estímulos nociceptivos repetidos. A somação temporal induzida lentamente gera despolarização contínua, atividade neuronal espontânea e prolongada (*wind-up*) e exagera as reações aos estímulos mecânicos e térmicos pois os potenciais de membrana são próximos aos limiares dos potenciais de ação. O *wind-up* constitui a fase inicial dos processos sinápticos e celulares que geram a sensibilização central. Os íons Ca^{++} extracelulares somam-se aos íons Ca^{++} das reservas intracelulares e atuam como segundos-mensageiros desencadeando a síntese do AMP e a ativação de fosfolipase A_2 e da PKC ligada à membrana nos neurônios nas lâminas superficiais do CMPE, gerando o fenômeno da despolarização lenta que mantém o *wind-up*. Disto resulta fosforilação das membranas neuronais que se tornam hiperexcitáveis. Ocorre também ativação da sintetase de óxido nítrico (NOS). Óxido nítrico (NO) aumenta o fluxo sanguíneo, relaciona-se com a regeneração nervosa, à transmissão da informação nociceptiva nos neurônios do CPME e à manutenção da atividade neuronal após a axoniotomia. O NO e as PGs escoam-se do interior dos neurônios para o interstício e acarretam liberação de maior quantidade de neurotransmissores excitatórios dos aferentes primários, fenômeno que resulta em estado hiperalgésico de curta duração. Como consequência, há mais liberação de glutamato gerando excessiva despolarização pós-sináptica e resultando em *feedback* positivo. A PKC modifica a estabilidade das membranas neuronais e aumenta a sensibilidade do receptor NMDA ao remover o Mg^{++} do receptor NMDA. A ativação mantida e o aumento da sensibilidade do receptor NMDA resultam em sensibilização e, conseqüentemente, em aumento do campo receptivo dos neurônios multimodais do CPME aos estímulos mecânicos. A

ativação da PKC é condição crítica para a sensibilização neuronal e para a instalação da hiperalgesia, pois ativa os marcadores dos proto-oncogenes e aumenta a formação de genes imediatos (C-fos, C-jun, Krox-24, jun D, Fos B). Os produtos protéicos dos genes imediatos atuam como terceiros mensageiros (papel transcricional) e modificam a expressão de outros genes resultando na síntese de RNA mensageiro envolvido na geração de novos canais protéicos, fatores de crescimento, neuropeptídeos e enzimas que alteram prolongadamente a atividade da membrana neuronal. Os genes ativados podem ser facilmente acionados e transformam a dor temporária em permanente. Como consequência da sensibilização neuronal, os campos receptivos dos neurônios expandem-se devido à maior efetividade das sinapses, resultando em ampliação da área de dor e na instalação da hiperalgesia secundária (redução do limiar ao estímulo mecânico nociceptivo em áreas distantes das lesões), alodínea mecânica secundária (percepção da sensação dolorosa deflagrada por estímulos que não apresentam magnitude para fazê-lo) (Jensen, 1996) e dor referida secundária (sensação de dor em áreas distantes daquela que sofreu a agressão). O campo receptivo para os estímulos dolorosos torna-se maior do que para estímulos de outras naturezas (Blumenkopf, 1984; Jensen, 1996). A dor referida é devida à projeção, à facilitação e à somação de estímulos em neurônios comuns e sensibilizados da lâmina V do CPME (Cervero e Iggo, 1980). A transição entre os estados dolorosos agudos e crônicos pode ser decorrente da seguinte seqüência de eventos: ativação dos receptores NMDA pelo glutamato, ativação de outros receptores pós-sinápticos, acúmulo intracelular de Ca^{++} , despolarização lenta, *wind-up*, ativação dos

mensageiros intracelulares que sensibilizam os receptores NMDA, sensibilização central, ativação dos genes pelo Ca^{++} , sensibilização neuronal aos estímulos nociceptivos e não-nociceptivos, aumento da atividade espontânea, expansão dos campos receptivos, hiperalgesia, alodínea e dor espontânea (Arendt-Nielsen e Petersen-Felix, 1995; Melzack et al., 2001). A sensibilização neuronal ocorre também nos núcleos talâmicos e nas estruturas do sistema límbico (Zhang et al., 2006).

Os neurônios da medula espinal participam de reflexos motores e neurovegetativos segmentares. O acionamento das unidades da coluna intermediolateral da medula espinal ativa as vias neurovegetativas simpáticas regionais, acarreta aumento da resistência vascular periférica e de vários órgãos, causam retenção urinária e alentecimento do trânsito intestinal. A ativação das unidades neuronais da ponta anterior da substância cinzenta da medula espinal é causa de hipertonia muscular que modifica o reflexo de flexão, gera aumento do tono muscular e induz espasmos musculares que resultam em isquemia muscular, em anormalidades posturais e em síndrome dolorosa miofascial (Giamberardino, 2003).

A transferência das informações nociceptivas da medula espinal para as estruturas encefálicas é realizada mediante vários sistemas neuronais compostos de fibras longas, tais como os tratos espinotalâmicos, espinoreticular, espinomesencefálico, espinoamigdaliano, pós-sináptico do funículo posterior e intracornuais (Dennis e Melzack, 1977). O maior contingente de tratos caudorrostrais envolvidos na nocicepção está presente no quadrante anterior da medula espinal (Weddell e Miller, 1962), onde as

fibras nervosas são geralmente mielínicas e, 50%, de pequeno calibre (Kerr, 1963). A existência de fibras amielínicas é questionada (Hassler, 1984).

Existe controvérsia a respeito da origem das fibras do trato espinotalâmico. Métodos de degeneração demonstraram que se originam nas lâminas I e V (Light, 1988; Smith, 1976), I e IV (Watson e Akil, 1980) ou I, IV, V, VI e VII (Trevino et al., 1973) do CPME. Nos últimos anos, foi destacando o papel dos neurônios situados nas lâminas VI, VII e VIII ativados por interneurônios presentes no CPME, como locais de origem de fibras espinotalâmicas (Guilbaud et al., 1973; Sindou, 1972). O maior contingente dessas fibras cruza a linha mediana após sua emergência na comissura branca anterior e desloca-se rostralmente pelo quadrante anterolateral oposto da medula espinal (Meher et al., 1960). Há pequeno número de fibras nociceptivas específicas no trato espinotalâmico; a maioria das fibras do trato espinotalâmico veicula estímulos dolorosos e não-dolorosos (Light, 1988). Devido ao mecanismo da convergência que ocorre no CPME, há menor número de fibras no trato espinotalâmico do que nos aferentes nociceptivos primários (Sindou e Keravel, 1976). Cerca de dois terços das células que originam os tratos espinotalâmicos respondem à estimulação nociva. Algumas são ativadas rapidamente por estímulos nocivos intensos e outras reagem lentamente (Willis et al., 1977). No ser humano, suas fibras projetam-se nos núcleos do complexo ventrobasal, núcleo centrolateral e núcleos intralaminares do tálamo (Bowsheer, 1957). A projeção direta no núcleo centromediano é razão de controvérsias (Weddell e Miller, 1962). Somente 20% a 30% das fibras do trato espinotalâmico alcançam os núcleos do complexo ventrobasal do tálamo nos primatas

(Bowsher, 1957). Há evidências de que colaterais do trato espinotalâmico projetem-se na formação reticular do bulbo, ponte e mesencéfalo, incluindo os núcleos gigantocelular e paragigantocelular e substância cinzenta periaquedutal mesencefálica (Ignelzi e Atkinson, 1980).

A origem das fibras do trato espinorreticular ainda não foi estabelecida com precisão. Há evidências de que se originem nas lâminas VII e VIII da substância cinzenta da medula espinal (Watson e Akil, 1980; Willis et al., 1977) e que seja constituído de fibras homo e contralaterais à penetração das raízes no CPME (Kerr, 1963). Aquelas que se projetam no núcleo gigantocelular e no tegmento pontino lateral estão relacionadas ao mecanismo da nocicepção (Bowsher, 1976). Colaterais do trato espinorreticular projetam-se também nos núcleos subcerúleo ventral e dorsal (Willis, 1989). Da formação reticular, a informação veiculada pelo trato espinorreticular é transferida para os núcleos intralaminares e ventral do tálamo e hipotálamo (Bowsher, 1976). Os neurônios que originam o trato espinorreticular são ativadas por estímulos nocivos e não-nocivos, superficiais e profundos. Há evidências de que o sistema espinorreticular não seja fundamental para a discriminação da dor, mas sim para o fenômeno de despertar e manifestações afetivo-emocionais e neurovegetativas associadas à dor (Bowsher, 1976).

Há evidências de que as fibras do trato espinomesencefálico originem-se nos neurônios nas lâminas I e V e, menos densamente, nas lâminas vizinhas (Willis et al., 1977) e que se projetem na formação reticular mesencefálica, incluindo o subnúcleo lateral da substância cinzenta periaquedutal mesencefálica e o teto mesencefálico (Nathan, 1977). A maior

parte das fibras do trato espinomesencefálico é contralateral à sua origem na medula espinal (Devor e Wall, 1981) e sua lesão reduz as respostas nociceptivas (Melzack et al., 1958).

Tratos de fibras presentes nos quadrantes posteriores da medula espinal participam também da condução da informação nociceptiva no ser humano e nos animais (Rustioni et al., 1979; Weddell e Miller, 1962). No trato espinocervical e no trato pós-sináptico dos funículos posteriores há fibras que reagem à estimulação nociceptiva e outras a estímulos nociceptivos e não-nociceptivos (Devor e Wall, 1981). As fibras do trato espinocervical originam-se nas lâminas I, III e IV do CPME (Apkarian et al., 1985; Devor e Wall, 1981) e projetam-se, via quadrante lateral homolateral da medula espinal, no núcleo cervical lateral onde fazem sinapses com neurônios que originam fibras que cruzam a linha média e projetam-se no complexo ventrobasal do tálamo (Boivie, 1970), formação reticular do tronco encefálico e diencefalo (Devor e Wall, 1981). O trato pós-sináptico do funículo posterior é organizado somatotopicamente e parece originar-se nas lâminas IV, V e VI (Watson e Akil, 1980) ou III, IV e V (Brown, 1977) do CPME.

Nos núcleos talâmicos há neurônios que respondem à estimulação nociceptiva e não-nociceptiva (Guilbaud et al., 1973). As vias nociceptivas discriminativas do trato espinotalâmico projetam-se no complexo ventrobasal, no grupamento nuclear posterior, núcleos intralaminares e submédio, enquanto as vias espinorreticulatâmicas enviam projeções aos núcleos centromediano, centrolateral e parafascicular e região magnocelular do corpo geniculado medial (Ignelzi e Atkinson, 1980; Peschanski et al.,

1984). Os campos receptivos dos neurônios talâmicos envolvidos na nocicepção, em geral, são bastante amplos, freqüentemente bilaterais (Poggio e Mountcastle, 1960) e, comumente, multimodais (Albe-Fessard et al., 1979). No complexo ventrobasal do tálamo há organização somatotópica bem definida e seus neurônios projetam-se, com organização somatotópica, nos córtices sensitivos SI e SII (Tasker e Emmers, 1967). Neurônios do núcleo ventral posterolateral projetam-se também no córtex orbitário (Ignelzi e Atkinson, 1980). Neurônios dos núcleos centromediano, parafascicular e intralaminares do tálamo reagem a estímulos nocivos e não-nocivos, apresentam campos receptivos grandes e recebem aferências bilaterais (Bowsher, 1957). A projeção para o estriado e córtex pré-motor sugere que esses núcleos estejam relacionados à reação motora envolvida no mecanismo de defesa aos estímulos nociceptivos (Guilbaud et al., 1973; Schady e Torebjork, 1983).

Aferentes espinais e do núcleo caudal do complexo espinal trigeminal projetam-se no núcleo submédio do tálamo medial (Craig et al., 1982). Foram descritas projeções desse núcleo para o córtex fronto-orbitário, região basomedial da amígdala e áreas de associação dos córtices frontal, occipital e temporal (Craig et al., 1982).

Há evidências de que 50% a 80% dos neurônios do núcleo gigantocelular reagem à estimulação nociva, principalmente recrutada por fibras A- δ e apresenta atividade excitatória e inibitória e grandes campos receptivos (Guilbaud et al., 1973). Alguns deles reagem apenas à estimulação nociva e outros, aos estímulos nocivos e não-nocivos (Guilbaud

et al., 1989). Originam fibras que compõem o trato reticuloespinal e projeções caudorrostrais para os núcleos talâmicos centromediano e parafascicular (Bowsher, 1957).

Na formação reticular mensencefálica há neurônios que reagem à estimulação dos neurônios nociceptivos do tálamo e que parecem estar envolvidos com os mecanismos nociceptivos (Guilbaud et al., 1973). Projeções reticulotalâmicas exercem atividade inibitória nos núcleos do complexo talâmico ventrobasal. É possível que a via espinomesencefalotalâmica eleve a inibição tônica no complexo ventrobasal do tálamo (Guilbaud et al., 1973). A área pontina parabraquial parece participar também do processamento nociceptivo e dos aspectos emocionais relacionados à dor, uma vez que recebe aferências da lâmina I do CPME e origina fibras que se projetam na amígdala e, provavelmente, no tálamo (Guilbaud et al., 1973).

As estruturas que compõem o sistema límbico recebem aferências da formação reticular do tronco encefálico e dos núcleos ventral anterior e posteriores do tálamo. O hipotálamo recebe aferências da formação reticular mesencefálica, núcleo ventral anterior do tálamo e córtex frontal. Poucos neurônios da área sensitiva principal respondem à estimulação nociva (Bowsher, 1957). Na região posterior da área SII há neurônios multimodais ativados por estímulos bilaterais que reagem à estimulação nociceptiva e apresentam grandes campos receptivos. Nas áreas de associação fronto-orbitárias há neurônios multimodais que respondem aos estímulos nocivos e não-nocivos (Bowsher, 1957). O núcleo centromediano projeta-se no córtex cerebral via núcleos talâmicos ventrolateral, ventromedial, ventral anterior e

da linha média. Os núcleos da linha média projetam-se no córtex cerebral via núcleo dorsal anterior do tálamo. O grupamento nuclear talâmico posterior projeta-se na área SII (Bowsher, 1957). A projeção dos núcleos da linha média no complexo ventrobasal do tálamo é inibitória (Guilbaud et al., 1973). A tomografia por emissão de prótons revela aumento do fluxo sanguíneo na região anterior dos córtices somestésicos primário e secundário, pré-frontal, do giro do cíngulo e ínsula, tálamo contralateral, núcleo lentiforme e cerebelo após a aplicação de estímulos dolorosos em seres humanos (Casey et al., 1994).

Existem conexões recíprocas entre as áreas sensitivas primária e secundária homo e contralaterais e, entre estas, e os córtices motor primário e parietal e estruturas do sistema límbico. Do mesmo modo, foram descritas conexões entre o núcleo centromediano, grupamento nuclear posterior do tálamo e estriado e projeções oriundas do córtex sensitivo primário para o complexo ventrobasal, grupamento nuclear posterior, núcleos parafascicular e, talvez, centromediano do tálamo, exercendo atividades excitatória e inibitória. O córtex sensitivo secundário projeta-se nos núcleos complexo ventrobasal, grupamento nuclear posterior e núcleo centromediano do tálamo. A área motora primária projeta-se nos núcleos talâmicos específicos e inespecíficos. Foram descritas projeções oriundas dos córtices cerebrais sensitivo, motor e orbitário e giro temporal superior para a formação reticular do tronco encefálico, dos córtices sensitivo e motor primários para as estruturas dos cornos anterior e posterior da medula espinal e do córtex orbitário para as lâminas profundas do CPME exercendo atividades

excitatória e inibitória. Há também projeções oriundas nos córtices parietal, occipital e temporal para os núcleos do funículo posterior (Bowsheer, 1957).

Melzack (1977) atribui ao complexo espinotalâmico a função discriminativa da dor. A projeção via grupamento nuclear posterior e núcleos intralaminares do tálamo não exerce atividade discriminativa. As vias que se projetam na formação reticular do tronco encefálico e nas estruturas do sistema límbico, mediante o trato espinorreticular, estão relacionadas aos aspectos afetivos e motivacionais associados à nocicepção. A conexão recíproca existente entre as estruturas da medula espinal, formação reticular do tronco encefálico, tálamo e córtex cerebral possibilitam a avaliação dos aspectos qualitativos e quantitativos dos estímulos nociceptivos, bem como controle do comportamento desencadeado pelos estímulos nociceptivos.

O complexo nuclear envolvido no processamento da informação exteroceptiva da face e da cavidade oral é subdividido citoarquiteticamente em núcleos mesencefálico e principal, situados rostralmente, e núcleo do trato espinal do nervo trigêmeo, situado caudalmente. A última estrutura foi subdividida, com base na sua composição celular, em subnúcleos caudal, interpolar e oral (Olszewski, 1950). Até recentemente, com base em dados anatômicos e clínicos, considerava-se que o subnúcleo caudal fosse a única estrutura responsável pela nocicepção da face. Foram, entretanto, identificadas unidades nociceptivas nas regiões superficiais e profundas do subnúcleo interpolar (Gordon et al., 1961) e nos núcleos oral e principal (Khayyat et al., 1975). Presentemente, admite-se que todo o complexo nuclear trigeminal espinal e o núcleo trigeminal principal estejam envolvidos na nocicepção facial

(Denny-Brown e Yanagisawa, 1989; Hill e Salt, 1982). Os neurônios do subnúcleo caudal têm importância capital no processamento da dor facial. Há evidências de que o subnúcleo caudal não origine fibras trigeminotalâmicas diretas (Price e Dubner, 1977), mas que influencie a dor secundariamente mediante projeções para os núcleos trigeminais sensitivos principais (Denny-Brown e Yanagisawa, 1989). O subnúcleo trigeminal oral recebe fibras oriundas do subnúcleo caudal e modula a atividade deste último (Broton e Rosenfeld, 1982; Gobel, 1975). A nocicepção da face é codificada pela somação central de impulsos de muitos aferentes do complexo nuclear trigeminal (Hitchcock e Teixeira, 1987). O conceito clássico sobre a representação rostrocaudal da projeção central nos aferentes trigeminais de acordo com sua origem no primeiro, segundo ou terceiro ramos do nervo trigêmeo (Sjöqvist, 1938) não é mais aceita (Kunc, 1966). Foi demonstrado que os três ramos estão representados em todo o complexo trigeminal e podem alcançar o CPME até do quarto segmento cervical e que aos ramos mandibular, maxilar e oftálmico dispõem-se com arranjo dorsoventral, respectivamente e que a representação sensitiva da face é realizada como lâminas concêntricas centradas na representação das regiões oral e nasal e situadas nas regiões central e rostral do subnúcleo caudal do trato espinal do nervo trigêmeo (Berson et al., 1983; Kunc, 1966). Há evidências de que os núcleos rostrais medeiam a dor da região oral e central da face e de que o subnúcleo caudal esteja envolvido no processamento da dor das regiões laterais (Amano et al., 1986). Existe grande superposição das terminações centrais dos ramos trigeminais no complexo nuclear. As fibras de grosso calibre ao penetrarem na ponte

dividem-se em ramos rostrais, que se destinam aos núcleos principal e mesencefálico, e ramos descendentes, que se projetam em diferentes componentes do complexo trigeminal descendente. Em animais, 80% das fibras de grosso calibre projetam-se no componente rostral do subnúcleo caudal e somente 10% alcançam o segundo segmento cervical (Darian-Smith, 1966). As fibras A fazem sinapses dendríticas e algumas, em glomérulos, nas estruturas nucleares do complexo trigeminal, correspondentes às lâminas III, IV e V do CPME (Fitzgerald, 1989). Os potenciais aferentes dos receptores mecânicos de adaptação rápida são conduzidos por fibras mielínicas finas e alcançam a região rostral da subdivisão caudal do núcleo do trato espinal do nervo trigêmeo. Ao longo dessa via, vários colaterais projetam-se nas unidades correspondentes às lâminas III, IV e V do CPME (Fitzgerald, 1989). Cerca de 50% dos aferentes primários das raízes trigeminais são representados pelas fibras C que penetram no trato descendente trigeminal e alcançam a região caudal do núcleo do trato espinal e do CPME cervical rostral (Denny-Brown et al., 1973; Willis, 1989). As aferências musculares veiculadas pelas fibras A- δ e C projetam-se na região distal do subnúcleo interpolar e nas lâminas I e V da subdivisão caudal do subnúcleo do trato espinal do nervo trigêmeo e no CPME da medula cervical rostral. As aferências nociceptivas A- δ projetam-se nas lâminas I, II, III e V do CPME da medula cervical (Fitzgerald, 1989). As aferências viscerais veiculadas pelos nervos intermediário, vago e glossofaríngeo cursam pelo trato espinal do nervo trigêmeo e projetam-se na subdivisão caudal do complexo nuclear e no núcleo do trato solitário

(Fitzgerald, 1989; Kunc, 1966). Do subnúcleo caudal do complexo trigeminal, as fibras projetam-se no complexo ventrobasal contralateral e nos núcleos intralaminares do tálamo (Price e Dubner, 1977). As fibras do núcleo sensitivo principal projetam-se no complexo ventrobasal homo e contralateral do tálamo (Smith, 1975).

Mecanismo de modulação da dor

O conceito de modulação ou supressão de dor por mecanismos endógenos advém de observações realizadas em indivíduos ou animais que em situações de “luta ou fuga” aparentavam não sentir dor, mesmo quando ocorriam lesões teciduais importantes (Terman et al., 1984; Amit e Galina, 1986). Graças ao trabalho de Head e Holmes, publicado em 1911 (Fields et al., 1999; Basbaum e Fields, 1978), os conceitos sobre as influências modulatórias no processamento da dor expandiram-se. Estes autores propuseram ser o tálamo o centro da percepção da dor e, o neocórtex, o centro da percepção discriminativa, que modula a resposta do tálamo aos estímulos nociceptivos. As primeiras evidências concretas sobre a existência de sistemas supraespinais controladores das vias sensitivas foram apresentadas na década de 1950 (Lindblom e Ottonsson, 1957). Um marco importante na conceituação sobre a existência de sistemas moduladores específicos no CPME foi a apresentação da teoria de comporta por Melzack e Wall em 1965. Segundo esses autores, a inibição pré-sináptica na medula espinal decorreria da colisão entre potenciais dos aferentes primários e potenciais antidrômicos negativos presentes na raiz sensitiva e originados

na substância gelatinosa do CPME (“potencias das raízes dorsais”). A ativação prolongada dos interneurônios da substância gelatinosa pelos aferentes primários de grosso calibre geraria potenciais negativos nas raízes sensitivas, do que resultaria redução dos potenciais nociceptivos que alcançam o CPME. Segundo esta teoria, a ativação das fibras de grosso calibre bloquearia a transferência das informações dos aferentes primários para os neurônios do CPME, assim como as influências hiperpolarizantes dos aferentes de calibre fino. Entretanto, foi demonstrado que as aferências carregadas pelas fibras A- δ e C também geram potenciais negativos na raiz sensitiva (Tillman et al., 1995). A ausência de correspondência anatômica, eletrofisiológica, neuroquímica e de achados clínicos que sustentassem a teoria de comporta como originalmente idealizada, foram algumas das razões pelas quais ela não mais fosse aceita como inicialmente apresentada. O mérito de sua idealização foi a proposta de um conceito mais apropriado sobre o mecanismos de modulação da sensibilidade, ou seja, a teoria da interação sensitiva, segundo a qual, as diferentes modalidades e qualidades sensitivas interagiriam entre si, modificando-se quanto à sua expressão (Melzack, 1999).

A importância das influências suprasegmentares no processamento da dor na medula espinal foi demonstrada quando se verificou que os neurônios da lâmina V do CPME tornavam-se hipersensíveis à estimulação nociceptiva em animais descerebrados, indicando que estruturas encefálicas, provavelmente da formação reticular do tronco encefálico, exercem atividade inibitória ou modulatória nos neurônios segmentares (Loeser et al., 1968; Basbaum et al., 1976).

A hipótese de que os sistemas rostrocaudais contribuem para a modulação da dor foi confirmada por Reynolds que demonstraram em 1969, que a estimulação elétrica de regiões limitadas da substância cinzenta periaquedutal mesencefálica em animais resultava em analgesia sem comprometer outras modalidades e qualidades sensitivas (Reynolds, 1969) verificou-se, ulteriormente, que este fenômeno estava associado à depressão da atividade dos neurônios das lâminas I e V do CPME (Nathan, 1977; Duggan et al., 1981). A reprodução desses resultados com a estimulação elétrica da mesma região e da substância cinzenta periventricular no ser humano (Hosobuchi, 1987) contribuiu significativamente para despertar nos investigadores o interesse pela pesquisa sobre os mecanismos de supressão da dor. Em 1973, Pert e Snyder demonstraram a existência de receptores de morfina na amígdala, hipotálamo, núcleo caudado, substância cinzenta periaquedutal mesencefálica, tálamo e substância gelatinosa do CPME. Verificou-se que a injeção de morfina na substância cinzenta periaquedutal mesencefálica resultava em aumento da atividade celular do núcleo magno da rafe (Oleson e Liebeskind, 1975) e que o efeito analgésico da estimulação elétrica e da administração de morfina na substância cinzenta periaquedutal mesencefálica devia-se à ativação de tratos rostrocaudais inibitórios (Dewey et al., 1969). Demonstrou-se, ulteriormente, que a estimulação elétrica e a administração de morfina nesta estrutura produzem analgesia via sistemas neuronais e neuroquímicos comuns, já que o emprego de antagonistas de morfina bloqueia a analgesia observada em ambas as situações e há

tolerância com ambas as manipulações (Falconer, 1953; Mayer e Hayes, 1975; Mayer et al., 1971).

A substância cinzenta periaquedutal mesencefálica recebe aferências de diferentes origens, tais como, hipotálamo, mediante fibras que trafegam pela substância cinzenta periventricular; córtices frontal, parietal e insular; amígdala; núcleos parafascicular do tálamo, cuneiforme e do loco cerúleo, formação reticular pontobulbar e CPME. Dentre os núcleos do bulbo ventromedial implicados no mecanismo de supressão da dor destacam-se o magno da rafe e os neurônios da formação reticular ventral ao núcleo reticular gigantocelular que recebem projeções oriundas da substância periaquedutal mesencefálica, hipotálamo posterior e de neurônios dos núcleos serotoninérgicos do encéfalo, noradrenérgicos do bulbo, ponte e reticular gigantocelular dorsolateral em que foram identificados neurônios contendo encefalinas e terminações nervosas contendo neurotensina (Mason, 2001; Rosenfeld, 1994; Sandkuhler, 1996; Vanegas et al., 2004). A projeção da substância cinzenta periaquedutal mesencefálica na formação reticular bulbar ventromedial é excitatória e utiliza neurotensina como neurotransmissor. Identificaram-se neurônios contendo encefalina que, da substância periaquedutal mesencefálica, projetam-se nos núcleos bulbares rostrais mediais. Demonstrou-se também que a estimulação da substância cinzenta periaquedutal mesencefálica inibe o núcleo gigantocelular (Krout et al., 2002; Gauriau e Bernard, 2002). Foram comprovadas projeções inibitórias oriundas dos núcleos bulbares ventromediais, trafegando pelo quadrante dorsolateral da medula espinal e projetando-se nas lâminas superficiais do CPME (Basbaum e Fields, 1979).

As vias rostrocaudais que trafegam pelo funículo dorsolateral da medula espinal e que se projetam nas lâminas superficiais do CPME utilizam 5-HT, Nadr e SP como neurotransmissores (Basbaum e Fields, 1979; Jones, 1991). A via serotoninérgica está envolvida no efeito analgésico da morfina administrada no tronco encefálico e no mecanismo da analgesia induzida pela estimulação elétrica do tronco encefálico (Suzuki et al., 2004). Há vias originadas no núcleo reticular paragigantocelular que contêm neurônios encefalinérgicos e serotoninérgicos. Alguns deles recebem projeções da substância cinzenta periaquedutal mesencefálica, projetando-se no CPME via funículo dorsolateral e utilizam Nadr com atividade inibitória (Beitz et al., 1983). As projeções noradrenérgicas para o núcleo da rafe originam-se nos núcleos A5 e A7 do bulbo. Foi demonstrado que fibras rostrocaudais catecolaminérgicas inibitórias oriundas do bulbo projetam-se nas unidades nociceptivas do CPME, principalmente nas lâminas I, II e X e atuam via receptores α -2 (Jones, 1991) e talvez mediante a liberação de GABA e glicina ou, indiretamente, via tratos serotoninérgicos (Suzuki et al., 2004).

A coexistência de numerosos neurotransmissores nos tratos rostrocaudais oriundos do tronco encefálico que se projetam no CPME dificulta a interpretação do efeito excitatório ou inibitório dessas vias. A estimulação dos tratos nervosos supressores rostrocaudais libera peptídeos antes das monoaminas, o que sugere que, em casos de dor aguda e de dor crônica, haja atuação diferenciada dos sistemas supressores (Terenius e Tamsen, 1982). A SP coexiste em neurônios e em terminações nervosas contendo encefalinas na substância periaquedutal mesencefálica, núcleos da rafe e do trato espinal do nervo trigêmeo e no CPME. É provável que, em

alta concentração, exerça atividade excitatória nos neurônios nociceptivos e, em baixa concentração, libere endorfina e iniba a nocicepção (Zhu et al., 1987). As vias rostrocaudais são ativadas pela estimulação elétrica do mesencéfalo e acionam neurônios do CPME que contêm encefalinas (Cui et al., 1999).

As projeções rostrais dos neurônios do tronco encefálico também parecem ser relevantes para o processamento da dor e de outras modalidades e qualidades sensitivas. É provável que os núcleos dorsal e mediano da rafe (Andersen e Dafny, 1983, Fonoff et al., 1999, Qiao e Dafny, 1988), sob a influência de vias encefalinérgicas, apresentem função moduladora no núcleo acumbente, amígdala, córtex cerebral e habênula (Greek et al., 2003). A projeção do núcleo pedunculopontino e do núcleo reticular talâmico exerce atividade inibitória no complexo ventrobasal do tálamo (Goettl et al., 2002).

Há evidências de que o fascículo rubroespinal exerça atividade inibitória nos neurônios das lâminas V, VI e VII do CPME (Gray e Dostrovsky, 1984) e que as vias vestibuloespinais exerçam atividade inibitória em neurônios das lâminas V e VI do CPME, via tratos presentes no funículo anterior da medula espinal (Bankoul et al., 1995). Há evidências de que colaterais do trato corticoespinal oriundos dos córtices motor (Fetz, 1968; Carpenter et al., 1962; Senapati et al., 2005b) e sensitivos primário (Yuan et al., 1993) e secundário, exerçam atividade inibitória nos neurônios das lâminas IV e V do CPME. Os córtices orbital frontal (Wyon-Maillard et al., 1972; Maillard et al., 1971), pré-frontal (Hardy, 1985) e cingulados (Senapati et al., 2005c) também modulam os neurônios do CPME.

Desde a descrição realizada por Tsubokawa et al., em 1990, de que a estimulação do córtex motor cerebral gerava analgesia, esta modalidade de tratamento ganhou muito destaque, especialmente no tratamento da dor neuropática crônica. Estes autores basearam-se em investigações preliminares sobre o resultado da estimulação cortical motora realizada em animais e em seres humanos (Lindblom e Ottosson, 1957; Penfield e Perot, 1963) propuseram a ocorrência de inibição de neurônios nociceptivos desferentados do córtex cerebral pelos estímulos elétricos, especialmente localizados no córtex sensitivo (Tsubokawa et al., 1991). Durante os mesmos experimentos, os autores observaram inibição dos neurônios talâmicos hiperativos apenas quando era estimulado o córtex localizado anteriormente ao córtex sensitivo, ou seja, o córtex motor primário. Nos anos subseqüentes, outros investigadores relataram casos isolados e casuísticas numerosas sobre doentes com várias síndromes dolorosas neuropáticas que foram tratados com estimulação do córtex motor e apresentando resultados surpreendentes, mesmo quando a dor era resistente ao tratamento medicamentoso e aos procedimentos neuroablativos convencionais. Meyerson et al. (1995) constataram que a estimulação do córtex motor aliviou acentuadamente a dor evocada. Nguyen et al. (2000) observaram alívio em um (50%) de dois doentes com dor decorrente de APB após a estimulação cortical; concluíram que os resultados foram melhores quando a estimulação gerava sensações nos locais onde a dor era percebida; nos doentes com dor no membro superior, os melhores resultados foram observados quando a estimulação foi realizada no segmento médio do córtex motor. Estas observações reforçaram o conceito clássico de que o

trato piramidal inibe a atividade de neurônios sensitivos e nociceptivos do CPME (Lindblom e Ottosson, 1957) e que paralelamente há modificações somáticas e comportamentais evocadas pela estimulação do córtex cerebral em doentes durante cirurgias destinadas ao tratamento da epilepsia (Penfield e Perot, 1963).

Sabe-se que os estímulos não-nocivos aplicados nos tecidos excitam neurônios de áreas restritas do córtex somestésico, ao mesmo tempo, que inibem neurônios em áreas mais amplas (Garcia-Larrea et al., 1999). Foi postulado que a indução de campos receptivos inibitórios exerce importante papel no mecanismo da discriminação sensitiva espacial e visa precisar a localização dos estímulos ambientais. É possível que a influência inibitória resultante da aferência dos estímulos não-nociceptivos possa atenuar a atividade dos neurônios nociceptivos. Evidenciou-se também que o aumento da atividade neuronal observada no tronco encefálico em casos de desaferentação pode ser atenuado com a estimulação cortical (Namba e Nishimoto, 1988). Admite-se que ocorra comprometimento do mecanismo inibitório, em casos de dor por desaferentação, fenômeno que facilita a atividade de circuitos alterados que transferem estímulos não-nociceptivos para neurônios nociceptivos localizados na área somestésica cortical (Schmid, 2000). O comprometimento desse mecanismo inibitório resultaria de discrepâncias entre a excitação e a redução da discriminação espacial e manifestar-se-iam clinicamente como fenômenos sensitivos anormais característicos da alodínea, disestesias e hiperalgesia.

A existência de circuitos neuronais recíprocos relacionados à transmissão de informações entre os córtices motor e somestésico,

relacionados aos estímulos retro-alimentadores destinados aos músculos, justifica, parcialmente, o fato de alguns doentes sentirem parestesias em áreas onde ocorre dor durante a estimulação do córtex motor. A presença de neurônios desaferentados localizados na medula espinal, tronco encefálico e tálamo pode justificar a ocorrência de dor neuropática por desaferentação (Loeser et al., 1968). Em gatos, a estimulação do córtex motor, mas não do sensitivo, suprimiu a hiperatividade neuronal espontânea nos núcleos talâmicos hiperativos gerada pela tratotomia espinotalâmica (Tsubokawa et al., 1991). Namba e Nishimoto observaram, em 1988, que a hiperatividade dos neurônios amplamente dinâmicos dos núcleos talâmicos sensitivos de gatos submetidos à desnervação trigeminal foi inibida pela estimulação tanto do córtex sensitivo como do motor.

As conexões entre o córtex sensitivo e motor poderiam estar relacionadas ao alívio da dor durante e após a estimulação cortical motora (Tsubokawa et al., 1993; Tsubokawa, 1995). Tsubokawa e Katayama, em 1998, postularam que a estimulação do córtex motor induz analgesia via ativação ortodrômica e antidrômica de neurônios não-nociceptivos de quarta ordem que estabelecem conexões recíprocas entre os córtices motor e sensitivo, restaura os mecanismos inibitórios que atuam em neurônios nociceptivos corticais hiperativos e restaura o campo inibitório circundante manifestado clinicamente como analgesia.

A ação da estimulação cortical no tratamento da dor guarda estreita relação com a somatotopia do córtex motor, pois parece atuar apenas no córtex cerebral (Canavero e Bonicalzi, 1995) e ou em nível subcortical em regiões situadas na proximidade do eletródio ou em axônios rostrocaudais

(Katayama et al., 1988). Os neurônios piramidais e seus eferentes talvez estabeleçam conexões da área SI com o tálamo e poderiam ser ativados mesmo com estímulos com intensidades aquém daquelas que induzem contração muscular. Neurônios da área motora primária em animais inibem outros neurônios localizados na área cortical SI, nos núcleos ventrais posteriores do tálamo e, via trato córtico-espinal, no CPME. Segundo Tsubokawa et al. (1993), a estimulação do córtex cerebral ativa neurônios não-nociceptivos na área cortical SI e, segundo Katayama et al. (1998), os neurônios nociceptivos do núcleo ventral pósteromedial do tálamo.

Rusina et al (2005) demonstraram que a estimulação do córtex motor (ECM) induz antinocicepção contralateral no modelo da pressão de pata de animais desaferentados, mas não na resposta nociceptiva dos animais no teste de reflexo de retirada da cauda. De acordo com pesquisas que utilizaram métodos eletrofisiológicos, a inibição da atividade de neurônios do CPME gerado por estímulos mecânicos reduz-se durante a estimulação tanto do córtex S-I quanto do motor, efeito que desaparece após o término do período da estimulação (Senapati et al., 2005a; b). Propôs-se que a inibição da atividade neuronal no CPME seria responsável pelo efeito antinociceptivo decorrente da estimulação do córtex motor (Kuroda et al., 2000; Senapati et al., 2005a; b). De acordo com a revisão realizada por Ohara *et al.* (2005), o córtex cerebral ativa o sistema inibitório nociceptivo rostrocaudal. No entanto, o córtex somestésico primário não exerce efeito marcante na modulação da nocicepção. Foi demonstrado que a estimulação do córtex S-II exerce fraca antinocicepção no teste nociceptivo induzido pela formalina, mas não interfere com a resposta nociceptiva frente aos estímulos

nocivos mecânicos ou térmicos (Kuroda et al., 2000). Este efeito inibitório foi potencializado com inibidor da NOS (Kuroda et al., 2000) e foi modulado pela via serotoninérgica rostrocaudal mas os sistemas alfa-adrenérgico e opioidérgico não participaram da antinocicepção provocada (Kuroda et al., 2001). Uma das primeiras demonstrações experimentais sobre a modulação da nocicepção pelo córtex cerebral não foi relacionada à função sensitiva mas sim ao córtex frontal. A anestesia local da região pré-frontal do ratos com procaína diminuem o limiar no teste de retirada da pata, ou seja, aumentou a resposta à dor, quando as injeções foram bilaterais (Cooper, 1975). A injeção de morfina no mesmo local não apresentou nenhum efeito. Segundo este estudo, a função do córtex cerebral seria a de suprimir tonicamente a dor, ou seja, sua inativação pela anestesia reduzindo o limiar nociceptivo. Este e outros estudos (Burkey et al., 1999; Burkey et al., 1996; Jasmin et al., 2002) revelou também que o córtex somestésico primário não exerce efeito modulatório sobre a dor.

Estudos subseqüentes revelaram que o córtex orbital ventrolateral (COVL) recebe informação somestésica e é ativado por estímulos nociceptivos tanto viscerais, como cutâneos (Snow et al., 1992; Follett e Dirks, 1995; Backonja et al., 1994) em animais normais ou submetidos à desaferentação hemisférica (Backonja e Miletic, 1991). Quando a morfina era injetada no COVL havia aumento da latência no teste de retirada da cauda (*tail-flick*) assim como analgesia em casos da dor neuropática (Al Amin et al., 2004). Em ambos os casos, o efeito nociceptivo era revertido com a injeção de naloxona (antagonista opióide inespecífico), o que indicava que o efeito era mediado por algum subtipo de receptor opióide. Baliki et al.

(2003) também observaram que a redução da atividade de COVL com vários anestésicos ou com a indução da lesão causava redução da analgesia. Estes resultados são confluentes com outros estudos que mostram que a injeção de morfina no córtex insular rostral agranular imediatamente caudal ao COVL resultava em analgesia reversível com naloxona e era mediada por sistemas inibitórios rostrocaudais (Burkey et al., 1996). No entanto, os estudos utilizam estimulação elétrica ou química (glutamato) da mesma região foram inconscientes, pois, em alguns, a estimulação induziu analgesia (Zhang et al., 1997a; Zhang et al., 1997b; Zhang et al., 1998) e, em outros, efeito pró-nociceptivo, reduzindo limiar de dor (Hutchison et al., 1996). No entanto, todos os estudos concordantes em relação bloqueio anestésico ou à lesão da substância cinzenta periaquedutal mesencefálico. Pode-se concluir, portanto, que a manipulação do COVL causa e ativa o sistema inibidor nociceptivo rostrocaudal. Estudos em que utilizam imagem funcional em seres humanos e estudos realizados em animais implicaram o córtex cingulado na modulação da nocicepção. O giro do cíngulo é subdividido em região rostral (perigenual) e cíngulo médio (área 24). O cíngulo médio é dividido em região anterior e posterior (Vogt et al., 2003; Vogt et al., 1996). Estudos eletrofisiológicos revelaram que o giro anterior do cíngulo recebe aferências nociceptivas (Yamamura et al., 1996; Sikes e Vogt, 1992). Como os neurônios presentes nesta região têm campos receptivos extensos, provavelmente não estavam envolvidos os aspectos discriminativos da dor.

O giro anterior do cíngulo é também ativado pela estimulação nociceptiva segundo os estudos sobre imagem funcional em humanos

(Peyron et al., 2000). Apesar de não aparentar estar envolvido em aspectos discriminativos da dor (Casey et al., 1994; Peyron et al., 1999; Tolle et al., 1999). Há também dúvidas sobre a participação do cíngulo anterior no componente afetivo da dor, pois alguns estudos sugerem que participa (Vogt et al., 1996; Drevets et al., 1995; Devinsky et al., 1995) e outros que não (Rainville et al., 1997; Taylor et al., 1994). Há evidências de que o cíngulo médio está envolvido na nocicepção (Davis et al., 1997; Derbyshire et al., 1998). De acordo com Vogt et al. (2003), a região posterior do cíngulo médio coordena as respostas reflexas músculo-esqueléticas e a região anterior média coordena comportamento de esquiva e de medo. Estudos comportamentais revelaram que lesão e injeção de opióides na região do cíngulo em camundongos exerce efeito antinociceptivo (Lee et al., 1999), enquanto a estimulação elétrica ou química (glutamato) resultava em hiperalgesia (Calejesan et al., 2000), que era bloqueada com a anestesia do bulbo rostroventral, o que sugere que o cíngulo anterior, como o COVL, atuaria no sistema descendente inibidor de dor (Basbaum e Fields, 1978), presumivelmente alterando a transmissão nociceptiva na medula espinal. A estimulação elétrica no córtex pré-frontal medial resulta em analgesia em animais de acordo com teste de placa quente e reflexo de retirada da cauda (Hardy, 1985); o registro de atividade neuronal na substância cinzenta periaquedutal mesencefálica sugere que há participação do sistema supressor de dor rostrocaudal neste mecanismo (Hardy e Haigler, 1985). Estes locais de córtices que modulam a nocicepção estão relacionados às respostas não-discriminativas e participam da atividade dos sistemas “límbicos” e das anormalidades afetivas relacionadas à dor.

Foi demonstrado com exames de imagem (*PET-scan*) que a estimulação do córtex motor aumenta o fluxo sanguíneo regional em várias áreas corticais e subcorticais, incluindo o tálamo ipsilateral, o giro do cíngulo, o córtex orbitofrontal, a substância periaquedutal mesencefálica e o tronco encefálico, mas não ativa o córtex somestésico e as vias motoras caudais ao local da estimulação, com exceção do tálamo ipsilateral (Cruccu et al., 1997; Garcia-Larrea et al., 1999). Canavero e Bonicalzi (2002) observaram que a estimulação do córtex motor altera o fluxo sanguíneo cortical regional e talâmico. Peyron et al. (1995) documentaram aumento do fluxo sanguíneo no tálamo ipsilateral onde predominam as conexões corticotálâmicas oriundas nas áreas motoras e pré-motoras durante a estimulação do córtex motor. Entretanto, a magnitude do aumento do fluxo sanguíneo regional foi mais expressiva no cíngulo anterior, córtex insular e tronco encefálico. Houve correlação entre o aumento do fluxo sanguíneo no cíngulo e o alívio da dor, o que sugere que a estimulação do córtex motor atua não apenas suprimindo a atividade dos neurônios hiperativos desaferentados, mas também modulando a atividade do sistema límbico. Em certas condições, como quando é realizada estimulação elétrica supraliminar, a atividade motora pode ser despertada e as experiências do movimento do órgão fantasma exacerbadas espontaneamente ou como resultado de algum fator gerador externo como a observação da imagem do membro em movimento.

Foi observado que a intensidade da dor no membro fantasma aumenta quando há redução da representação da imagem do membro amputado na área motora primária (Flor et al., 1995). A estimulação do córtex motor de um doente com dor no membro fantasma induziu efeito inibitório nos córtices

sensitivomotores ipsi e contralaterais (Roux et al., 2001). Os movimentos aumentam o limiar de detecção e reduzem a intensidade dos estímulos somestésicos percebidos, incluindo os dolorosos (Milne et al., 1988); os movimentos ativos apresentaram efeito mais consistente que os passivos (Feine et al., 1990). Esta inibição ocorre imediatamente antes, durante e por curto período de tempo após a contração muscular. Como ocorre a inibição apenas imediatamente antes da contração muscular, é provável que estruturas envolvidas diretamente com a ativação descendente dos motoneurônios, como o córtex motor ou os núcleos motores subcorticais, como o núcleo rubro, estejam envolvidos, o que descarta a hipótese de que o efeito estaria relacionado a áreas responsáveis pela programação motora, como as pré-frontais e pré-motoras. Há evidências de que este efeito seja também topográfico, ou seja, envolva apenas o segmento que participa do comportamento motor, o que nega a hipótese de que apenas a alteração da atenção seja responsável pelo aumento do limiar de detecção dos estímulos periféricos (Paalasmaa et al., 1991). A estimulação do córtex motor pode, portanto, atuar localmente, modulando o dipolo M1/SI e o circuito reverberante tálamo-cortical (Canavero, 1994).

Katayama et al. (1998) observaram que os resultados da estimulação elétrica cortical em doentes com dor central decorrente de enfarto encefálico e déficit discreto foram menos favoráveis que naqueles com déficit mais pronunciado. Tsubokawa et al. (1991) observaram alívio de mais de 60% da dor em 72% dos doentes sem déficit ou com déficit motor muito discreto e em 70% daqueles em que a contração muscular era evocada pela estimulação, mas somente em 15% daqueles com déficit motor moderado

ou intenso e em apenas 9% daqueles em que não foi observada nenhuma contração. Estes últimos autores constataram também que havia relação bastante íntima entre o controle da dor e a ocorrência de disestesias espontâneas, hipoestesia, hiperpatia, alodínea, desaparecimento da onda N₂₀ do potencial evocado sensitivo, parestesias induzidas pela estimulação, melhora do déficit motor e atenuação dos movimentos involuntários. A integridade do córtex sensitivo e do sistema lemniscal, entretanto, não constitui condição necessária para que a estimulação do córtex motor induza alívio da dor. Nguyen et al. (2000) observaram que o enfarto do lobo parietal, incluindo o do córtex sensitivo primário, não comprometeu o grau de melhora.

Yamamoto et al. (1997), mas não Saitoh et al. (2000), observaram que o procedimento é eficaz quando há melhora da dor com a injeção de tiamital e cetamina, mas não de morfina. Canavero e Bonicalzi (2002) observaram resultado semelhante com injeção de propofol.

Uma particularidade deste método é de que os melhores resultados clínicos guardam especificidade topográfica, ou seja, a área cortical estimulada deve corresponder, no homúnculo motor, ao território a ser tratado. Este achado reforça a hipótese de que possa haver, em situações fisiológicas, a ação de um sistema supressor rostrocaudal, que suprime a dor de modo topográfico mais significativamente nos membros e em regiões do corpo que estão sendo mobilizados para determinada tarefa do que nas regiões e membros em repouso. Os comportamentos motores seriam iniciados no córtex cerebral de acordo com o planejamento e veiculados por um pacote de atividade motora que compreenderia em padrão de disparos

de uma determinada população de neurônios piramidais corticais, que transfeririam a informação das combinações de padrão de ativação pós-sináptica aos motoneurônios, induzindo mobilização dos respectivos músculos de acordo com o movimento requerido naquele comportamento. Portanto, no engrama do movimento, além dos padrões de mobilização de motoneurônios, haveria também participação de informações para mobilizar o sistema nervoso neurovegetativo para controlar fluxo sanguíneo periférico e a transpiração, dentre outras funções regionalmente, assim como supressores a dor topograficamente direcionada para a região do corpo em questão, além de participar das ações sistêmicas, como o aumento da frequência cardíaca, respiratória e pressão arterial. No entanto, tais hipóteses ainda não foram comprovadas experimentalmente. Portanto, mais investigações são necessárias para melhorar entendimento das interações neuronais envolvidas na modulação da dor induzida pela estimulação do córtex motor.

MÉTODO

Os procedimentos realizados estiveram de acordo com a regulamentação internacional (Zimmermann, 1983) sobre experimentação animal e foram aprovados pela Comissão de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP (processo no 1139/05) e pelo Departamento de Neurologia. Os locais de experimentação foram o Laboratório de Fisiopatologia do Instituto Butantan e o Instituto de Ensino e Pesquisa do Hospital Sírio-Libanês.

Animais

Foram utilizados ratos Wistar machos pesando 180-200g, mantidos em ambiente com temperatura controlada ($22 \pm 2^\circ \text{C}$) e ciclo claro-escuro com livre acesso a alimentação e água antes dos procedimentos e durante intervalos entre avaliações comportamentais.

Mapeamento funcional de córtex motor

Os animais recebiam cetamina (0,5mg/kg Ketalar® Parke Davis/Aché) e xilazina (2,3mg/kg Dopaser® Fortdodge) via intramuscular como anestésicos sistêmicos e lidocaína 2% (0,5ml/animal-Xylocaina® Astrazeneca do Brasil) como anestésico local no escalpo, sendo então fixados a um sistema de estereotaxia Kopf. Doses suplementares de anestésico eram administradas quando necessário, durante os mapeamentos.

Após uma incisão axial no escalpo, o córtex cerebral era exposto por uma craniotomia retangular unilateral com extensão antero-posterior de 8

mm, centrada no bregma e lateral de 4,5mm desde a linha média, mantendo-se a *dura mater* íntegra.

Uma vez atingido o nível ideal de anestesia para evocação de respostas motoras mediante a estimulação elétrica do córtex cerebral, o braço estereotáxico portador do eletródio de estimulação era fixado à base de sustentação craniana para que o mapeamento fosse iniciado na porção ântero-medial da craniotomia. As estimulações foram realizadas através da *dura mater* mimetizando a estimulação epidural adotada nos protocolos atuais de implante de eletródios em seres humanos, ou seja, sem penetração do córtex cerebral. O eletródio era posicionado de modo seriado a intervalos de 500 μ m, formando uma matriz quadrática e cobrindo toda a extensão do córtex exposto. A estimulação consistiu de trens de duração de 1 segundo de pulsos monofásicos de 10 μ s cada, numa frequência de 100 Hz. Utilizamos um estimulador (S8800 - Grass Instruments, Quincy, MA, EUA) acoplado a um isolador de corrente (SIU5 - Grass Instruments). Foram utilizados eletródios bipolares em aço inoxidável (bipolar paralelo de 100 μ m de diâmetro por pólo distando 200 μ m um do outro).

Movimentos evocados foram observados com o animal em decúbito ventral com os membros mantidos em posição de repouso. Em cada local de estimulação a corrente elétrica foi elevada até que movimento pudesse ser observado, sendo essa corrente considerada como o limiar motor para o mapeamento. Se nenhum movimento fosse observado até valores de corrente coincidentes com o limiar motor mais elevado daquele animal, o sítio era definido como não responsivo. A resposta motora correspondente a

cada coordenada da superfície cortical foi anotada em um quadro/tabela para cada animal para análise ulterior. Os quadros de cada animal foram sobrepostos, compondo uma somatória de eventos em cada coordenada, que corresponde ao número de vezes em que houve movimentos evocados. Desse modo construiu-se um mapa probabilístico de áreas motoras correspondentes a cada porção do corpo do animal projetada na superfície do córtex cerebral.

Figura 1. Procedimento de mapeamento do córtex cerebral

A- Visão panorâmica do animal posicionado no sistema estereotáxico durante o procedimento de mapeamento cortical com eletródio epidural. B- Visão ampliada da área da craniotomia. A *dura mater* é visualizada como uma delgada película translúcida sobre o córtex cerebral

Implante de eletródios de estimulação elétrica cortical

Os animais foram anestesiados segundo a mesma metodologia utilizada para realização do mapeamento. Em ambiente estereotáxico, um par de eletródios de aço inoxidável (cilíndricos com 800µm de diâmetro cada) foi implantado através de pequenas trepanações localizadas sobre e a área cortical correspondente ao córtex motor da pata posterior (1,0mm rostral e 1,5mm caudal ao bregma e 1,5mm lateral à linha média). Foram utilizados dados do protocolo de mapeamento cortical para determinar o local estimulação. Eletródios semelhantes também foram implantados no córtex parietal-posterior (7,0mm caudal ao bregma e 4mm da linha média) e no córtex sensitivo primário adjacente à área motora (0,0mm rostral e 1,0 caudal ao bregma e 4,0mm lateral à linha média) em animais considerados grupo controle de estimulação.

A *dura mater* foi mantida íntegra. Parafusos de ancoragem foram inseridos no crânio sem penetração além da tábua óssea interna, distantes do sítio de estimulação. Cada eletródio era soldado a um fio isolado e este a um contato metálico inserido em um micro-conector isolado eletricamente para possibilitar o acoplamento e desacoplamento dos cabos de estimulação com agilidade necessária aos experimentos comportamentais. Esse equipamento foi fixado ao crânio e aos parafusos de ancoragem por polímero de metil-metacrilato (Jet®) que também apresenta propriedades de isolamento elétrico. Apenas durante as sessões de estimulação um cabo foi inserido aos conectores dos animais para contato com um estimulador portátil (Medtronic, Mineapolis, MI, USA).

Cálculo do limiar motor

O experimento para calcular o limiar motor, ou seja, a voltagem aplicada ao córtex motor primário que causa contração muscular detectável no membro correspondente, foi realizado em 12 animais anestesiados com administração intraperitoneal de tionembutal (50mg/kg Tionembutal Abbott Laboratories) associado a anestesia local do escalpo com lidocaína 2% (0,5ml/animal-Xylocaina® Astrazeneca do Brasil). Após a colocação do animal no estereotáxico, dois pares de eletrodos de aço inoxidável (cilindros de 800µm de diâmetro) foram implantados bilateralmente através de pequenas trepanações localizadas sobre a área cortical correspondente ao córtex motor da pata posterior, conforme o mapeamento cortical, nos mesmos moldes dos implantes antes realizados. A fonte de estimulação foi a mesma utilizada nos experimentos subsequentes (estimulador elétrico isolado portátil - Medtronic, Mineapolis, MI, USA) descritos abaixo. Uma vez montado o sistema de estimulação, em cinco tentativas intervaladas por 2 min, a voltagem era aumentada até que atingisse contração motora detectável visualmente. A média aritmética dos limiares obtidos nas cinco tentativas em cada lado do córtex de cada animal foi computada.

Estimulação elétrica do córtex motor

Foi elaborado um protocolo piloto para estabelecer-se os parâmetros de estimulação elétrica que seriam utilizados nos experimentos de estimulação do córtex motor. A fonte de estimulação foi a mesma utilizada para cálculo do limiar motor (estimulador elétrico isolado portátil - Medtronic,

Mineapolis, MI, USA) descritos abaixo. Foram então fixados os parâmetros de estimulação: amplitude de 1.0V, frequência de 60 Hz e largura de pulso de 210 μ s. Estes parâmetros de estimulação seriam aplicados durante 15 minutos para que os testes comportamentais pudessem ser realizados com o animal sem estresse da manipulação para o acoplamento do cabo do estimulador no soquete craniano.

Após o procedimento de implante de eletródios para estimulação cortical, os ratos foram mantidos durante sete dias até o momento dos experimentos comportamentais e monitorados para eventuais alterações comportamentais em gaiolas com 4 ou 5 animais. A avaliação comportamental dos animais operados para implante de eletródios de estimulação foi realizada logo antes, durante e 15 min após as sessões de estimulação que tinham a duração de 15 min. Foram avaliados dois grupos controles, os animais não operados e os operados e não estimulados. Os parâmetros de estimulação foram: amplitude 1,0V, frequência 60Hz, duração de pulsos 210 μ s – estimulador elétrico isolado portátil (Medtronic, Mineapolis, MI, USA). A avaliação comportamental foi baseada nos testes de pressão de pata (Randall e Selitto, 1957), reflexo de retirada da cauda (D'Amour e Smith, 1941) e teste de campo aberto (Broadhurst, 1960). Os dois primeiros testes avaliam a nocicepção periférica e o terceiro examina o comportamento geral do animal e a atividade motora.

Avaliação comportamental

Teste de pressão plantar

O limiar nociceptivo de pressão plantar foi avaliado com o uso de equipamento específico para essa finalidade - Plantar TestTM (Ugo Basile, Varese, Itália) – e obedeceu ao método descrito por Randall e Selitto em 1957. O aparelho aplica uma força com magnitude uniformemente crescente (16g/s) na pata posterior do animal mantido no sítio de pressão. O limiar é definido pela pressão (g/cm²) necessária para que o animal retire sua pata do local de estimulação para interromper o desconforto. Desse modo, definiu-se antinocicepção como o aumento de limiar em relação aos limiares basais e pró-nocicepção como a sua diminuição. Todos os testes comportamentais foram realizados com o avaliador encoberto.

Reflexo de retirada de cauda

Este teste é baseado no método de D'Amour e Smith (1941). Os animais foram colocados numa superfície plana com o terço distal da cauda sobre uma fonte de calor gerado pelo foco de uma lâmpada halógena de 8 V e 50W (Tail Flick Analgesia Meter, Columbus instruments, OH, USA). Assim que a lâmpada é acionada, a temperatura eleva-se rapidamente, conferindo uma estimulação térmica localizada, o que faz com que o animal retire a cauda de forma reflexa. A retirada da cauda aciona um dispositivo captador de movimento que desliga instantaneamente o cronômetro, o que permitia a medida da latência de retirada da cauda. Do modo análogo ao teste plantar,

antinocicepção é definida como um aumento na latência de retirada e o efeito pró-nociceptivo com a sua diminuição. A intensidade da lâmpada é ajustada para que a latência na maior parte dos experimentos esteja entre 2 e 4 segundos e a latência máxima é definida em 8 s para evitar lesões teciduais na cauda do animal. A medida basal é definida a partir da média de duas sessões com intervalo de 30 minutos e comparada com medidas sob intervenções.

Atividade geral – teste de campo aberto

A atividade locomotora exploratória dos animais foi avaliada de acordo com o teste de campo aberto, conforme descrição por Broadhurst (1960). O campo aberto constitui-se de uma prancha circular de 100 cm de diâmetro e cercada por uma borda de 47 cm de altura e dividida em 25 regiões semelhantes. O animal é colocado no centro do círculo e são contadas quantas vezes atravessa cada divisão, assim como as vezes que eleva as patas anteriores do solo, durante um período de 3 min.

Figura 2. Testes de avaliação comportamental

A- Teste de plantar de pressão de pata. B- Teste de retirada da cauda. C-Teste no campo aberto.

Teste de antagonismo por drogas

Foram realizados testes com injeção intraplantar de 1µg de naloxona (Sigma, MO, USA) na pata posterior, como proposto por Kayser et al. (1995), com intuito de investigar a mediação por receptores opióides do efeito da neuroestimulação. A injeção intraplantar de naloxona foi realizada em dois grupos de animais, na pata posterior ipsi e contralateral ao córtex estimulado, 30 minutos antes da estimulação cortical e do teste de pressão de pata. Injeções de solução salina de volume idêntico foram efetuadas no mesmo tempo e localização em animais do grupo controle.

Registro da atividade neuronal

Os animais foram anestesiados com administração intraperitoneal de tionembutal (50mg/kg Tionembutal Abbott Laboratories) associado a anestesia local do escalpo com lidocaína 2% (0,5ml/animal-Xylocaina® Astrazeneca do Brasil). Em ambiente estereotáxico, um par de eletrodos padronizados para estimulação foi implantado bilateralmente através de pequenas trepanações localizadas sobre e a área cortical correspondente ao córtex motor da pata posterior conforme o protocolo já estabelecido. Os parâmetros de estimulação também seguiram o protocolo utilizado durante os teste comportamentais.

Novas trepanações foram realizadas para a inserção do micro eletrodo (bipolar concêntrico com extremidade de 60µm - Viasys®) de registro neuronal. A amostragem de atividade neuronal multiunitária (extracelular) foi realizada em dois núcleos do tálamo, o núcleo ventral póstero-lateral (VPL) e

o núcleo centro mediano (CM) e na substância cinzenta periaquedutal do mesencéfalo (SPM) conforme as coordenadas estereotáticas do Atlas de anatomia seccional do cérebro do rato (Paxinos e Watson, 1996) mostradas na tabela 1.

Tabela 1. Coordenadas estereotáticas

Núcleos	X (mm)	Y (mm)	Z (mm)
VPL	-3,14	2,0 a 3,8	5,0 a 7,0
CM	-3,14	0 a 1,0	5,8 a 6,5
SPM	-7,30	0 a 1,2	4,0 a 6,0

Os valores das coordenadas estereotáticas do cérebro de rato nos três eixos X (ântero-posterior), Y (lateral) e Z (profundidade) representados em milímetros. Os valores negativos representam medidas posteriores ao Bregma (confluência da sutura sagital e coronal). VPL = Núcleo ventral pósterolateral; CM = núcleo centro mediano; SPM – substância cinzenta periaquedutal mesencefálica.

Em cada alvo foram registrados, por períodos de no mínimo 90 s, a atividade neuronal basal e a atividade anterior, concomitante e subsequente à estimulação elétrica do córtex motor.

Os períodos de manipulação foram seguidos de período de recuperação da atividade neuronal basal para iniciar-se novo registro.

Utilizamos um amplificador de dois canais (KeyPoint® com LeadPoint Softwear®, Medtronic-Dantec, Skovlunde Denmark) para amplificar, filtrar e visualizar o sinal. Simultaneamente o sinal foi gravado e armazenado em formato digital em computador anexo ao equipamento de eletrofisiologia por meio de programa específico de gravação e análise (Audacity® 1.3.2-beta - Mac OS X) e visualização (Signalscope® - Mac OS X) de sinal digital. Este sistema de aquisição permite uma interface visual e sonora durante a

aquisição ou reprodução. O sinal adquirido foi submetido a análise matemática para identificação das diferentes unidades neuronais presentes no mesmo canal de aquisição, assim como sua frequência de disparos e periodicidade. As unidades neuronais foram determinadas pela morfologia do potencial de ação que conserva suas características quando a posição do microeletrodo mantém-se constante em relação ao tecido neural.

Figura 3. Individualização de unidades neuronais baseado em análise de *wavelet*.

A- Sinal original com várias unidades neuronais de frequências diversas. **B-** Sinal original com potenciais de ação de diferentes morfologias. **C-** Processo de individualização das unidades neuronais conforme a morfologia do potencial de ação utilizando análise de *wavelet* (rotina *wave_clus* modificada).

Esta análise foi realizada com auxílio de uma rotina específica para MATLAB® 6.5 (*wave_clus* 1.1 - Quiroga et al., 2004) e modificada por

Bonifácio e Pereira (2007) para MATLAB® 2007a. Dessa forma pôde-se identificar unidades neuronais que apresentavam relação temporal com a estimulação cortical. A responsividade neuronal foi definida como alteração significativa da frequência de disparos, relacionada temporalmente com o estímulo.

Os sítios de registro cerebral profundos foram determinados por dois métodos: funcional e histológico.

O método funcional foi utilizado durante os experimentos de registro de acordo com coordenadas de Atlas estereotático (Paxinos e Watson, 1996). O eletródio de registro era introduzido lentamente de modo a captar a atividade neuronal espontânea por todo o trajeto do eletródio, desde o córtex cerebral até o alvo visado. O núcleo ventral pósterio-lateral fica em posição logo abaixo e lateral ao núcleo ventral pósterio-medial (VPM), portanto durante a passagem pelo VPM, os neurônios eram claramente responsivos ao tato nas vibrissas e rastro do animal. Imediatamente inferior os neurônios do VPL eram, da mesma forma, responsivos à estimulação tátil na pata posterior. Esta técnica também foi útil durante a o registro da atividade neuronal no núcleo centro mediano e substância cinzenta periaquedutal ambas as regiões o padrão neuronal apresenta resposta à estimulação nociceptiva periférica.

Após o término dos experimentos os animais eram sacrificados com dose letal de anestésico para retirada dos encéfalos após perfusão com solução de formalina 10%.

Cortes histológicos (30µm) dos encéfalos nas regiões relacionadas aos trajetos do eletródio de registro foram comparadas com as placas do Atlas micro anatômico de encéfalo de rato (Paxinos e Watson, 1996) e para a determinação do trajeto do eletródio de registro neuronal.

Apresentação de dados

Os dados são apresentados como média $\pm$ E.P.M. (erro padrão da média). A análise estatística foi realizada com a utilização do programa GraphPad Prism, versão 4.02 (San Diego, CA, EUA). A análise estatística entre dois grupos de interesse foi realizada com o Teste t e Teste t pareado para eventos interrelacionados. Foram realizadas comparações entre mais de dois grupos de acordo com análise de variância (ANOVA), seguindo-se o teste de Tukey. Em todos os testes as diferenças foram consideradas significativas quando $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

Mapeamento cortical

Foi realizado mapeamento cortical baseado na estimulação da superfície do córtex cerebral através da *dura mater* em 20 animais. No entanto apenas dados de 18 foram considerados para o estudo; nos demais não foi possível manter as condições vitais durante o período de tempo necessário para realizar o mapeamento cortical completo. A anestesia utilizada proporcionou a evocação de movimentos relacionados temporalmente à estimulação cortical sem que movimentos espontâneos ocorressem. Foi possível distinguir a movimentação dos vários segmentos corpóreos, incluindo as vibrissas, o pescoço, as patas anterior e posterior e a cauda. Foi possível fazer uma clara distinção entre os vários segmentos do corpo, desde as vibrissas, pescoço, pata anterior, pata posterior e cauda neste grupo de animais. Foram observados movimentos dos olhos em áreas muito restritas do córtex. A média dos limiar motor de $750 \pm 65 \mu\text{A}$. Em 22,1% dos pontos estimulados considerando todos os animais houve como primeira resposta contração de mais de um segmento corpóreo. Nestes casos foram necessárias novas séries de estimulações estagiadas para melhorar a diferenciação do ponto inicial de evocação da contração muscular. O mapa a seguir mostra o resultado das estimulações do córtex do hemisfério direito dos animais avaliados.

Figura 4. Mapa funcional da área motora do rato Wistar.

Representação das áreas do córtex cerebral relacionadas às regiões do corpo de acordo com a resposta motora à estimulação elétrica cortical epidural. A. Sobreposição da imagem da superfície cortical superior vista por transparência na face superior do crânio. Tons mais escuros em cada área corresponde à representação motora cortical em 100% dos animais estudados. B. matriz do mapa funcional. O = olhos, C = cauda, V = vibrissas, PP = pata posterior, PA = pata anterior e P = musculatura cervical.

Figura 5. Representação matricial do mapa funcional cortical motor.

72,22	83,33	83,33	72,22	72,22	72,22	72,22	72,22	0	0	0	0	0	0	0	0
50	83,33	83,33	100	100	100	100	72,22	0	0	0	0	0	0	0	0
72,22	83,33	94,44	100	100	100	100	72,22	0	0	72,22	77,78	72,22	0	0	0
44,44	100	100	100	100	100	100	100	66,67	50	83,33	100	100	66,67	0	0
50	100	100	100	100	100	100	94,44	50	50	100	100	100	50	0	0
50	100	100	100	100	100	100	94,44	72,22	100	100	100	100	44,44	0	0
83,33	100	100	100	100	100	44,44	50	66,67	100	100	33,33	94,44	100	0	0
83,33	100	100	100	44,44	33,33	44,44	33,33	50	100	44,44	66,67	44,44	33,33	0	0
83,33	44,44	50	66,67	33,33	100	100	100	72,22	83,33	72,22	100	100	100	100	33,33
100	83,33	94,44	94,44	83,33	100	90	100	100	100	100	100	100	100	100	44,44
83,33	83,33	50	50	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	50
83,33	83,33	100	100	66,67	72,22	50	100	100	100	100	100	100	100	100	100
44,44	100	100	100	72,22	66,67	50	100	100	100	100	100	100	100	100	22,22
44,44	100	100	100	100	100	100	44,44	33,33	100	100	100	100	100	100	44,44
33,33	100	100	100	100	100	100	100	72,22	72,22	50	72,22	72,22	72,22	44,44	44,44
44,44	100	100	100	100	100	100	100	72,22	0	0	0	0	0	0	0
22,22	100	100	100	100	100	100	100	66,67	0	0	0	0	0	0	0
33,33	100	100	100	100	100	100	100	50	0	0	0	0	0	0	0
77,78	100	100	100	100	100	100	100	66,67	0	0	0	0	0	0	0
83,33	33,33	100	100	100	100	100	100	44,44	0	0	0	0	0	0	0
94,44	44,44	66,67	100	100	100	100	100	66,67	0	0	0	0	0	0	0
100	100	33,33	44,44	50	72,22	66,67	38,89	66,67	0	0	0	0	0	0	0
100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100	94,44	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
94,44	72,22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Representação matricial do mapa apresentado na figura 4, revelando os valores em porcentagem (%) que correspondem à probabilidade de cada ponto estar associado à região corpórea. Conforme a codificação de cores: laranja = olhos, rosa = cauda, verde = vibrissas, amarelo = pata posterior, azul = pata anterior e vermelho – musculatura cervical.

Gráfico 1. Mapa funcional motor probabilístico tridimensional.

Gráfico tridimensional ilustrando as áreas responsivas à estimulação elétrica cortical. O assoalho do gráfico (0%) corresponde à área exposta pela craniotomia à direita, partindo da linha mediana. O eixo vertical (0 -100%) mostra a probabilidade de cada coordenada evocar resposta motora em determinada região do corpo quando submetida à estimulação elétrica pontual. O = Olhos, C = Cauda, V = Vibrissas, PP = Pata Posterior, PA = Pata Anterior e P = Musculatura Cervical.

Limiar motor

O limiar motor foi calculado para a área cortical motora correspondente à pata posterior bilateralmente em 12 animais. Os valores da voltagem correspondente ao limiar motor de cada lado foram agrupados e comparados com o contralateral. O gráfico 2 representa os valores médios $\pm$ E.P.M. em volts de cada lado. Como ilustração a voltagem utilizada nos experimentos foi inserida no gráfico (coluna 1).

Gráfico 2. Limiares motores para as patas posteriores.

Representação da voltagem utilizada para estimulação do córtex motor (1V), na primeira coluna, e, sequencialmente os valores do limiar motor para as patas posteriores à direita (4.0 ± 0.15) à esquerda (3.9 ± 0.13) em 12 animais. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores do limiar (V) entre os lados (Teste t, $p=0,844$). Linhas transversas correspondem à média e aos E.P.M.

Efeito comportamental da estimulação cortical

Com o intuito de investigar se o procedimento cirúrgico alterava o limiar nociceptivo, os animais do grupo controle não-operados e os submetidos ao implante de eletródios, antes e depois do procedimento foram avaliados com o teste de pressão da pata. Não houve alteração significativa do limiar nociceptivo nos animais operados em relação a si mesmos antes do implante e dos animais do grupo controle, não-operados (Gráfico 3).

Gráfico 3. Limiares nociceptivos em gramas (g) em animais operados sem estimulação.

Representação gráfica das médias $\pm$ E.P.M. do teste de pressão plantar, limiar nociceptivo em gramas (g), do estímulo aplicado a ambas as patas posteriores em nove animais antes e após o implante (barras negras) e nos seis animais do grupo controle, não-operados (barras claras). Não houve diferença estatisticamente significativa entre ambas as patas nas duas situações, ilustrando que procedimento cirúrgico não alterou o limiar nociceptivo ($p=0,3114$). PD = pata direita, PE = pata esquerda.

Os animais submetidos a implante de eletródio sobre a área cortical motora direita e correspondente à pata posterior esquerda foram estimulados durante 15 min, ao final dos quais e, ainda sob estimulação elétrica forem submetidos ao teste de pressão plantar aplicado a ambas as patas posteriores. Os valores dos limiares nociceptivos estão relacionados na tabela 2 e representados no Gráfico 4A. Observou-se aumento de 34,7% do limiar nociceptivo na pata esquerda durante a estimulação em relação ao lado oposto ($p=0,0026$).

Tabela 2. Limiar nociceptivo em gramas (g) de pressão no teste plantar antes e durante a estimulação do córtex motor direito.

	Antes da estimulação	Durante a estimulação	
Pata esquerd	70,17±3,70	70,15±3,64	Controle
Pata direit	67,38±3,61	69,14±3,16	
Pata esquerd	67,26±3,53	90,63±4,76*	ECM
Pata direit	64,23±1,21	74,32±3,24	

Valores das médias±E.P.M. dos limiares nociceptivos em gramas (g) em oito animais com implantes de eletródios sobre o córtex motor direito e em seis controles. (*) medida que apresentou diferença estatística em relação às outras (ANOVA; $p=0,0026$).

Gráfico 4A. Limiares nociceptivos de teste de pressão plantar em animais submetidos a implante cortical à direita.

Representação gráfica dos limiares nociceptivos do teste de pressão plantar em ambas as patas posteriores dos animais submetidos a implante do lado direito ($n=8$) comparados com o grupo controle ($n=6$). Houve aumento no limiar nociceptivo apenas na pata esquerda durante a estimulação, sem alteração do limiar da pata ipsilateral à estimulação. Dados expressos em média $\pm$ E.P.M. (*) medida que apresentou diferença estatística em relação às outras (ANOVA $p=0,0026$). ECM = estimulação cortical motora, PD = pata direita, PE = pata esquerda.

Ocorreu aumento de 29,8% do limiar nociceptivo na pata direita nos animais submetidos a estimulação do córtex motor esquerdo. No gráfico 4B apresentam-se os limiares nociceptivos das patas contralaterais à estimulação do córtex motor esquerdo. As médias e E.P.M. nociceptivos dos valores dos limiares estão relacionadas na Tabela 3.

Gráfico 4B. Limiares nociceptivos em gramas (g) de teste de pressão plantar em animais submetidos a implante cortical à esquerda.

Representação gráfica dos limiares nociceptivos em gramas de teste de pressão plantar aplicados nas patas posteriores dos animais submetidos a implante de eletródio do lado esquerdo (n=8) comparados com o grupo controle (n=6). Houve aumento no limiar nociceptivo apenas na pata direita durante a estimulação, mas não do limiar da pata ipsilateral à estimulação. Dados expressos em média $\pm$ E.P.M. (*) medida que apresentou diferença estatisticamente significativa em relação às demais ($p < 0,041$, ANOVA) ECM = estimulação cortical motora, PD = pata direita, PE = pata esquerda.

Tabela 3. Limiar nociceptivo em gramas (g) de pressão no teste plantar antes e durante a estimulação do córtex motor esquerdo.

	Antes da estimulação	Durante a estimulação	
Pata esquerda	69,03 $\pm$ 3,21	69,17 $\pm$ 3,16	Controle
Pata direita	68,24 $\pm$ 1,85	68,19 $\pm$ 3,83	
Pata esquerda	66,32 $\pm$ 1,07	65,15 $\pm$ 1,68	ECM
Pata direita	66,74 $\pm$ 0,96	86,67 $\pm$ 3,63*	

Valores das médias $\pm$ E.P.M. dos limiares nociceptivos em gramas (g) dos oito os animais com implante no lado esquerdo e em seis do grupo controle. (*) medida que apresentou diferença estatisticamente significativa em relação às demais (ANOVA; $p < 0,041$).

O mesmo teste foi realizado em três momentos em ambas as patas posteriores nos animais com implante crônico na área cortical motora esquerda: logo antes do início, durante (15 min) e 15 min após o término da estimulação. O resultado coincidiu com o efeito obtido em outros grupos, ou seja, ocorreu aumento significativo do limiar nociceptivo durante a estimulação em relação ao período precedente a ela e que retornou aos níveis basais quando o teste foi realizado 15 min após o cessar da estimulação (Gráfico 5).

Gráfico 5. Limiares nociceptivos de teste de pressão plantar em animais submetidos a implante cortical à esquerda.

Representação gráfica da média dos $\pm$ E.P.M. dos limiares nociceptivos em gramas (g) do teste de pressão da pata em um grupo de seis animais, antes do início da estimulação cortical motora esquerda; durante a estimulação e 15 min após o término da estimulação. Ocorreu elevação do limiar nociceptivo durante a estimulação e anulação após o seu término. (*) medidas que apresentaram diferenças estatisticamente significativas em relação às medidas iniciais e finais (ANOVA; $p=0,0024$). PD = pata direita, PE = pata esquerda.

Não ocorreu modificação significativa nos limiares nociceptivos em animais submetidos à estimulação dos corticais parietal posterior (Gráfico 6) e ou sensitivo (Gráficos 7 e 8).

Gráfico 6. Limiares nociceptivos de teste de pressão plantar em animais submetidos a implante no córtex parietal posterior.

Representação gráfica da média dos $\pm$ E.P.M. dos limiares nociceptivos em gramas (g) do teste de pressão da pata submetidos ao implante de eletródio no córtex parietal ($n=7$) comparados com grupo controle ($n=5$). Não houve diferença entre o limiar nociceptivo antes e durante a estimulação do córtex parietal direito, nas patas ipsi e contralateral à estimulação. Dados expressos em média $\pm$ E.P.M. ($p=0,74$, ANOVA). ECP = estimulação cortical parietal, PD = pata direita, PE = pata esquerda.

Gráfico 7. Limiares nociceptivos de teste de pressão plantar em animais submetidos a implante no córtex sensitivo.

Representação gráfica dos valores médios $\pm$ E.P.M. dos limiares nociceptivos em gramas (g) do teste de pressão da plantar aplicado a ambas as patas posteriores de sete animais submetidos a implante de eletródio no córtex sensitivo e em seis do grupo controle. Não ocorreram diferenças estatisticamente significativas entre os limiares nociceptivos antes e durante a estimulação nas patas posteriores ipsi e contralateral à estimulação (ANOVA; $p=0,79$). PD = pata direita, PE = pata esquerda.

Gráfico 8. Latência da retirada da cauda em animais submetido a implante no córtex sensitivo

Representação gráfica dos valores médios $\pm$ E.P.M. dos tempos de reação em segundos (s) no teste de retirada da cauda aplicados a sete animais submetidos a implante de eletródio no córtex sensitivo e em seis do grupo controle. Não ocorreram diferenças entre os limiares nociceptivo antes e durante a estimulação. (ANOVA; $p=0,76$).

Os animais estimulados expressaram o mesmo comportamento motor de exploração do ambiente tanto quanto na locomoção horizontal (número de vezes que atravessaram as linhas de demarcação) quanto à elevação das patas anteriores do solo durante os 3 min de observação e que os animais do controle no teste de campo aberto, conforme demonstrado no Gráfico 9.

Gráfico 9. Número de contagens de eventos no teste de campo aberto de animais com implante no córtex motor

Representação gráfica da atividade geral de animais durante a estimulação do córtex motor de acordo com o teste de campo aberto durante 3 min, ou seja, locomoção e elevação do tronco de oito animais comparados a seis do grupo controle (não-operados). Não houve diferenças estatisticamente significativas quanto às médias $\pm$ E.P.M. atividade geral dos animais entre ambos os grupos (ANOVA; $p=0,258$).

O efeito da estimulação cortical motora também foi avaliado pelo teste de retirada reflexa da cauda (*tail flick reflex*). Não houve diferença estatisticamente significativa quanto ao tempo de reação nas três situações, antes, durante o período de estimulação de 15 minutos e 15 min após o seu

término, nos animais operados em comparação ao grupo controle, conforme revela o Gráfico 10.

Gráfico 10. Latência para a retirada da cauda em animais submetidos a implante no córtex motor.

Representação gráfica das médias $\pm$ E.P.M. do tempo de reação observado no teste de retirada da cauda antes, durante e 15 minutos após o término da estimulação do córtex motor em doze animais operados e em dez do grupo controle ($n=10$). Não houve diferença estatisticamente significativa nos tempos de latência em todos os momentos avaliados. (ANOVA; $p<0,55$).

Nos animais submetidos à estimulação do córtex motor à esquerda, foi utilizada naloxona para antagonizar receptores opióides. Trinta minutos após a injeção de naloxona ou salina (controles) na pata contralateral (direita) ou ipsilateral (esquerda), os animais foram submetidos ao teste plantar aplicado em ambas as patas com revela a figura 11A. Houve reversão do efeito antinociceptivo na pata contralateral quando a injeção intraplantar foi feita nesta mesma pata ou na pata ipsilateral à estimulação (figura 11B). A estimulação do córtex motor em animais submetidos à injeção de solução

salina na pata (grupo controle) reproduziu o efeito antinociceptivo dos demais grupos previamente determinado. As medidas de ambos os grupos antes da estimulação mantiveram limiares semelhantes, revelando que a presença de naloxona não alterou os limiares de nocicepção antes da estimulação.

Gráfico 11A. Limiares nociceptivos de teste de pressão plantar em animais submetidos a implante no córtex motor 30 min após injeção de naloxona na pata contralateral à estimulação.

Representação gráfica das médias $\pm$ E.P.M. dos limiares nociceptivos (g) do teste de pressão plantar aplicado nas patas posteriores antes e durante a estimulação cortical motora esquerda em animais submetidos a implante de eletródio no córtex motor esquerdo, sendo sete, tratados com injeção intraplantar de naloxona à direita e quatro, com solução salina 30 minutos antes da execução da avaliação. (*) medida que apresentou diferença estatisticamente significativa em relação às demais. Ocorreu reversão do efeito antinociceptivo nos animais tratados com naloxona e manutenção do efeito antinociceptivo os animais do grupo controle. O limiar nociceptivo antes da estimulação em ambas as patas e na pata ipsilateral ao estímulo não apresentaram alterações. (ANOVA; $p=0,002$). PD = pata direita, PE = pata esquerda.

Gráfico 11B. Limiares nociceptivos de teste de pressão plantar em animais submetidos a implante no córtex motor 30 min após injeção de naloxona na pata ipsilateral à estimulação.

Representação gráfica das médias $\pm$ E.P.M. dos limiares nociceptivos o teste de pressão plantar aplicada a ambas as patas posteriores de animais antes e durante a estimulação cortical motora esquerda, sendo seis tratados com injeção intraplantar esquerda de naloxona e quatro, com solução salina 30 minutos antes da avaliação. Os animais tratados com naloxona apresentaram reversão do efeito antinociceptivo e os do grupo controle mantiveram-no (ANOVA; $p < 0.001$). PD = pata direita, PE = pata esquerda ECM= estimulação do córtex motor.

Registro da atividade neuronal

Após adaptação dos equipamentos de registro, amplificação e gravação dos sinais foi necessário ajustar de aterramento dos equipamentos e do animal e o seu melhor posicionamento para reduzir o ruído ambiental e melhorar a relação sinal/ruído, pois os potenciais de ação apresentam voltagem diminuta. Os oito animais operados fossem registrados e forneceram do dados para a pesquisa. A anestesia geral foi satisfatória e possibilitou estabilidade para o registro neuronal. A análise visual e auditiva durante os experimentos foi importante tanto para guiar os alvos pretendidos, como para identificar em tempo real os eventos, uma vez que as análises mais detalhadas foram realizadas posteriormente. O sinal gravado foi nomeado e organizado de tal modo que foi possível traçar correlação com os eventos do momento do experimento. A análise matemática dos momentos contendo o sinal original permitiu que as unidades neuronais fossem separadas mesmo presentes no mesmo canal de registro o que possibilitou aferição da frequência de disparos, ou seja, a medida de atividade neuronal. Foi possível individualizar 126 neurônios, 26 no CM, 66 no VPL e 34 na SPM nos oito animais operados.

Substância periaquüdutal do mesencéfalo

Os neurônios individualizados apresentavam uma frequência basal média de $13,34 \pm 1,47$ e extremos de frequência de 0,9 a 36,2Hz. Conforme a tabela 4, a estimulação cortical motora ipsilateral relacionou-se a um aumento significativo da frequência de disparos dos neurônios da SPM, aumento este que também se manteve mesmo pós a parada da estimulação (figura 6). Este período de aumento da resposta neuronal apresentou a duração em média de $46,65 \pm 11,61$ s, no entanto atingindo até 160 s; até que retornasse à atividade basal. Por outro lado, a estimulação do córtex motor contralateral não causou alteração significativa da frequência de disparos dos mesmos neurônios. A tabela 4 revela os valores das médias das frequências durante cada momento de registro neuronal. As médias são comparadas com a frequência basal (antes da estimulação).

Figura 6. Resposta neuronal à estimulação do córtex motor na substância periaquedutal mesencefálica.

A- Valores da frequência em Hz de disparos de três unidades neuronais ao longo do tempo, correlacionado com o respectivo segmento do sinal original. Ocorre um aumento da frequência em duas das unidades e o aparecimento de outra unidade neuronal a partir de momento da estimulação e seu retorno aos valores basais. B- Segmento de sinal original, mostrando os disparos ao longo do tempo e o artefato de estimulação. C- Segmento original mostrando a possibilidade de detecção de unidades neuronais durante o período de estimulação.

Tabela 4. Efeito da estimulação cortical na atividade neuronal da substância periaquedutal mesencefálica.

SPM		Média±E.P.M.	N=34
	Antes	13,34±1,47 Hz	
Estimulação Ipsilateral	Durante	38,59±3,48 Hz	P < 0.001
	Após	35,34±3,15 Hz	P < 0.001
Estimulação Contralateral	Durante	16,77±1,57 Hz	P > 0.05
	Após	14,99±1,23 Hz	P > 0.05

Média± E.P.M. da frequência de disparos (em Hz) de 34 unidades neuronais em oito animais antes, durante e após a estimulação do córtex motor. As diferenças foram estatisticamente significativas em relação aos valores anteriores à estimulação. (ANOVA; $p < 0,05$).

Gráfico 12. Representação gráfica de frequência dos potenciais de ação antes, durante e após a estimulação elétrica do córtex motor ipsilateral na atividade neuronal da substância periaquedutal mesencefálica.

Frequência (em Hz) de disparos dos neurônios da substância cinzenta periaquedutal mesencefálica durante e após a estimulação do córtex motor. Ocorreu significativa diferença em relação ao ritmo basal prévio à estimulação.

Figura 7. Análise *wavelet* em segmento de registro multiunitário substância cinzenta periaquedutal mesencefálica.

A- Segmento de registro original da SPM antes da estimulação cortical. B- Unidades neuronais individualizadas (média das curvas dos potenciais de ação). C- Potenciais de ação em número absoluto. D- Método de mudança da sensibilidade de detecção e diferenciação dos potenciais de ação seguido do cálculo do intervalo entre eventos.

Figura 8. Análise *wavelet* em segmento de registro multiunitário substância cinzenta periaquedutal mesencefálica.

A- Segmento de registro original da SPM após a estimulação cortical. B- Unidades neuronais individualizadas (média das curvas dos potenciais de ação). C- Potenciais de ação em número absoluto. D- Método de mudança da sensibilidade de detecção e diferenciação dos potenciais de ação seguido do cálculo do intervalo entre os eventos.

Gráfico 13. Representação gráfica das freqüências dos potenciais de ação nos neurônios antes, durante e após a estimulação contralateral do córtex motor na atividade neuronal da substância cinzenta periaquedutal mesencefálica.

Análise comparativa do resultado da estimulação do córtex motor contralateral na freqüência de disparos neuronais da substância periaquedutal nos períodos durante e após a estimulação com significativa diferença em relação ao ritmo basal (antes). A tabela 4 mostra os valores das médias e o nível de significância.

Figura 9. Localização dos pontos de registro no mesencéfalo.

Representação dos cortes coronais de cérebro de rato, na região do mesencéfalo, organizados pela distância do bregma em milímetros. Trajeto dos eletródios de registro multicelular baseado em controle histológico. A atividade neuronal foi estudada desde a superfície do córtex cerebral e colículos superiores como método de localização intra-operatório do alvo. Visualiza-se a SPM em torno do aqueduto cerebral.

Núcleo centromediano do tálamo

Os neurônios individualizados no núcleo CM do tálamo apresentaram uma frequência de atividade basal média de $35,72 \pm 4,59$ Hz. Houve unidades que dispararam nos extremos de frequência de 1,4 a 78,4 Hz. Conforme a tabela 5 e os gráficos 14 e 15, a estimulação cortical motora ipsilateral e

contralateral relacionou-se à diminuição significativa da frequência de disparos dos neurônios do CM. Houve tendência de retorno rápido aos níveis basais de atividade, destes neurônios; no período imediatamente após o término da estimulação ocorreram diferenças na frequência da atividade. Este período teve a duração em média de $13,2 \pm 3,45$ s até o retorno à atividade basal.

Tabela 5. Atividade neuronal nos núcleos centromediano do tálamo (em Hz) a antes, durante e após a estimulação cortical. Houve diferenças estatisticamente significativas entre os valores em relação ao período precedente à estimulação.

CM		Média±E.P.M.	N=26
	Antes	35,72±4,59 Hz	
Estimulação Ipsilateral	Durante	9,62±2,53 Hz	P < 0.001
	Após	21,23±2,87 Hz	P < 0.01
Estimulação Contralateral	Durante	13,23±1,89 Hz	P < 0.001
	Após	34,82±4,35 Hz	P > 0.05

Média± E.P.M das frequências de disparos (em Hz) de 26 unidades neuronais individualizadas em oito animais. (ANOVA; $p < 0,05$) comparação das médias dos períodos durante e após com a média antes da estimulação.

Gráfico 14. Representação gráfica das frequências (em Hz) dos potenciais de ação nos neurônios do núcleo centromediano do tálamo antes, durante e após o efeito da estimulação do córtex motor ipsilateral na atividade neuronal do núcleo.

Frequência de disparos neuronais (em Hz) do núcleo centromediano do tálamo antes, durante e após estimulação do córtex motor ipsilateral. Ocorreu diferença estatisticamente significativa durante e após a estimulação em relação ao ritmo basal e tendência de retorno às frequências basais.

Gráfico 15. Representação gráfica das frequências (em Hz) dos potenciais de ação nos neurônios do núcleo centromediano do tálamo antes, durante e após estimulação do córtex motor contralateral.

Frequência de disparos neuronais (em Hz) do núcleo centromediano do tálamo antes, durante e após estimulação do córtex motor contralateral. Ocorreu diferença estatisticamente significativa durante, mas não após a estimulação em relação ao ritmo basal (antes).

Núcleo ventral póstero-lateral do tálamo

Os neurônios individualizados no núcleo ventral póstero-lateral apresentaram uma frequência basal média de $38,92 \pm 2,58$ Hz e unidades disparando nos extremos de frequência variando de 2,6 a 78,1 Hz. Conforme revela a tabela 6 e o gráfico 16, durante a estimulação do córtex motor ipsilateral ocorreu diminuição significativa da frequência de disparos dos neurônios do VPL, que se manteve durante curto período de tempo após o término da estimulação. Este período apresentou duração em média de $22,1 \pm 4,8$ s até o retorno à atividade basal. No entanto, a estimulação do

córtex motor contralateral não se modificou significativamente a frequência de disparo dos mesmos neurônios (gráfico 17).

Tabela 6. Atividades neuronal do núcleo ventral pósterio-lateral do tálamo antes, durante e após estimulação do córtex motor ipsi e contralateral.

VPL		Média±E.P.M.	N=66
	Antes	38,92±2,58 Hz	
Estimulação Ipsilateral	Durante	22,08±1,75 Hz	P < 0.001
	Após	26,01±1,58 Hz	P < 0.001
Estimulação Contralateral	Durante	35,81±2,36 Hz	P > 0.05
	Após	32,04±1,74 Hz	P > 0.05

Média± E.P.M. (em Hz) dos valores da frequência de disparos neuronais de 66 unidades neuronais individualizadas em oito animais na comparação das médias com a média antes da estimulação. (ANOVA; p<0,05)

Gráfico 16. Representação gráfica das frequências (em Hz) dos potenciais de ação nas unidades dos neurônios do núcleo ventral póstero-lateral do tálamo antes, durante e após estimulação do córtex motor ipsilateral na atividade neuronal.

Frequência de disparos neuronais do núcleo ventral póstero-lateral do tálamo antes, durante e após a estimulação do córtex motor ipsilateral. Ocorreu diferença estatisticamente significativa durante estimulação. Essa se manteve durante o período imediatamente após o término da estimulação.

Gráfico 17. Apresentação gráfica das frequências (em Hz) dos potenciais de ação dos neurônios do núcleo ventral pósterolateral do tálamo antes, durante e após a estimulação do córtex motor contralateral.

Frequência de disparos neuronais no núcleo ventral pósterolateral do tálamo, antes, durante e após estimulação do córtex motor contralateral. Ocorreu diferença estatisticamente significativa durante e após a estimulação em relação ao ritmo basal (antes).

Figura 10. Localização dos pontos de registro no tálamo

Representação dos cortes coronais de cérebro de rato, na região do tálamo, organizados pela distância do bregma em milímetros. Trajeto dos eletródios de registro multicelular baseado em controle histológico. A atividade neuronal foi estudada desde a superfície do córtex cerebral, passando pelo núcleo ventral pósteromedial, até o núcleo ventral pósterolateral. O núcleo centromediano encontra-se na projeção abaixo do terceiro ventrículo.

DISCUSSÃO

Apesar de inconsistentes, vários locais do neuroeixo foram propostos para justificar a estimulação elétrica com finalidade analgésica. Dentre eles, destacam-se o tálamo (Gybels, 2001; Kupers e Gybels, 1993), camadas profundas do colículo superior (Soper, 1976), a substância cinzenta periaquedutal mesencefálica (Mayer et al., 1971), o giro do cíngulo (Fuchs et al., 1996), a substância cinzenta periventricular (Young e Chambi, 1987) e a medula espinal. Entretanto, não há evidências satisfatórias que justifiquem o mecanismo analgésico da estimulação elétrica do neocórtex, particularmente do córtex pré-frontal medial (Hardy, 1985), SII (área somestésica secundária) (Kuroda et al., 2001) e córtex motor. Os trabalhos realizados por Tsubokawa e colaboradores (Tsubokawa et al., 1990; Tsubokawa et al., 1991) no início da década de 1990 demonstraram que a estimulação do córtex motor, em animais e humanos, proporciona melhora na sensação de dor e alodínea em diferentes síndromes dolorosas neuropáticas. No entanto, o mecanismo envolvido nesse efeito anti-nociceptivo não foi esclarecido. Além do estudo de Namba e Nishimoto (1988), que motivou sua aplicação clínica, outras investigações fisiopatológicas não foram realizadas até recentemente, possivelmente devido a dificuldade para desenvolvimento de modelos animais para simular a estimulação epidural de córtex motor. Foi realizado um estudo em modelo animal de dor crônica por desaferentação periférica (Rusina et al., 2005) e outro relacionando registros eletrofisiológicos da medula espinal com estimulação cortical (Senapati et al., 2005b). Esses autores, porém, utilizaram estimulação intracortical, o que difere das propostas de tratamento possíveis de serem utilizadas em seres

humanos, nos quais se utiliza estimulação epidural sem necessidade de penetração cortical. Portanto, um dos objetivos deste trabalho foi o de criar um modelo animal de estimulação elétrica epidural do córtex cerebral que fosse implantável para ser utilizado em preparações agudas ou crônicas em animais normais ou com síndromes dolorosas induzidas experimentalmente. Foi selecionado o rato Wistar devido à sua grande disponibilidade em nosso meio, por ser objeto de avaliação comportamental sobre nocicepção por métodos tradicionalmente descritos e por ser animal adequado para realizações de procedimentos estereotático no encéfalo e na medula espinal. O procedimento destinado ao implante de eletródios para estimulação transdural do córtex cerebral padronizado neste estudo é relativamente simples e rápido pois possibilita a realização de preparações em cerca de 40 minutos por animal, peculiaridade importante pois para aplicar a metodologia de avaliação comportamental, muitas vezes são necessárias intervenções envolvendo de 6 a 12 animais em um mesmo experimento, para eliminar os vieses ambientais que ocorrem quando os procedimentos comportamentais são realizados em momentos diferentes. O eletródio desenvolvido para a realização do presente estudo tem a superfície de estimulação proporcional a dos eletródios disponíveis para estimulação epidural do córtex motor no ser humano. O método de estimulação epidural é menos invasiva que a subdural ou intracortical, evita a penetração do córtex cerebral por eletródios pontiagudos, ato que pode provocar hemorragia e necrose do tecido cerebral circunjacente. A estimulação cortical epidural tem, porém, a desvantagem de ser menos focal, levando à necessidade de utilização de correntes de baixa intensidade que influenciem

apenas as circunstâncias dos eletródios, particularmente do cátodo, que é a fonte de elétrons.

O local da estimulação também necessitou ser determinado para este modelo. Apesar de diminuto o córtex cerebral do rato Wistar é muito semelhante ao dos primatas não-humanos (Sherrington, 1952) ou humanos (Penfield, 1954), pois expressa funções como a topografia cortical sensitiva e motora (Brecht et al., 2004; Gu et al., 1999; Kleim et al., 1998; Leergaard et al., 2004). No entanto, os mapas do córtex motor disponíveis e foram fundamentados em animais de outra raça (Sprague-Dawley) e basearam-se em estimulações intracorticais. Foi portanto necessário elaborar-se um mapa cortical com estimulação elétrica cortical transdural para reproduzir a área efetivamente ativada durante os experimentos de avaliação do limiar de dor. Observou-se que houve marcante concordância entre a localização das áreas motoras correspondentes às vibrissas, às patas e musculatura cervical evidenciadas durante a elaboração do presente trabalho em relação aos mapas corticais de rato disponíveis (Brecht et al., 2004; Gu et al., 1999; Kleim et al., 1998; Leergaard et al., 2004). No entanto, a área relacionada à motricidade ocular foi muito restrita e localizou-se na região do córtex cerebral medial e anterior ao bregma. No trabalho de Brecht et al. (2004) em que foi realizado mapeamento cortical com estímulos aplicados na profundidade do córtex cerebral evidenciou-se que a área responsável por esta função localizou-se na face interhemisférica do córtex próximo ao corpo caloso e, portanto subjacente à área encontrada no presente estudo. Como a estimulação foi realizada no compartimento epidural, a região interhemisférica não foi acessada apropriadamente, o que justifica essa

discordância entre achados, fato que não interferiu nos resultados do presente trabalho, pois a motricidade ocular não foi objeto da avaliação. Foi também delineada área nitidamente relacionada à motricidade da cauda, achado que não é descrito com clareza em estudos prévios. O mapa do córtex motor descrito apresentou percentagem de respostas em cada ponto do córtex estimulado, o que refletiu a probabilidade de evocação de reação motora em determinado segmento corpóreo conforme a coordenada da superfície cortical. O método possibilitou determinar o local para o implante dos eletródios na região onde 100% dos animais apresentaram movimento da pata posterior como resposta à estimulação.

Um grupo de animais foi submetido a ensaio para determinar-se a voltagem apropriada a ser utilizada durante os experimentos de estimulação visando à análise da possível ação analgésica. Foram inicialmente utilizadas correntes com voltagens mais elevadas (2,0 V), o que gerou aumento do limiar nociceptivo com valor superior ao observado nos experimentos desenvolvidos ao longo do presente estudo. Ulteriormente, optou-se por utilizar corrente com 1,0 V que induz elevação do limiar nociceptivo a valores semelhantes aos da morfina em animais avaliados pelos mesmos testes (Morgan et al., 2006). É provável que haja relação proporcional entre o aumento da intensidade da estimulação e a magnitude do efeito antinociceptivo de modo progressivo até o momento em que a seletividade do método seja comprometida em relação à topografia cortical ou à ocorrência de contrações musculares. A estimulação do córtex motor com correntes de 1 V foi relacionada à indução do efeito antinociceptivo e não

causou contração muscular ou convulsão, possivelmente porque a intensidade situava-se abaixo do limiar motor. No entanto, há dificuldade de se quantificar o limiar motor em animais despertos por conta da variabilidade observada no mesmo animal e entre este e os demais que é bastante elevada tal como relatado por Ward (1952). Provavelmente esta variação relaciona-se à atividade espontânea dos animais, o que em ratos é imprevisível. Esta foi a razão de ter sido quantificado o limiar em animais anestesiados durante a realização do presente trabalho.

Embora este modelo de estimulação cortical tenha sido desenvolvido para investigar-se o mecanismo analgésico da estimulação cortical motora visando a tratar a dor neuropática, optou-se pela utilização de animais intactos pois, desta modo tornar-se-ia possível investigar a provável ocorrência de ativação do sistema inibidor de dor na ausência de alterações plásticas, hiperatividade neuronal (Sotgui, 1993) e alterações na expressão de receptores e proteínas celulares (Dickenson e Suzuki, 2005; Blomqvist e Craig, 2000; Dickenson et al., 1997) que, dentre outras, ocorrem em casos neuropatias. Devem ser esperadas pequenas variações no limiar nociceptivo entre grupos de animais ou animais do mesmo grupo submetidos a experimentos diferentes. Portanto, é requerido número mínimo de animais por grupo para poder se contemplar a análise estatística e considerar como foi realizado durante a execução do presente estudo. Podem haver variações nos valores absolutos dos limiares nociceptivos em casuísticas diferentes como consequência de diferenças sutis entre os grupos de animais e entre as condições ambientais portanto para cada grupo de experimentos foi controlado em todas suas etapas.

O limiar nociceptivo no teste de pressão plantar aplicado nas patas dos animais antes da estimulação foi semelhante aos animais do grupo controle em todos os experimentos em que este teste foi utilizado. Não se observou alteração do limiar nociceptivo de acordo com o teste de pressão plantar nos animais normais sem manipulação e aqueles que receberam o implante de eletródio, antes da realização de estimulação, o que indica que o implante não alterou temporária ou permanentemente o limiar de dor.

Foi observada a elevação do limiar nociceptivo nos testes de pressão plantar aplicado de pata posterior contralateral ao córtex motor estimulado em todos os grupos do estudo. Pôde-se portanto concluir que o efeito foi relacionado aos padrões topográficos da área cortical motora. Apesar de haver projeções ipsilaterais do trato corticoespinal e amplas conexões bidirecionais em espelho entre córtex motor de ambos os hemisférios cerebrais, não foi observado alteração do limiar nociceptivo na pata homolateral ao encéfalo estimulado. O efeito da estimulação tende a restringir-se à região localizada na proximidade do pólo negativo, pois é nele que se localiza a maior densidade de corrente, o que, o torna o naturalmente o local em que há mais influência da estimulação elétrica. Experimentos visando a melhorar o detalhamento topográfico do efeito da estimulação não foram ainda realizados mas deverão sê-lo futuramente, uma vez que é possível que a resolução topográfica do mapa motor potencialmente poderá possibilitar manipulações e implantes em regiões corticais ao controle funcional a outras áreas do corpo ainda não exploradas. Os testes de campo aberto não revelaram qualquer alteração mensurável que sugerisse disfunções motoras para a locomoção horizontal ou para elevação das patas

anteriores e do corpo. O teste de retirada reflexa da cauda não foi afetado pela estimulação cortical, fato que corrobora achados de Rusina et al. (2005). Há entretanto relatos de inequívoco aumento da latência desse teste com estimulação aplicada a outros locais (Hardy, 1985; Zhang et al., 1997). Duas possibilidades podem ser apontadas. Uma delas sugere que a estimulação do córtex motor não altera a latência da retirada da cauda pois não influencia, diferentemente do que ocorre quando são estimulados os córtices pré-frontal e órbito-frontal (Hardy, 1985; Zhang et al., 1997). A segunda possibilidade sustenta-se no conceito sobre topografia do córtex motor, o que está de acordo com os achados do mapeamento motor elaborado por Sherrington (1952) em gatos e primatas, por Penfield (1954) em seres humanos e em ratos por outros autores (Brecht et al., 2004; Gu et al., 1999; Kleim et al., 1998; Leergaard et al., 2004). A distribuição topográfica não é observada em regiões do córtex cerebral relacionadas ao processamento não-discriminativo da dor, como a amígdala, o giro do cíngulo, a ínsula e o córtex pré-frontal. Apesar da área da pata posterior ser adjacente à área cortical motora responsável pela movimentação da cauda, o efeito foi visto apenas na pata. É, portanto, possível que a estimulação exerça efeito circunscrito o suficiente para influenciar apenas a área da pata. O fato de a estimulação do córtex sensitivo, adjacente à área motora, e de o córtex parietal posterior não ter proporcionado alteração no limiar nociceptivo também corroborou esta hipótese. Esta possibilidade sugere que haja especificidade do local de estimulação, acompanhando a própria característica discriminativa da função motora.

A reversibilidade do efeito é uma das propriedades da neuroestimulação que também foi evidenciada no presente estudo, houve retorno aos limiares nociceptivos iniciais após período com duração aproximada de 15 min após o término das estimulações. Essa característica da neuroestimulação também foi descrita em outras condições, como, por exemplo, no controle do tremor e outros sintomas em doentes submetidos a implantes de eletrodos para estimulação encefálica profunda (Starr et al., 1998). A presença do soquete de conexão e a estimulação do córtex motor nos moldes adotados para realização do presente não acarretaram alterações motoras ou comportamentais durante o período em que os animais permaneceram no biotério climatizado ou durante a fase de estimulação. Não ocorreram estresses adicionais capazes de induzir agressividade ou isolamento, alterações do padrão alimentar ou de ingestão de água.

Não houve perda de animais após a recuperação da anestesia geral. Poucos animais apresentaram desconexão do soquete de estimulação e não puderam ser incluídos nos protocolos de testes comportamentais.

Quando se injetou, naloxona, substância opióide antagonista inespecífico, na pata contralateral ao córtex estimulado, houve reversão do efeito analgésico. No entanto, nessa fase não foi possível determinar se o efeito antagônico era localizado apenas na pata ou sistêmico. A injeção de naloxona na pata ipsilateral ao córtex estimulado causou reversão do efeito na pata contralateral ao do córtex estimulado, o que se deveu provavelmente ao efeito sistêmico da medicação. A naloxona apresenta boa penetração através da barreira hemato-encefálica e, portanto, distribuiu se

no SNC como um todo, assim como nos tecidos periféricos. Esses resultados não possibilitaram, entretanto, definir os locais ou as vias específicas envolvidas no mecanismo da analgesia. Possibilitou sugerir que o efeito havia sido mediado por receptores opióides, ou seja, deve envolver a SPM, pois este é um dos núcleos mais relacionados ao mecanismo de supressão da dor no ao sistema opióide endógeno.

É provável que sejam induzidas alterações plásticas nas células que permaneceram ao longo do tempo sob a influência da corrente elétrica exógena. No entanto, estudos bem controlados ainda são necessários para estabelecer se há ativação ou de bloqueio das funções celulares, nestas eventualidades, pois há uma variedade quase infinita de combinações de parâmetros de estimulação. Empiricamente sabe-se que frequências elevadas tendem a bloquear funcionalmente núcleos profundos do tálamo e subtálamo, enquanto que frequências baixas tendem a exacerbar a função da estrutura ou circuito estimulado.

O registro da atividade elétrica celular é método fundamental para mapear funcionalmente os circuitos responsáveis por funções nervosas. A técnica selecionada para a execução do presente estudo foi a do registro neuronal multiunitário, que apresenta a vantagem de poder ser realizado com eletródios maiores que os necessários para o registro unitário ou intracelular, o que facilita a execução das montagens experimentais. O método também fornece informações de maior alcance hodológico. Uma vez obtidos os sinais pelos meios eletrônicos, a análise de frequência de disparos, pode ser realizada por técnicas manuais ou instrumentais.

Optou se pela utilização de um programa computacional escrito para ambiente MatLab®, versão 6.5 disponibilizado pelos autores (Quiroga et al., 2004). Foram necessárias alterações no programa para que atuasse na versão utilizada no laboratório e gerasse as informações pertinentes ao presente estudo. A rotina foi então especialmente revisada e reescrita por Bonifácio et al. (2007) e adaptada para a versão MatLab 2007a. Deste modo, houve a possibilidade de aproveitar ao máximo os registros neuronais, individualizando várias unidades no mesmo período. Foi também possível diferenciar os artefatos de estimulação dos potenciais de ação que ocorreram durante a sua vigência. Estes artefatos são problemas importantes nos estudos eletrofisiológicos quando se realiza estimulação elétrica, mesmo a distância, como ocorreu durante a realização do presente estudo; ocorre interferência nos achados em decorrência do fato de a magnitude dos potenciais de estimulação ser muito superior que a dos potenciais de ação gerados pelos neurônios.

Os registros neuronais da SPM obtidos nas fases anterior, concomitante e subsequente à estimulação, revelaram que apenas durante sua execução ocorreu atenuação relativa da voltagem dos potenciais de ação nos neurônios lá localizados e preservação das características individuais de cada potencial. Foi particularmente expressivo o aumento da frequência dos disparos neuronais relacionados à estimulação cortical ipsilateral. Tais achados assemelham-se aos observados por Hardy (1985) com a estimulação do córtex pré-frontal. A SPM é uma das estruturas mais importantes do sistema inibidor de dor. Sua ação mediada por neurotransmissores opióides endógenos e é influenciada pelos opióides

exógenos. Apesar de as conexões anatômicas entre o córtex motor e a SPM já terem sido evidenciadas em estudos que utilizaram traçadores axonais em várias espécies animais (Newman et al., 1989; Hardy e Leichnetz, 1981), esta relação hodológica não foi divulgada quanto à interação entre as unidades neuronais motoras e o sistema supressor de dor. A demonstração de ter ocorrido marcante ativação de neurônios da SPM com os mesmos estímulos que causaram aumento do limiar de dor nos modelos comportamentais, constitui indício de que a hipótese central do presente trabalho é bem fundamentada e se deve ampliar os limites dos conceitos sobre o sistema supressor de dor. É provável que tais conexões funcionais sejam apenas unilaterais, uma vez que não houve alterações relacionadas à estimulação córtex motor contralateral. A manutenção do efeito da estimulação durante vários segundos denotou a importância da influência do córtex motor nos circuitos neuronais da SPM. Cumpre ressaltar que a SPM aparentemente apresenta disposição topográfica para induzir analgesia decorrente da estimulação elétrica localizada (Soper e Melzack., 1982). Deste modo, é provável que o córtex motor acione a SPM segundo padrão seccional, preservando a topografia inerente ao sistema motor. Esses achados corroboram aqueles em que ocorreu atenuação sensitiva e nociceptiva em voluntários simultaneamente à atividade motora voluntária e por estimulação magnética transcraniana do córtex motor (Voss et al., 2005).

A atividade dos núcleos talâmicos o específico (VPL) e inespecífico (CM) foi inibida pela estimulação do córtex motor. Apesar de os registros dos dois núcleos terem sido satisfatórios, o fato de apresentarem intensa atividade espontânea durante anestesia realizada com barbitúricos e terem

populações de neurônios volumosa durante a execução dos registros em se utilizaram eletródios confeccionados no laboratório, dificultou a interpretação dos achados. Ocorreu atenuação significativa atividade neuronal com a estimulação ipsilateral, provavelmente devido a suas características morfológicas. A magnitude dos artefatos de estimulação observados durante o estudo talâmicos foi maior do que na SPM, o que é justificado pela proximidade anatômica do córtex motor e consequentemente dos eletródios de estimulação com os alvos da atenção. A atividade do CM, por sua vez, foi inibida pela estimulação de ambos os córtices motores, o que está em consonância com suas característica de constituir ampla rede de conexões bilaterais envolvendo todo o córtex cerebral.

CONCLUSÕES

1. O modelo animal de estimulação do córtex motor proposto neste estudo mostrou-se apropriado para a aplicação dos métodos de avaliação comportamental da dor, assim como para análise dos registros neuronais multiunitários de estruturas encefálicas profundas.

2. A estimulação subliminar do córtex motor induziu analgesia reversível e seletiva, respeitando a topografia do sistema motor. O efeito foi mediado por receptores opióides e relacionou-se ao sistema supressor de dor.

3. A supressão da dor pela estimulação cortical foi relacionada à inibição dos circuitos talâmicos específicos e inespecíficos, e causou ativação prolongada dos neurônios da substância cinzenta periaquedutal do mesencéfalo.

REFERÊNCIAS

Al Amin H A, Atweh S F, Baki S A, Jabbur S J, Saade N E. Continuous perfusion with morphine of the orbitofrontal cortex reduces allodynia and hiperalgesia in a rat model for mononeuropathy. *Neurosci. Lett.* 2004; 364(1):27–31.

Albe-Fessard D, Nashold JR BS, Lombard MC, Yamaguchi Y, Boureau T. Rat after dorsal rhizotomy, a possible animal model for chronic pain. *Adv Pain Res Ther.* 1979; 3:761-6.

Amano N, Hu JW, Sessle BJ. Responses of neurons in feline trigeminal subnucleus caudalis (medullary dorsal horn) to cutaneous, intraoral and muscle afferent stimuli. *J Neurophysiol.* 1986; 55(2):227-43.

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

Andersen E, Dafny N. An ascending serotonergic pain modulation pathway from the dorsal raphe nucleus to the parafascicularis nucleus of the thalamus. *Brain Res.* 1983; 269(1):57-67.

Apkarian AV, Stevens RT, Hodge CJ. Funicular location of ascending axons of lamina I cells in the cat spinal cord. *Brain Res.* 1985; 334(1):160-4.

Arendt-Nielsen L, Petersen-Felix S. Wind-up and neuroplasticity: is there a correlation to clinical pain? *Eur J Anaesthesiol Suppl.* 1995; 10:1-7.

Backonja M, Miletic V. Responses of neurons in the rat ventrolateral orbital cortex to phasic and tonic nociceptive stimulation. *Brain Res.* 1991; 557(1-2):353-5.

Backonja M, Wang B, Miletic V. Responses of neurons in the ventrolateral orbital cortex to noxious cutaneous stimulation in a rat model of peripheral mononeuropathy. *Brain Res.* 1994; 639(2):337-40.

Baliki M, Al-Amin HA, Atweh SF, Jaber M, Hawwa N, Jabbur SJ, Apkarian AV, Saadé NE. Attenuation of neuropathic manifestations by local block of the activities of the ventrolateral orbitofrontal area in the rat. *Neuroscience.* 2003; 120(4):1093-104.

Bankoul S, Goto T, Yates B, Wilson VJ. Cervical primary afferent input to vestibulospinal neurons projecting to the cervical dorsal horn: an anterograde and retrograde tracing study in the cat. *J Comp Neurol.* 1995; 353(4):529-38.

Basbaum AI. Effects of central lesions on disorders produced by multiple dorsal rhizotomy in rats. *Exp Neurol.* 1974; 42(3):490-501.

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

Basbaum AJ, Fields HL. Endogenous pain control mechanism: review and hypothesis. *Ann Neurol*. 1978; 4(5):451-62.

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

Basbaum AI, Fields HL. Endogenous pain control systems: brainstem spinal pathways and endorphin circuitry. *Annu Rev Neurosci*. 1984; 7:309-38.

Bedbrook GM. Injuries of the thoracolumbar spine with neurological symptoms. In: Vinken PJ, Bruyn GW, editores. *Handbook of clinical neurology*. Amsterdam: North-Holland Publishing; 1976. v.25, p.437-66.

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

Berson BS, Berntson GG, Zipf W, Torello MW, Kirk WT. Vasopressin-induced antinociception: an investigation into its physiological and hormonal basis. *Endocrinology*. 1983; 113(1):337-43.

Besson P, Perl ER. Responses of cutaneous sensory units with unmyelinated fibers to noxious stimuli. *J Neurophysiol*. 1969; 39(2):1025-43.

Blomqvist A, Craig AD. Is neuropathic pain caused by the activation of nociceptive-specific neurons due to anatomic sprouting in the dorsal horn? *J Comp Neurol*. 2000 Dec 4;428(1):1-4. Review.

Blumenkopf B. Neuropharmacology of the dorsal root entry zone. *Neurosurgery*. 1984; 15(4):900-3.

Boivie J. The termination of the cervicothalamic tract in the cat: an experimental study with silver impregnation methods. *Brain Res*. 1970; 19(3):333-60.

Bonifácio R, Pereira JF, Fonoff ET. Modificação de análise matemática para individualização de potenciais de ação para MATLAB 2007a. 2007. Work in progress.

Bowsher D. Termination of the central pain pathway in man: The conscious appreciation of pain. *Brain*. 1957; 80(4):606-22.

Bowsher D. Role of the reticular formation in response to noxious stimulation. *Pain*. 1976; 2(4):361-78.

Bowsher D, Abdel-Maguid TE. Superficial dorsal horn of the adult human spinal cord. *Neurosurgery*. 1984; 15(6):893-9.

Brecht M, Krauss A, Muhammad S, Sinai-Esfahani L, Bellanca S, Margrie T. Organization of rat vibrissa motor cortex and adjacent áreas according to cytoarchitectonics, microstimulation, and intracellular stimulation, and intracellular stimulation of identified cells. *The Journal of Comp Neurol*. 2004; 479:360-373.

Broadhurst PL. The place of animal psychology in the development of psychosomatic research. *Fortschr Psychosom Med*. 1960; 1:63-9.

Brodie MS, Proudfit HK. Hypoalgesia induced by the local injection of carbachol into the nucleus raphe magnus. *Brain Res*. 1984; 291(2):337-42.

Broton JG, Rosenfeld JP. Rostral trigeminal projections signal perioral facial pain. *Brain Res*. 1982; 243(2):395-400.

Brown AG. Cutaneous axons and sensory neurons in the spinal cord. *Br Med Bull*. 1977; 33(2):109-12.

Burkey AR, Carstens E, Jasmin L. Dopamine reuptake inhibition in the rostral agranular insular cortex produces antinociception. *J Neurosci*. 1999; 19(10):4169-79.

Burkey AR, Carstens E, Wenniger JJ, Tang J, Jasmin L. An opioidergic cortical antinociception triggering site in the agranular insular cortex of the rat that contributes to morphine antinociception. *J Neurosci*. 1996; 16(20): 6612-23.

Calejesan AA, Kim SJ, Zhuo M. Descending facilitatory modulation of a behavioral nociceptive response by stimulation in the adult rat anterior cingulate cortex. *Eur J Pain*. 2000; 4:83-96.

Calvino B, Villanueva L, Bars D. Dorsal horn (convergent) neurons in the intact anaesthetized arthritic rat. I. Segmental excitatory influences. *Pain*. 1987; 28(1): 81-98.

Campbell JN, Raja SN, Cohen RH, Manning DC, Khan AA, Meyer RA. Peripheral neural mechanisms of nociception. In: Wall PD, Melzack R, editores. *Textbook of pain*. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1989. p.22-45.

Canavero S. Dynamic reverberation: a unified mechanism for central and phantom pain. *Med Hypotheses*. 1994; 42(3):203-7.

Canavero S, Bonicalzi V. Cortical stimulation for central pain. *J Neurosurg*. 1995; 83(6):1117.

Canavero S, Bonicalzi V. Therapeutic extradural cortical stimulation for central and neuropathic pain: A review. *Clin J Pain*. 2002; 18(1):48-55.

Carpenter D, Lundberg A, Norrsell U. Effects from the pyramidal tract on primary afferents and on spinal reflex actions to primary afferents. *Experientia*. 1962; 18:337-8.

Casey KL, Minoshima S, Berger KL, Koeppe RA, Morrow TJ, Frey KA. Positron emission tomographic analysis of cerebral structures activated specifically by repetitive noxious heat stimuli. *J Neurophysiol*. 1994; 71(2):802-7.

Cervero F, Iggo A. The substantia gelatinosa of the spinal cord: a critical review. *Brain*. 1980; 103(4):717-72.

Cooper SJ. Anaesthetisation of prefrontal cortex and response to noxious stimulation. *Nature*. 1975; 254(5499):439-40.

Cormier JM, Ferry J. Paralysie plexique dans les cancers du sein traités. *Nouv Presse Med*. 1974; 3(16):1000-4.

Craig AD Jr, Wiegand SJ, Price JL. The thalamo-cortical projection of the nucleus submedialis in the cat. *J Comp Neurol*. 1982; 206(1):28-48.

Cruccu G, Inghilleri M, Berardelli A, Romaniello A, Manfredi M. Cortical mechanisms mediating the inhibitory period after magnetic stimulation of the facial motor area. *Muscle Nerve*. 1997; 20(4):418-24.

Cui M, Feng Y, McAdoo DJ, Willis WD. Periaqueductal gray stimulation-induced inhibition of nociceptive dorsal horn neurons in rats is associated with the release of norepinephrine, serotonin, and amino acids. *J Pharmacol Exp Ther*. 1999; 289(2):868-76.

D'Amour FE, Smith DL. A method for determining loss of pain sensation. *J Pharmacol Exp Ther*. 1941; 72(1):74-9.

Darian-Smith I. Neural mechanisms of facial sensation. *Int Rev Neurobiol*. 1966; 9:301-95.

Davis KD, Taylor SJ, Crawley AP, Wood ML, Mikulis DJ. Functional MRI of pain- and attention-related activations in the human cingulate cortex. *J Neurophysiol*. 1997; 77(6): 3370-80.

Dennis SG, Melzack R. Pain-signalling systems in the dorsal and ventral spinal cord. *Pain*. 1977; 4(2): 97-132.

Denny-Brown D, Kirk EJ, Yanagisawa N. The tract of Lissauer in relation to sensory transmission in the dorsal horn of spinal cord in the macaque monkey. *J Comp Neurol*. 1973; 151(2):175-200.

Denny-Brown D, Yanagisawa N. The function of thees. In: Wall PD, Melzack R. *Textbook of pain*. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1989. p.63-81.

Derbyshire SW, Vogt BA, Jones AK. Pain and Stroop interference tasks activate rate processing modules in anterior cingulate cortex. *Exp Brain Res*. 1998; 118: 52–60.

Devinsky O, Morrell MJ, Vogt BA. Contributions of anterior cingulate cortex to behaviour. *Brain*. 1995; 118 (Pt 1):279-306.

Devor M, Wall PD. Effect of peripheral nerve injury on receptive fields of cells in the cat spinal cord. *J Comp Neurol*. 1981; 199(2):277-91.

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

Dickenson AH, Chapman V, Green GM. The pharmacology of excitatory and inhibitory amino acid-mediated events in the transmission and modulation of pain in the spinal cord. *Gen Pharmacol*. 1997 May;28(5):633-8. Review.

Dickenson AH, Suzuki R. Opioids in neuropathic pain: clues from animal studies. *Eur J Pain*. 2005 Apr;9(2):113-6. Review.

Doi T, Jurna I. Intrathecal substance P depresses the tail-flick response - antagonism by naloxone. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 1981; 317(2):135-9.

Drevets WC, Burton H, Videen TO, Snyder AZ, Simpson Jr JR, Raichle ME. Blood flow changes in human somatosensory cortex during anticipated stimulation. *Nature*. 1995; 373(6511):249-52.

Duggan AW, Griersmith BT, Johnson SM. Supraspinal inhibition of the excitation of dorsal horn neurones by impulses in unmyelinated primary afferents: lack of effect by strychnine and bicuculline. *Brain Res*. 1981; 210(1-2):231-41.

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

Fang X, McMullan S, Lawson SN, Djouhri L. Electrophysiological differences between nociceptive and non-nociceptive dorsal root ganglion neurones in the rat in vivo. *J Physiol*. 2005 Jun 15;565(Pt 3):927-43. Epub

2005 Apr 14

Feine JS, Chapman CE, Lund JP, Duncan GH, Bushnell MC. The perception of painful and nonpainful stimuli during voluntary motor activity in man. *Somatosens Mot Res*. 1990; 7(2):113-24.

Fessell TM, Dodd F. Function chemistry of primary afferent neurons. In: Wall PD, Melzack R, editores. *Textbook of pain*. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1989. p.82-99.

Fetz EE. Pyramidal tract effects on interneurons in the cat lumbar dorsal horn. *J Neurophysiol*. 1968; 31(1):69-80.

Fields HL, Basbaum AI. Central nervous system mechanisms of pain modulation. In: Wall PD, Melzack R, editores. *Textbook of pain*. 4^a ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1999.

Fitzgerald M. The course and termination of primary afferent fibers. In: Wall PD, Melzack R, editores. *Textbook of pain*. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1989. p.46-62.

Flor H, Elbert T, Knecht S, Wienbruch C, Pantev C, Birbaumer N, Larbig W, Taub E. Phantom-limb pain as a perceptual correlate of cortical reorganization following arm amputation. *Nature*. 1995; 375(6531):482-4.

Follett KA, Dirks B. Responses of neurons in ventrolateral orbital cortex to noxious visceral stimulation in the rat. *Brain Res*. 1995; 669(2):157-62.

Fonoff ET, Silva CP, Ballester G, Timo-laria C. Electro-oscillographic correlation between dorsal raphe nucleus, neocortex and hippocampus during wakefulness before and after serotonergic inactivation. *Braz J Med Biol Res*. 1999; 32(4):469-72.

Fuchs PN, Balinsky M, Melzack R. Electrical stimulation of the cingulum bundle and surrounding cortical tissue reduces formalin-test pain in the rat. *Brain Res*. 1996; 743(1-2):116-23.

Garcia-Larrea L, Peyron R, Mertens P, Gregoire MC, Lavenne F, Le Bars D, Convers P, Mauguiere F, Sindou M, Laurent B. Electrical stimulation of motor cortex for pain control: a combined PET-scan and electrophysiological study. *Pain*. 1999; 83(2):259-73.

Gauriau C, Bernard JF. Pain pathways and parabrachial circuits in the rat. *Exp Physiol*. 2002; 87(2):251-8.

Giamberardino MA. Referred muscle pain/hyperalgesia and central sensitisation. *J Rehabil Med*. 2003; 41(Suppl):85-8.

Gobel S. Golgi studies in the substantia gelatinosa neurons in the spinal trigeminal nucleus. *J Comp Neurol*. 1975; 162(3):397-415.

Goettl VM, Huang Y, Hackshaw KV, Stephens RL Jr. Reduced basal release of serotonin from the ventrobasal thalamus of the rat in a model of neuropathic pain. *Pain*. 2002; 99(1-2):359-66.

Gordon G, Landgren S, Seed WA. The functional characteristics of single cells in the caudal part of the spinal nucleus of the trigeminal nerve of the cat. *J Physiol*. 1961; 158:544-59.

Gray BG, Dostrovsky JO. Red nucleus modulation of somatosensory responses of cat spinal cord dorsal horn neurons. *Brain Res*. 1984 8; 311(1):171-5.

Greek KA, Chowdhury SA, Rasmusson DD. Interactions between inputs from adjacent digits in somatosensory thalamus and cortex of the raccoon. *Exp Brain Res*. 2003;151(3):364-71

Gu X, Staines W, Fortier P. Quantitative analyses of neurons projecting to primary motor cortex zones controlling limb movements in the rat. *Brain Res*. 1999; 835: 175-187.

Guilbaud G, Besson JM, Oliveras JL, Wyon-Maillard MC. Modifications of the firing rate of bulbar reticular units (nucleus gigantocellularis) after intra-arterial injection of bradykinin into the limbs. *Brain Res*. 1973 7; 63:131-40.

Guilbaud G, Peschanski M, Besson JM. Experimental data related to nociception and pain at the supraspinal level. In: Wall PD, Melzack R, editores. *Textbook of pain*: Edinburgh: Churchill Livingstone; 1989. p.141-53.

Gybels J. Thalamic stimulation in neuropathic pain: 27 years later. *Acta Neurol Belg*. 2001; 101(1):65-71.

Hardy SG. Analgesia elicited by prefrontal stimulation. *Brain Res*. 1985; 339(2):281-4.

Hardy SG, Haigler HJ. Prefrontal influences upon the midbrain: a possible route for pain modulation. *Brain Res*. 1985; 339(2):285-93.

Hardy SG, Leichnetz GR. Frontal cortical projections to the periaqueductal gray in the rat: a retrograde and orthograde horseradish peroxidase study. *Neurosci Lett*. 1981; 9;23(1):13-7.

Hassler R. Integration in pain therapy against disintegration in pathological pain. *Neurosurgery*. 1984; 15(6):890-2.

Head H, Holms G. Sensory disturbances from cerebral lesions. *Brain*. 1911; 34:102-254.

Hill RG, Salt TE. An ionophoretic study of the responses of rat caudal trigeminal nucleus neurones to non-noxious mechanical sensory stimuli. *J Physiol*. 1982; 327:65-78.

Hitchcock E, Teixeira MJ. Pontine stereotactic surgery and facial nociception. *Neurol Res*. 1987; 9(2):113-7.

Hosobuchi Y. Dorsal periaqueductal gray-matter stimulation in humans. *Pacing Clin Electrophysiol*. 1987; 10(1 Pt 2):213-6.

Hutchison WD, Harfa L, Dostrovsky JO. Ventrolateral orbital cortex and periaqueductal gray stimulation-induced effects on on- and off-cells in the rostral ventromedial medulla in the rat. *Neuroscience*. 1996; 70(2):391-407.

Ignelzi RJ, Atkinson JH. Pain and its modulation. Part 1. Afferent mechanisms. *Neurosurgery*. 1980; 6(5):577-83.

Jänig W. Neuronal mechanisms of pain with special emphasis on visceral and deep somatic pain. *Acta Neurochir Suppl (Wien)*. 1987; 38:16-32.

Jasmin L, Rabkin S, Moallem T, Granato A, Ohara P. T. Analgesia and Hyperalgesia by GABAergic modulation of the cerebral cortex. *Society of Neuroscience Abstracts*. 2002; 754-8.

Jensen TS. Mechanisms of neuropathic pain. In: Campbell JN, editor. *IASP Committee on Refresher Courses*. Seattle: IASP Press; 1996. p.77-86.

Jessell TM. Neurotransmitters and CNS disease: pain. *Lancet*. 1982; 2(8307): 1084-8.

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

Katayama Y, Fukaya C, Yamamoto T. Poststroke pain control by chronic motor cortex stimulation: neurological characteristics predicting a favorable response. *J Neurosurg*. 1998; 89(4):585-91.

Katayama Y, Tsubokawa T, Maejima S, Hirayama T, Yamamoto T. Corticospinal direct response in humans: identification of the motor cortex during intracranial surgery under general anaesthesia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1988; 51(1):50-9.

Kayser V, Lee SH, Guilbaud G. Evidence for a peripheral component in the enhanced antinociceptive effect of a low dose of systemic morphine in rats with peripheral mononeuropathy. *Neuroscience*. 1995 Jan; 64(2):537-45.

Kerr FW. The divisional organization of afferent fibres of the trigeminal nerve. *Brain*. 1963; 86:721-32.

Khayyat GF, Yu UJ, King RB. Response patterns to noxious and non-noxious stimuli in rostral trigeminal relay nuclei. *Brain Res*. 1975; 97(1):47-60.

Kleim J, Barbay S, Nudo R. Functional reorganization of the rat motor cortex following motor skill learning. *J Neurophysiol*. 1998 Dec;80(6):3321-5

Kori SH, Foley KM, Posner JB. Brachial plexus lesions in patients with cancer: 100 cases. *Neurology*. 1981; 31(1):45-50.

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

Kumazawa T, Mizumura K, Sato J. Response properties of polymodal receptors studied using in vitro testis superior spermatic nerve preparations of dogs. *J Neurophysiol*. 1987 Mar;57(3):702-11.

Kunc Z. Significance of fresh anatomic data on spinal trigeminal tract for possibility of selective tractotomies. In: Knighton RS, Dumke PR, editores. *Pain: Henry Ford Hospital International Symposium*. Boston: Little Brown; 1966. p.351-63.

Kupers RC, Gybels JM. Electrical stimulation of the ventroposterolateral thalamic nucleus (VPL) reduces mechanical allodynia in a rat model of neuropathic pain. *Neurosci Lett*. 1993; 150(1):95-8.

Kuroda R, Kawao N, Yoshimura H, Umeda W, Takemura M, Shigenaga Y, Kawabata A. Secondary somatosensory cortex stimulation facilitates the antinociceptive effect of the NO synthase inhibitor through suppression of spinal nociceptive neurons in the rat. *Brain Res*. 2001; 903(1-2):110-6.

Kuroda R, Kawabata A, Kawao N, Umeda W, Takemura M, Shigenaga Y. Somatosensory cortex stimulation-evoked analgesia in rats: potentiation by NO synthase inhibition. *Life Sci*. 2000; 66(20):PL271-6.

LaMotte RH, Campbell JN. Comparison of responses of warm and nociceptive C-fiber afferents in monkey with human judgments of thermal pain. *J Neurophysiol*. 1978; 41(2):509-28.

Lee DE, Kim SJ, Zhuo M. Comparison of behavioral responses to noxious cold and heat in mice. *Brain Res*. 1999; 845(1):117-21.

Leeman SE, Mroz EA. Substance P. *Life Sci*. 1974; 15(12):2033-44.

Leergaard TB, Alloway KD, Pham TA, Bolstad I, Hoffer ZS, Pettersen C, Bjaalie JG. Three-dimensional topography of corticopontine projections

from rat sensorimotor cortex: comparisons with corticostriatal projections reveal diverse integrative organization. *J Comp Neurol*. 2004; 478(3):306-22.

Levine JD, Taiwo Y. Inflammatory pain. In: Wall PD, Melzack R, Bonica JJ, editores. *Textbook of pain*. 3ª ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1994. p.45-56.

Light AR. Normal anatomy and physiology of the spinal cord dorsal horn. *Appl Neurophysiol*. 1988; 51(2-5):78-88.

Light AR, Perl ER. Spinal termination of functionally identified primary afferent neurons with slowly conducting myelinated fibers. *J Comp Neurol*. 1979; 186(2):133-50.

Lindblom UF, Ottosson JO. Influence of pyramidal stimulation upon the relay of coarse cutaneous afferents in the dorsal horn. *Acta Physiol Scand*. 1957; 38(3-4):309-18.

Loeser JD, Ward AA, White IE. Chronic deafferentation of human spinal cord neuron. *J Neurosurg*. 1968;29: 48-50.

Loewenstein WR. Mechano-electric transduction in the Pacinian corpuscle: Initiation of sensory impulses in mechanoreceptors. In: Autrum H, editor. *Handbook of sensory physiology*. Berlin: Springer-Verlag; 1971. v.1, p.267-90.

Maillard MC, Besson JM, Conseiller C, Aleonard P. Effets provoques par la stimulation du cortex orbitaire sur les couches IV et V de la corne dorsale de la moelle chez le chat. *C R Acad Sci Hebd Seances Acad Sci D*. 1971; 272(5):729-32.

Mantyh PW, Hunt SP. The autoradiographic localization of substance P receptors in the rat and bovine spinal cord and the rat and cat spinal trigeminal nucleus pars caudalis and the effects of neonatal capsaicin. *Brain Res*. 1985; 332(2):315-24.

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

Mayer DJ, Hayes RL. Stimulation-produced analgesia: development of tolerance and cross-tolerance to morphine. *Science*. 1975; 188(4191):941-3.

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

Mehler WR, Feferman ME, Nauta WJ. Ascending axon degeneration following anterolateral cordotomy: an experimental study in the monkey. *Brain*. 1960; 83:718-50.

Melzack R. *The puzzle of pain*. Auckland: Penguin Books; 1977. 232p.

Melzack R. From the gate to the neuromatrix. *Pain*. 1999; Suppl 6:S121-6.

Melzack R,Coderre TJ, Katz J, Vaccarino AL. Central neuroplasticity and pathological pain. *Ann N Y Acad Sci*. 2001; 933:157-74.

Melzack R, Stotler WA, Livingston WK. Effects of discrete brainstem lesions in cats on perception of noxious stimulation. *J Neurophysiol*. 1958; 21(4):353-67.

Melzack R, Wall PD. Pain mechanisms: a new theory. *Science*. 1965; 150(699):971-9.

Meyerson BA, Ren B, Herregodts P, Linderöth B. Spinal cord stimulation in animal models of mononeuropathy: effects on the withdrawal response and the flexor reflex. *Pain*. 1995; 61(2):229-43.

Milne RJ, Aniss AM, Kay NE, Gandevia SC. Reduction in perceived intensity of cutaneous stimuli during movement: a quantitative study. *Exp Brain Res*. 1988; 70(3):569-76.

Moossy JJ, Nashold BS Jr. Dorsal root entry zone lesions for conus medullaris root avulsions. *Appl Neurophysiol*. 1988; 51(2-5):198-205.

Morgan MM, Fossum EN, Stalling BM, King MM. Morphine antinociceptive potency on chemical, mechanical, and thermal nociceptive tests in the rat. *J Pain*. 2006 May;7(5):358-66.

Namba S, Nishimoto A. Stimulation of internal capsule, thalamic sensory nucleus (VPM) and cerebral cortex inhibited deafferentation hyperactivity provoked after gasserian ganglionectomy in cat. *Acta Neurochir Suppl (Wien)*. 1988; 42:243-7.

Nashold BS Jr, Ost Dahl RH. Pain relief after dorsal root entry zone lesions. *Acta Neurochir Suppl (Wien)*. 1980; 30:383-9.

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

Nennesmo I, Reinholt F. Mast cells in nerve end neuromas of mice. *Neurosci Lett*. 1986; 69(3):296-301.

Newman DB, Hilleary SK, Ginsberg CY. Nuclear terminations of corticoreticular fiber systems in rats. *Brain Behav Evol*. 1989; 34(4):223-64.

Nguyen JP, Lefaucher JP, Le Guerinel C, Eizenbaum JF, Nakano N, Carpentier A, Brugieres P, Pollin B, Rostaing S, Keravel Y. Motor cortex stimulation in the treatment of central and neuropathic pain. *Arch Med Res*. 2000; 31(3):263-5.

Ohara PT, Vit JP, Jasmin L. Cortical modulation of pain. *Cell Mol Life Sci*. 2005; 62(1):44-52.

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

Olszewski J. On the anatomical and functional organization of the spinal trigeminal nucleus. *J Comp Neurol*. 1950; 92(3):401-13.

Paalasmaa P, Kemppainen P, Pertovaara A. Modulation of skin sensitivity by dynamic and isometric exercise in man. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1991; 62(4):279-85.

Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. *Compact Third Edition*. New York: Academic Press; 1996.

Penfield W. Mechanisms of voluntary movement. *Brain*. 1954; 77(1):1-17.

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

Pert CB, Snyder SH. Opiate receptor: demonstration in nervous tissue. *Science*. 1973; 179(77):1011-4.

Peschanski M, Lee CL, Ralston HJ 3rd. The structural organization of the ventrobasal complex of the rat as revealed by the analysis of physiologically characterized neurons injected intracellularly with horseradish peroxidase. *Brain Res*. 1984; 297(1):63-74.

Peyron R, Garcia-Larrea L, Gregoire MC, Costes N, Convers P, Lavenne F, Mauguiere F, Michel D, Laurent B. Haemodynamic brain responses to acute pain in humans: sensory and attentional networks. *Brain*. 1999; 122 (Pt 9):1765-80.

Peyron R, Garcia-Larrea L, Deiber MP, Cinotti L, Convers P, Sindou M, Mauguiere F, Laurent B. Electrical stimulation of precentral cortical area in the treatment of central pain: electrophysiological and PET study. *Pain*. 1995; 62(3):275-86.

Peyron R, Laurent B, Garcia-Larrea L. Functional imaging of brain responses to pain: a review and meta-analysis (2000). *Neurophysiol Clin*. 2000; 30(5):263-88.

Piotrowski W, Foreman JC. Some effects of calcitonin gene-related peptide in human skin and on histamine release. *Br J Dermatol.* 1986; 114(1):37-46.

Poggio GF, Mountcastle VB. A study of the functional contributions of the lemniscal and spinothalamic systems to somatic sensibility. Central nervous mechanisms in pain. *Bull Johns Hopkins Hosp.* 1960; 106:266-316.

Price DD, Dubner R. Mechanisms of first and second pain in the peripheral and central nervous systems. *J Invest Dermatol.* 1977; 69: 167-171.

Qiao JT, Dafny N. Dorsal raphe stimulation modulates nociceptive responses in thalamic parafascicular neurons via an ascending pathway: further studies on ascending pain modulation pathways. *Pain.* 1988; 34(1):65-74.

Quiroga RQ, Nadasdy Z, Ben-Shaul Y. Unsupervised spike detection and sorting with wavelets and superparamagnetic clustering. *Neural Comput.* 2004;16(8):1661-87.

Rainville P, Duncan GH, Price DD, Carrier B, Bushnell MC. Pain affect encoded in human anterior cingulate but not somatosensory cortex. *Science.* 1997; 277(5328):968-71.

Randall LO, Selitto JJ. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. *Arch Int Pharmacodyn Ther.* 1957; 111(4):409-19.

Rethelyi M, Szentagothai J. The large synaptic complexes of the substantia gelatinosa. *Exp Brain Res.* 1969; 7(3):258-74.

Rexed B. The cytoarchitectonic organization of the spinal cord in the cat. *J Comp Neurol.* 1952; 96:514-495.

Rexed B. A cytoarchitectonic atlas of the spinal cord in the cat. *J Comp Neurol.* 1954; 100:297-380.

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

Richardson RR, Siqueira EB, Cerullo LJ. Spinal epidural neurostimulation for treatment of acute and chronic intractable pain: initial and long term results. *Neurosurgery.* 1979; 5(3):344-8.

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

Roux FE, Ibarrola D, Lazorthes Y, Berry I. Chronic motor cortex stimulation for phantom limb pain: a functional magnetic resonance imaging study: technical case report. *Neurosurgery*. 2001; 48(3):681-7.

Rusina R, Vaculin S, Yamamotova A, Barek S, Dvorakova H, Rokyta R. The effect of motor cortex stimulation in deafferented rats. *Neuro Endocrinol Lett*. 2005; 26(4):283-8.

Rustioni A, Hayes NL, O'Neill S. Dorsal column nuclei and ascending spinal afferents in macaques. *Brain*. 1979; 102(1):95-125.

Saitoh Y, Shibata M, Hirano S, Hirata M, Mashimo T, Yoshimine T. Motor cortex stimulation for central and peripheral deafferentation pain. Report of eight cases. *J Neurosurg*. 2000; 92(1):150-5.

Salt, TE. The possible involvement of excitatory amino acids and NMDA receptors in thalamic pain mechanisms and central pain syndromes. *Am Pain Soc J*. 1992; 1: 52-54.

Sandkuhler J. The organization and function of endogenous antinociceptive systems. *Prog Neurobiol*. 1996; 50(1):49-81.

Saria A. The role of substance P and other neuropeptides in transmission of pain. *Acta Neurochir Suppl (Wien)*. 1987; 38:33-5.

Scadding FW. Peripheral Neuropathies. In: Wall PD, Melzack R, editores. *Textbook of pain*. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1989. p.522-34.

Schady WJ, Torebjork HE. Projected and receptive fields: a comparison of projected areas of sensations evoked by intraneural stimulation of mechanoreceptive units, and their innervation territories. *Acta Physiol Scand*. 1983; 119(3):267-75.

Schmid HJ. Phantom nach Amputation Übersicht, neue Erkenntnisse. *Schweiz Rundsch Med Prax*. 2000; 89(3):87-94.

Schomburg ED. Spinal sensorimotor systems and their supraspinal control. *Neurosci Res*. 1990; 7(4):265-340.

Schvarcz JR. Stereotactic extralemniscal myelotomy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1976; 39(1):53-7.

Senapati AK, Huntington PJ, LaGraize SC, Wilson HD, Fuchs PN, Peng YB. Electrical stimulation of the primary somatosensory cortex inhibits spinal dorsal horn neuron activity. *Brain Res*. 2005a; 1057(1-2):134-40.

Senapati AK, Huntington PJ, Peng YB. Spinal dorsal horn neuron response to mechanical stimuli increased by electrical stimulation of the primary motor cortex. *Brain Res*. 2005b; 1036(1-2):173-9.

Senapati AK, Lagraize SC, Huntington PJ, Wilson HD, Fuchs PN, Peng YB. Electrical stimulation of the anterior cingulate cortex reduces responses of rat dorsal horn neurons to mechanical stimuli. *J Neurophysiol.* 2005c; 94(1):845-51.

Sherrington CS (*in memoriam*) 1858-1952. Autores não citados. *J Comp Neurol.* 1952; 97(1):3.

Shin HC, Chapin JK. Mapping the effects of motor cortex stimulation on single neurons in the dorsal column nuclei in the rat: direct responses and afferent modulation. *Brain Res Bull.* 1989; 22(2):245-52.

Sikes RW, Vogt BA. Nociceptive neurons in area 24 of rabbit cingulate cortex. *J Neurophysiol.* 1992; 68(5):1720-32.

Sindou M: *Étude de la jonction radiculo-medullaire posterieure. La radiculotomie posterieure sélective dans la chirurgie de la douleur.* [Tese] Paris: Travail de l'Hospital Neurologique et de l'Unité de Recherchers de Physiopathologie du Système Nerveux; 1972.

Sindou M, Keravel Y. La thermocoagulation percutanee du trijumeau. Nouveau traitement neurochirurgical de la nevralgie faciale essentielle. *Nouv Presse Med.* 1976; 5(25):1583-4.

Sjoqvist O. Studies on pain conduction in the trigeminal nerve: a contribution to the surgical treatment of facial pain. *Acta Psychiatr Scand Suppl.* 1938; 17:1-139.

Smith MC. Retrograde cell changes in human spinal cord after anterolateral cordotomies. Location and identification after different periods of survival. *Adv Pain Res Ther.* 1976; 1:91-8.

Smith RL. Axonal projections and connections of the principal sensory trigeminal nucleus in the monkey. *J Comp Neurol.* 1975; 163(3):347-75.

Snow PJ, Lumb BM, Cervero F. The representation of prolonged and intense, noxious somatic and visceral stimuli in the ventrolateral orbital cortex of the cat. *Pain.* 1992; 48(1):89-99.

Sotgui ML. Descending influence on dorsal horn neuronal hyperactivity in a rat model of neuropathic pain. *Neuroreport.* 1993 Jan;4(1):21-4.

Starr PA, Vitek JL, Bakay RA. Deep brain stimulation for movement disorders. *Neurosurg Clin N Am.* 1998 Apr;9(2):381-402. Review

Sterling P, Kuypers HG. Anatomical organization of the brachial spinal cord of the cat. I. The distribution of dorsal root fibers. *Brain Res.* 1967; 4(1):1-15.

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

Swanson DW, Floreen AC, Swenson WM. Program for managing chronic pain. II. Short-term results. *Mayo Clin Proc.* 1976; 51(7):409-11.

Szentagothai J. Neuronal and synaptic arrangement in the substantia gelatinosa. Rolandi. *J. Comp Neurol.* 1964; 122: 219-240.

Tasker RR, Emmers R. Patterns of somesthetic projection in S I and S II of the human thalamus. *Confin Neurol.* 1967; 29(2):160-2.

Tavares I, Lima D. Descending projections from the caudal medulla oblongata to the superficial or deep dorsal horn of the rat spinal cord. *Exp Brain Res.* 1994; 99(3):455-63.

Taylor SF, Kornblum S, Minoshima S, Oliver LM, Koeppe RA. Changes in medial cortical blood flow with a stimulus-response compatibility task. *Neuropsychologia.* 1994; 32(2):249-55.

Terenius L, Tamsen A. Endorphins and the modulation of acute pain. *Acta Anaesthesiol Scand Suppl.* 1982; 74:21-4.

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

Tillman DB, Treede RD, Meyer RA, Campbell JN. Response of C fibre nociceptors in the anaesthetized monkey to heat stimuli: correlation with pain threshold in humans. *J Physiol.* 1995; 485(Pt 3):767-74.

Tolle TR, Kaufmann T, Siessmeier T, Lautenbacher S, Berthele A, Munz F, Zieglgansberger W, Willoch F, Schwaiger M, Conrad B, Bartenstein P. Region-specific encoding of sensory and affective components of pain in the human brain: a positron emission tomography correlation analysis. *Ann Neurol.* 1999; 45(1):40-7.

Trevino DL, Coulter JD, Willis WD. Location of cells of origin of spinothalamic tract in lumbar enlargement of the monkey. *J Neurophysiol.* 1973; 36(4):750-61.

Tsubokawa T. Motor cortex stimulation for deafferentation pain relief in various clinical syndromes and its possible mechanism. In: Besson JM, Guilbaud G, Ollat H, editores. *Forebrain areas involved in pain processing.* Paris: John Libbey Eurotext; 1995. p.261-76.

Tsubokawa T, Katayama Y. Motor cortex stimulation in persistent pain management. In: Gildenburg PL, Tasker RR, editores. *Textbook of stereotactic and functional neurosurgery*. New York: McGraw-Hill; 1998. p.1547-56.

Tsubokawa, A.T.; Katayama, Y.; Yamamoto, T.; Hirayama, T.; Kayama, S. Motor cortex stimulation for control of thalamic pain. *Pain*. 1990; 41(suppl 1):S491.

Tsubokawa T, Katayama Y, Yamamoto T, Hirayama T, Koyama S. Chronic motor cortex stimulation for the treatment of central pain. *Acta Neurochir Suppl (Wien)*. 1991; 52:137-9.

Tsubokawa T, Katayama Y, Yamamoto T, Hirayama T, Koyama S. Chronic motor cortex stimulation in patients with thalamic pain. *J Neurosurg*. 1993; 78(3):393-401.

Tyers MB. A classification of opiate receptors that mediate antinociception in animals. *Br J Pharmacol*. 1980; 69(3):503-12.

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

Vogt BA, Berger GR, Derbyshire SW. Structural and functional dichotomy of human midcingulate cortex. *Eur J Neurosci*. 2003; 18(11):3134-44.

Vogt BA, Derbyshire S, Jones AK. Pain processing in four regions of human cingulate cortex localized with co-registered PET and MR imaging. *Eur J Neurosci*. 1996; 8(7):1461-73.

Voss M, Ingram JN, Haggard P, Wolpert DM. Sensorimotor attenuation by central motor command signals in the absence of movement. *Nat Neurosci*. 2006 Jan;9(1):26-7. 2005 Nov 27.

Waisbrod H, Hansen D, Gerbershagen HU. Chronic pain in paraplegics. *Neurosurgery*. 1984; 15(6):933-4.

Wall PD. Introduction. In: Wall PD, Melzack R, editores. *Textbook of pain*. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1989. p.1-18.

Ward JW. Motor phenomena elicited in the unanesthetized animal by electrical stimulation of the cerebral cortex. *Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis*. 1952; 30:223-37.

Watson CP, Morshead C, Van der Kooy D, J, Evans RJ. Post-herpetic neuralgia: post-mortem analysis of a case. *Pain*. 1988; 34(2):129-38.

Watson SJ, Akil H. Alpha-MSH in rat brain: occurrence within and outside of beta-endorphin neurons. *Brain Res*. 1980; 182(1):217-23.

Webster KE. Somaesthetic pathways. *Br Med Bull.* 1977; 33(2):113-20.

Weddell G, Miller S. Cutaneous sensibility. *Annu Rev Physiol.* 1962; 24:199-222.

Willis WD. The origin and destination of pathways involved in pain transmission, In: Wall PD, Melzack R, editores. *Textbook of pain.* Edinburgh: Churchill Livingstone; 1989. p.112-27.

Willis WD, Haber LH, Tin RF. Inhibition of spinothalamic tract cells and interneurons by brain stem stimulation in the monkey. *J Neurophysiol.* 1977; 40(4):968-81.

Wyon-Maillard MC, Conseiller C, Besson JM. Effects of orbital cortex stimulation on dorsal horn interneurons in the cat spinal cord. *Brain Res.* 1972; 46:71-83.

Yaksh TL, Dirksen R, Harty GJ. Antinociceptive effects of intrathecally injected cholinomimetic drugs in the rat and cat. *Eur J Pharmacol.* 1985; 117(1):81-8.

Yamamoto T, Katayama Y, Hirayama T, Tsubokawa T. Pharmacological classification of central post-stroke pain: comparison with the results of chronic motor cortex stimulation therapy. *Pain.* 1997; 72(1-2):5-12.

Yamamura H, Iwata K, Tsuboi Y, Toda K, Kitajima K, Shimizu N, Nomura H, Hibiya J, Fujita S, Sumino R. Morphological and electrophysiological properties of ACCx nociceptive neurons in rats. *Brain Res.* 1996; 735(1):83-92.

Young RF, Chambi VI. Pain relief by electrical stimulation of the periaqueductal and periventricular gray matter. Evidence for a non-opioid mechanism. *J Neurosurg.* 1987; 66(3):364-71.

Yuan B, Wang GX, Pang TC, Liu XL. Effects of stimulation of SI cortex and cerebral peduncle on the nociceptive responses of spinal dorsal horn neurons in the rat. [Resumo Medline]. *Sheng Li Xue Bao.* 1993; 45(1):26-35.

Zhang S, Chiang CY, Xie YF, Park SJ, Lu Y, Hu JW, Dostrovsky JO, Sessle BJ. Central sensitization in thalamic nociceptive neurons induced by mustard oil application to rat molar tooth pulp. *Neuroscience.* 2006; 142(3):833-42.

Zhang YQ, Tang JS, Yuan B, Jia H. Inhibitory effects of electrically evoked activation of ventrolateral orbital cortex on the tail-flick reflex are mediated by periaqueductal gray in rats. *Pain.* 1997a; 72(1-2):127-35.

Zhang S, Tang JS, Yuan B, Jia H. Involvement of the frontal ventrolateral orbital cortex in descending inhibition of nociception mediated by the periaqueductal gray in rats. *Neurosci Lett*. 1997b; 224(2):142-6.

Zhang S, Tang JS, Yuan B, Jia H. Inhibitory effects of electrical stimulation of ventrolateral orbital cortex on the rat jaw-opening reflex. *Brain Res*. 1998; 813(2):359-66.

Zhu LX, Li CY, Ji CF. Dual action of substance P in nociception and pain modulation at spinal level. *Sci Sin B*. 1987; 30(7):727-38.

Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain*. 1983; 16(2):109-10.

Zollner C, Shaqura MA, Bopaiah CP, Mousa S, Stein C, Schafer M. Painful inflammation-induced increase in mu-opioid receptor binding and G-protein coupling in primary afferent neurons. *Mol Pharmacol*. 2003; 64(2):202-10.