

**ALVORITA LEITE BITTENCOURT**

**INFLUÊNCIA DE MECANISMOS DOPAMINÉRGICOS NA  
ANTINOCICEPÇÃO CAUSADA POR MAZINDOL E LIDOCAÍNA EM  
CAMUNDONGOS.**

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

**Florianópolis  
1997**

BITTENCOURT, Alvorita L. *Influência de mecanismos dopaminérgicos na antinocicepção causada por mazindol e lidocaína em camundongos*. Florianópolis, 1997. 104 p. Dissertação (mestrado em Farmacologia) - Curso de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal de Santa Catarina.

Orientador: Prof. Dr. Reinaldo N. Takahashi  
Defesa: 26.03.97

O efeito [antinociceptivo] do [mazindol] (MAZ), anorexígeno, e da [lidocaína] (LID) conhecido anestésico local, foi investigado por meio da administração intraperitoneal (i.p.), intratecal (i.t.) e intracerebroventricular (i.c.v.), em [camundongos] no [teste da formalina]. A [cocaína] (COC) foi utilizada como controle positivo. Também foi investigado a ocorrência de sensibilização farmacológica ao efeito analgésico, o possível envolvimento dos sistemas [dopaminérgico] e [opióide] utilizando antagonistas específicos, bem como, por meio da associação com a morfina (MOR), e a participação de MAZ, LID e COC sobre o edema de pata induzido por formalina. Os resultados demonstraram que os animais tratados com MAZ, LID e COC, por todas as vias de administração, reduziram significativamente o tempo de lambida das patas em relação ao grupo controle. A administração repetida de LID (10 mg/kg, i.p.) induziu sensibilização farmacológica ao seu efeito analgésico, porém essa sensibilização não foi evidenciada com MAZ (1,25 mg/kg, i.p.) e COC (20 mg/kg, i.p.). O efeito antinociceptivo induzido por MAZ (5 mg/kg, i.p.) e COC (20 mg/kg, i.p.) foi bloqueado por haloperidol (0,2 mg/kg, i.p.), sulpirida (5 mg/kg, i.p.), mas não por SCH 23390 (0,03 mg/kg, i.p.), porém, naloxona (2 mg/kg, i.p.) inibiu somente o efeito antinociceptivo causado por MAZ. Tais antagonistas não revertem a resposta analgésica induzida por LID (20 mg/kg, i.p.). Também foi demonstrado que o tratamento combinado de MAZ (1,25 mg/kg, i.p.), LID (10 mg/kg, i.p.) com MOR (2 mg/kg, i.p.) causou efeito aditivo significante. O tratamento prévio i.t. com sulpirida (16 µg/µl) e naloxona (1,2 µg/µl) reverteu a resposta analgésica induzida por MAZ (5 mg/kg, i.p.). Além disso, foi observado que o edema de pata dos animais tratados com veículo não diferiu significativamente dos animais tratados (i.p.) com MAZ (1,25; 2,5 e 5 mg/kg), LID (10, 20 e 30 mg/kg) e COC (20 mg/kg). Em conclusão, esses resultados sugerem que MAZ, LID e COC possuem propriedades antinociceptivas, possivelmente de origem central. O sistema dopaminérgico, envolvendo principalmente receptores D<sub>2</sub>, e o sistema opióide, parecem ter papel importante na resposta analgésica do MAZ. O mecanismo envolvido no efeito antinociceptivo da LID permanece obscuro.

[mazindol] [lidocaína] [antinocicepção] [dopamina] [opióide] [teste da formalina]

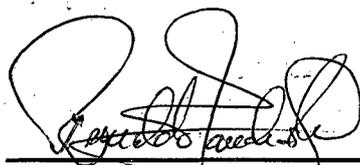
**"INFLUÊNCIA DE MECANISMOS DOPAMINÉRGICOS NA  
ANTINOCICEPÇÃO CAUSADA POR MAZINDOL E LIDOCAINA EM  
CAMUNDONGOS"**

POR

**ALVORITA LEITE BITTENCOURT**

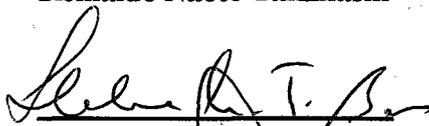
**Dissertação julgada e aprovada em sua forma  
final, pelo Orientador e membros da Banca  
Examinadora, composta pelos Professores  
Doutores:**

**Banca Examinadora:**



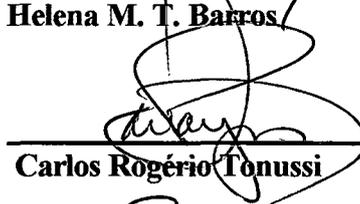
**Reinaldo Naoto Takahashi**

**(FMC/UFSC-Orientador)**



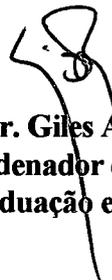
**Helena M. T. Barros**

**(UERJ/RJ-Membro Titular)**



**Carlos Rogério Tonussi**

**(FMC/UFSC-Membro Titular)**



**Prof. Dr. Giles Alexander Rae  
Coordenador do Curso de  
Pós-Graduação em Farmacologia**

**Florianópolis, março de 1997.**

*“ É muito melhor arriscar coisas grandiosas, alcançar triunfo e glória, mesmo expondo-se à derrota, do que formar fila com os pobres de espírito que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem nesta penumbra cinzenta que não conhece vitória nem derrota.”*

*Theodore Roosevelt*

*Ao Eduardo, à Gabriela e ao Douglas, pelo grande carinho e pela compreensão de minha ausência em muitos momentos importantes.*

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu marido e meus filhos, pelo companheirismo constante, pelos gestos e olhares que me transmitiram muito mais do que palavras e por não permitirem, de nenhuma forma, que o desânimo aparecesse nos momentos difíceis.

Ao professor Reinaldo Naoto Takahashi, pela orientação deste trabalho e pelo repasse de uma grande parcela de seu conhecimento, contribuindo decisivamente para minha formação científica.

À professora Clarmi, por corrigir a ortografia, remanejar as palavras e, dessa forma, embelezar meu trabalho científico.

Aos professores do Curso de Pós-Graduação, que se mostraram atenciosos e dispostos a colaborar todas as vezes em que deles precisei.

Aos amigos do Curso de Pós-Graduação, Solange, Rubens, Tânia e Josélia, que estiveram comigo em todos os momentos, contribuindo, sempre, de alguma forma, com a realização deste trabalho.

A minha amiga Terezinha, pelos vários anos de uma grande amizade.

Aos funcionários da Coordenadoria Especial de Farmacologia, particularmente a Adenir e a Rosana, pela amizade e pela contribuição no decorrer do Curso de Pós-Graduação.

Aos animais que doaram suas vidas em prol da ciência.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro.

## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
RESUMO.....	x
1 - INTRODUÇÃO.....	1
2 - OBJETIVOS.....	18
3 - MATERIAIS E MÉTODOS.....	19
3.1 - Animais.....	19
3.2 - Medida da Antinocicepção.....	19
3.3 - Administração intratecal.....	20
3.4 - Administração intracerebroventricular.....	21
3.5 - Coordenação motora "rota-rod".....	21
3.6 - Drogas.....	22
3.7 - Análise Estatística.....	23
4 - RESULTADOS.....	24
4.1 - Efeito antinociceptivo do mazindol e da lidocaína administrados por via intraperitoneal.....	24
4.2 - Efeito antinociceptivo do mazindol e da lidocaína após administração repetida.....	28
4.3 - Efeito do tratamento prévio com haloperidol, sulpirida e SCH 23390 na antinocicepção induzida por mazindol e lidocaína administrados por via intraperitoneal.....	33
4.4 - Efeito do tratamento prévio com naloxona na antinocicepção induzida por mazindol e lidocaína administrados por via intraperitoneal.....	40

4.5 - Efeito antinociceptivo da associação de mazindol ou lidocaína (i.p.) com morfina (s.c.) e o efeito da administração isolada dessas drogas.....	45
4.6 - Efeito antinociceptivo do mazindol e da lidocaína administrados por via intratecal. Efeito do tratamento prévio com sulpirida e naloxona (i.t.) na antinocicepção induzida por mazindol (i.p.).....	50
4.7 - Efeito antinociceptivo do mazindol e da lidocaína administrados por via intracerebroventricular.....	58
4.8 - Efeito da administração intraperitoneal de mazindol e lidocaína no edema de pata produzido por injeção intraplantar de formalina.....	62
5 - DISCUSSÃO.....	65
6 - CONCLUSÕES.....	80
7 - ABSTRACT.....	82
8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	84

## LISTA DE ABREVIATURAS

AE	azul de evans
ANF	anfetamina
APO	apomorfina
BK	bradicinina
cm	centímetro
COC	cocaína
DA	dopamina
DAérgico	dopaminérgico
e.p.m.	erro padrão da média
g	grama
HAL	haloperidol
HIS	histamina
i.c.v.	injeção intracerebroventricular
i.p.	“ intraperitoneal
i.t.	“ intratecal
kg	quilograma
LID	lidocaína
MAZ	mazindol
mg	miligrama
ml	mililitro
min	minutos
MOR	morfina
NAL	naloxona
NOR	noradrenalina
PG	prostaglandina
PBS	solução tampão fosfato
r.p.m.	rotações por minuto
s	segundos
s.c.	injeção sub-cutânea
SCH	SCH 23390
SNC	sistema nervoso central
SP	substância P
SUL	sulpirida
VEÍC	veículo
µg	micrograma
µl	microlitro
5-HT	serotonina

**LISTA DE FIGURAS**

Figura 1 - Estrutura química da cocaína .....	10
Figura 2 - Estrutura química do mazindol .....	12
Figura 3 - Estrutura química da lidocaína .....	15
Figura 4 - Efeito antinociceptivo do mazindol, da lidocaína e da cocaína administrados por via intraperitoneal.....	26
Figura 5 - Efeito antinociceptivo do mazindol, da lidocaína e da cocaína após administração repetida (10 dias) .....	31
Figura 6 - Influência do tratamento prévio com haloperidol e sulpirida sobre a atividade antinociceptiva causada por mazindol, lidocaína e cocaína administrados por via intraperitoneal.....	37
Figura 7 - Influência do tratamento prévio com SCH 23390 sobre a atividade antinociceptiva causada por mazindol, lidocaína e cocaína administrados por via intraperitoneal .....	38
Figura 8 - Influência do tratamento prévio com naloxona sobre a atividade antinociceptiva causada por mazindol, lidocaína e cocaína administrados por via intraperitoneal.....	43

Figura 9 - Efeito antinociceptivo da associação de mazindol, lidocaína ou cocaína (i.p.) com morfina (s.c.) e o efeito da administração isolada dessas drogas.....	48
Figura 10 - Efeito antinociceptivo do mazindol, da lidocaína e da cocaína administrados por via intratecal.....	55
Figura 11 - Influência do tratamento prévio i.t. com sulpirida e naloxona sobre a atividade antinociceptiva causada pela administração i.p. de mazindol .....	56
Figura 12 - Efeito antinociceptivo do mazindol, da lidocaína e da cocaína administrados por via intracerebroventricular.....	60

## RESUMO

O presente trabalho foi efetuado com o objetivo de investigar o efeito antinociceptivo do mazindol (MAZ), anorexígeno bastante utilizado em nosso meio, e da lidocaína (LID), conhecido anestésico local, por administração intraperitoneal (i.p.), intratecal (i.t.) e intracerebroventricular (i.c.v.) em camundongos no teste da formalina. Como controle positivo, um grupo adicional de animais foi testado após a administração de cocaína (COC). Além disso, verificou-se a ocorrência do fenômeno de sensibilização, após a administração repetida de MAZ, LID e COC. O envolvimento dos sistemas dopaminérgico (DAérgico) e opióide sobre as respostas induzidas por essas drogas foi avaliado por meio de antagonistas específicos. Também foi investigado a influência da associação dessas drogas com a morfina (MOR) e a participação de MAZ, LID e COC no edema de pata induzido por formalina. A capacitação motora dos animais após os diferentes tratamentos foi testada no "rota-rod". Os resultados demonstraram que os animais tratados (i.p.) com MAZ (1,25; 2,5; 5 e 10 mg/kg), LID (10, 20 e 30 mg/kg) e COC (20 mg/kg) causaram redução significativa no tempo de lambida das patas em relação aos animais controle. A administração repetida de LID (10 mg/kg, i.p.) induziu sensibilização farmacológica ao seu efeito analgésico, porém essa resposta não foi evidenciada com MAZ (1,25 mg/kg) e COC (20 mg/kg). O efeito analgésico induzido por MAZ (5 mg/kg) e COC (20 mg/kg) foi inibido na presença de haloperidol (0,2 mg/kg, i.p.) e sulpirida (5 mg/kg, i.p.), antagonistas que se ligam preferentemente em receptores D<sub>2</sub>, mas não na presença de SCH 23390 (0,03 mg/kg, i.p.), antagonista seletivo de receptores D<sub>1</sub>. A resposta antinociceptiva do MAZ (5 mg/kg, i.p.) também foi revertida na presença de naloxona (2 mg/kg, i.p.), antagonista opióide. Entretanto, a resposta antinociceptiva induzida por LID não foi revertida por nenhum dos antagonistas utilizados. Por outro lado, o MAZ (1,25 mg/kg, i.p.) e a LID (10 mg/kg, i.p.) em associação com a MOR (2 mg/kg, s.c.) apresentaram significativo efeito aditivo. Também foi observado que tanto os animais testados via i.t. como os tratados

i.c.v. com MAZ, LID ( 5, 10 e 20  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) e COC (20  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ), induziram efeito antinociceptivo significativo. O tratamento prévio (i.t) com sulpirida (16  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) e naloxona (1,2  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) inibiu a resposta analgésica induzida por MAZ (5 mg/kg, i.p.) confirmando experimentos anteriores. O teste de edema de pata de animais tratados (i.p.) com MAZ (1,25; 2,5 e 5 mg/kg), LID (10, 20 e 30 mg/kg) e COC (20 mg/kg) não diferiu significativamente dos animais controle. Nenhum dos tratamentos utilizados afetou a coordenação motora dos animais. Em conclusão, esses resultados sugerem que o MAZ e a LID possuem propriedades antinociceptivas em camundongos possivelmente envolvendo sítios medulares e supra-medulares. Além disso, os resultados confirmam que a COC possui propriedade antinociceptiva no teste da formalina. Os sistemas DAérgico, envolvendo principalmente receptores  $D_2$ , e opióide parecem desempenhar papel importante nas ações antinociceptivas do MAZ. O tratamento prévio com antagonistas DAérgico e opióide não afetaram a resposta analgésica induzida por LID.

## 1 - INTRODUÇÃO

A maioria das enfermidades da humanidade é acompanhada por dor. Embora a dor seja uma sensação conhecida a todos, ela é considerada uma manifestação sensorial complexa e pode ser influenciada por fatores tanto fisiológicos quanto psicológicos.

A dor, de acordo com a Associação Internacional para o Estudo da Dor, é definida como uma experiência sensorial e emocional desagradável, associada com dano tecidual real ou potencial (MERSKEY, 1979). Mesmo sendo difícil definir objetivamente a dor, deve-se considerar que ela seja um sinal de alerta, resultante de um dano a algum tecido do organismo (DRAY et alli 1994).

A dor possui dois componentes importantes: o componente sensorial e o componente emocional/afetivo. O componente sensorial corresponde ao mecanismo neurofisiológico, permitindo, por meio da ativação de receptores, a transmissão e a interpretação do estímulo nocivo. O componente emocional/afetivo corresponde à percepção da dor pelo indivíduo, seguindo-se a tomada de consciência e a reação (RAMABADRAN e BANSINATH, 1986). Fica claro que a dor é um fenômeno complexo que mobiliza todo o sistema nervoso, com uma importante reação afetiva. Ela não é, portanto, experimentada por todos da mesma forma.

Quanto aos mecanismos fisiopatológicos, a dor pode se dar por nocicepção, decorrente da ativação de receptores sensoriais especializados, e

por deaferentação, que ocorre em área que foi desnervada parcial ou totalmente (SAKATA e GOZZANI, 1994).

Apresenta-se ainda de forma aguda ou crônica. Na dor aguda existe uma causa bem definida com um curso temporal característico, desaparecendo tão logo ocorra a cura da injúria. O rápido início da dor é referido como componente fásico, enquanto que a fase insidiosa, persistente, é referida como componente tônico. O componente tônico dá-se como meio de propiciar repouso, cuidados e proteção à área lesada, a fim de facilitar a cura. Na dor crônica, o componente tônico pode persistir mesmo após a cura da injúria (MELZACK e WALL, 1991).

Para que sejam percebidas sensações tão diferentes como calor, frio, pressão e tato, existem na pele muitos receptores diferentes, denominados nociceptores. Esses receptores caracterizam-se por conter uma estrutura particular, específica, necessária para transformar o estímulo em impulso nervoso. Os nociceptores representam, anatomicamente, a parte terminal das fibras nervosas sensoriais, sendo alguns sensíveis a estímulos dolorosos mecânicos e outros sensíveis a estímulos térmicos e químicos (JESSELL e KELLY, 1991). As fibras nervosas que partem de todos esses receptores se unem para formar os nervos sensitivos, que levam, então, as diferentes informações até os centros nervosos.

Já é fato conhecido a liberação de substâncias químicas, denominadas de algogênicas ou algógenas, assim como bradicinina (BK), prostaglandinas

(PGs), leucotrienos, histamina (HIS), serotonina (5-HT), substância P (SP), íon hidrogênio etc., na área vizinha à lesão celular, no momento em que esta ocorre (BESSION e CHAOU DI, 1987; RAJA e MEYER, 1988; WOOLF, 1989). Tais substâncias podem sensibilizar e ativar as terminações de fibras periféricas A $\delta$ , pobremente mielinizadas, e de fibras periféricas C, não mielinizadas, cujos corpos celulares estão localizados no gânglio da raiz dorsal (JESSELL e KELLY, 1991).

Por outro lado, a estimulação de fibras aferentes primárias provoca, por meio de reflexo no axônio, a liberação de SP, neurocinina-A e peptídeo relacionado ao gene da calcitonina, que produzem o extravasamento de plasma, com formação de edema, e a liberação de mais HIS e mais 5-HT. Esse estímulo promove a liberação de neurotransmissores na medula espinhal, resultando na ativação de um segundo neurônio e também das vias ascendentes que transmitem a dor para os centros supra-espinhais. A SP e os receptores *N*-methyl-D-aspartato, possuem papel importante na transmissão entre o aferente primário e o sistema nervoso central (SNC) (BESSION e CHAOU DI, 1987; RAJA e MEYER, 1988; WOOLF, 1989; HALEY et alli 1990).

As vias importantes para a transmissão da dor são: a neoespinotalâmica, a paleoespinotalâmica, a espinorreticular e a espinomesencefálica (BESSION e CHAOU DI, 1987; WOOLF, 1989).

A via neoespinotalâmica é uma via de condução rápida da dor, constituída principalmente por fibras A $\delta$ . Essa via só faz projeção no córtex

somatosensorial após atingir o núcleo talâmico ventropóstero-lateral e a parte medial do tálamo posterior, estando relacionada com a percepção da dor aguda e bem localizada.

A via paleoespinal é constituída principalmente de fibras C, de baixa velocidade de condução, faz sinapse no sistema límbico, nos núcleos intralaminares do complexo talâmico, com projeção cortical difusa. As alterações emocionais da dor estão relacionadas com essa via.

A via espinorreticular projeta-se no quadrante anterolateral do cordão espinhal e é considerada uma alternativa importante para a transmissão da dor.

A via espinomesencefálica faz projeção com a formação reticular mesencefálica, com a parte lateral da substância cinzenta periaquedutal e com outras regiões do mesencéfalo (SAKATA e GOZZANI, 1994).

Essa transferência de informações nociceptivas da medula espinhal para níveis supra-segmentares sofre alterações intensas devido à participação de influências modulatórias da dor, sendo que um dos mecanismos de modulação ocorre na substância gelatinosa de Roland, lâmina II da medula espinhal.

Esse controle é feito por fibras aferentes periféricas e por vias descendentes. As fibras periféricas de grande diâmetro ( $A\beta$ ) ativam as células da substância gelatinosa, e estas bloqueiam a transferência das informações entre os aferentes nociceptivos e os neurônios da medula espinhal. Por outro lado, a modulação da dor feita pelas vias descendentes ocorre a partir de diversas estruturas supra-espinhais, assim como a substância cinzenta

periaquedutal, o tálamo, o hipotálamo, o núcleo caudado, o núcleo magno da rafe, o núcleo gigantocelular e outras (DUGGAN e MORTON, 1988; WILLIS, 1988), com a liberação de neurotransmissores inibitórios, como 5-HT, encefalina e noradrenalina (NOR) (HERTZ e MILLAN, 1988; ZEMLAN et alli 1988; BONICA, 1990).

Não está claro se animais percebem a dor no mesmo padrão de humanos e se são similares as vias de transmissão de mensagens nociceptivas, transmissores cerebrais e receptores. Sabe-se, no entanto, que humanos podem expressar e distinguir uma grande variedade de sensações dolorosas, enquanto animais podem exibir somente distúrbios autonômicos e/ou somatomotores como, por exemplo, as respostas demonstradas no teste de retirada da cauda e no teste das contorções abdominais, que requerem um alto grau de coordenação motora sensorial (RAMABADRAN e BANSINATH, 1986).

Vários modelos experimentais têm sido desenvolvidos para quantificar a dor em animais. Os mais utilizados são: o teste da formalina, o teste da placa quente, o teste de imersão da cauda, o teste de contorções abdominais e o teste de retirada da cauda.

O modelo experimental que parece induzir um tipo de dor mais próximo à dor humana é o teste da formalina. Esse teste foi descrito em 1977 por Dubuisson e Dennis, que utilizaram ratos e gatos para analisar o efeito analgésico da morfina (MOR) e da meperidina, além de observar o efeito do estímulo elétrico sobre a substância cinzenta periaquedutal. Atualmente o teste

da formalina é muito utilizado para a pesquisa de drogas analgésicas, visto que a dor contínua e a analgesia podem ser observadas em animais com movimentação livre, refletindo, dessa forma, uma situação semelhante à dor patológica (DUBUISSON e DENNIS, 1977).

A injeção de formalina na superfície intraplantar da pata posterior do animal induz respostas comportamentais relacionadas à dor, como lambida, mordida, elevação ou sacudidela da pata (TJØLSEN et alli 1992).

Um perfil importante no teste da formalina em roedores é que os animais mostram duas fases distintas de comportamento nociceptivo (DUBUISSON e DENNIS, 1977; HUNSKAAR e HOLE, 1987; ROSLAND, 1991): a primeira fase inicia-se imediatamente após a injeção de formalina, dura em torno de 3 a 5 minutos e é caracterizada pela estimulação química direta de nociceptores (HUNSKAAR et alli 1985), evocando ativação das fibras C (HEAPY et alli 1987); subseqüentemente, há um período de 10 a 15 minutos, em que os animais exibem pouco comportamento sugestivo de nocicepção; a segunda fase inicia aproximadamente 15 a 20 minutos após a injeção de formalina e dura entre 20 e 40 minutos (HUNSKAAR e HOLE, 1987; ROSLAND et alli 1990).

É bastante conhecido que a segunda fase do teste da formalina é acompanhada por edema de pata devido à liberação de mediadores inflamatórios (HUNSKAAR et alli 1985; HUNSKAAR e HOLE, 1987; MURRAU et alli 1988) sendo que, recentemente, foi demonstrado o

envolvimento de receptores  $B_2$  mas não  $B_1$  da BK nessa resposta (CORRÊA e CALIXTO (1993).

A dor tônica observada no teste da formalina, proveniente do estímulo químico, é associada com a dor contínua que se segue à lesão tecidual. Por outro lado, testes que envolvem estímulos de origem térmica, elétrica ou mecânica, estão envolvidos com dor breve, sem dano tecidual, referida algumas vezes como dor fásica (DENNIS e MELZACK, 1979).

É sugerido que a dor, em diferentes formas de manifestação, possa ser modulada por diferentes sistemas supressores (AKIL et alli 1976).

Sabe-se, no entanto, que as bases neuroquímicas da analgesia no teste da formalina são diferentes das identificadas em testes de reflexo de retirada. Em particular, fibras descendentes serotoninérgicas e outras, no fascículo dorso lateral, medeiam a analgesia opióide observada no teste de retirada da cauda, enquanto que lesão nessa área não atenua a analgesia opióide demonstrada no teste da formalina (ABBOTT e MELZACK, 1982; ABBOTT e YOUNG, 1988).

Há várias evidências de que o sistema opióide envolve três grandes classes de receptores no SNC, designados de  $\mu$ ,  $\kappa$  e  $\delta$ , bem como a indicação de subtipos dentro de cada classe ( $\mu_1$ ,  $\mu_2$ ,  $\kappa_1$ ,  $\kappa_2$ ,  $\kappa_3$ ,  $\delta_1$  e  $\delta_2$ ). Baseado em estudos com animais experimentais (ratos e camundongos), sugere-se que a analgesia supra-medular envolve os subtipos  $\mu_1$ ,  $\kappa_3$ ,  $\delta_1$  e  $\delta_2$ , enquanto que os subtipos  $\mu_2$ ,  $\kappa_1$  e também  $\delta_2$  parecem estar implicados com a analgesia em nível medular

(PASTERNAK, 1993). A MOR, por exemplo, pode causar analgesia em nível medular ( $\mu_2$ ) ou supra-medular ( $\mu_1$ ), entretanto, quando essa droga é administrada sistemicamente, ela age predominantemente em receptores  $\mu_1$  (REISINE e PASTERNAK, 1996).

Com base em dados anatômicos, neuroquímicos e comportamentais, sugere-se o envolvimento do sistema monoaminérgico cerebral no controle da nocicepção (para revisão ver PERT, 1987), tendo vários estudos (MICHAEL-TITUS et alli 1990; MORGAN e FRANKLIN, 1991; SUAUDEAU e COSTENTIN, 1995) demonstrado que o sistema dopaminérgico (DAérgico), possivelmente, tem papel importante na produção de analgesia. Um exemplo claro desse envolvimento é a presença de efeitos antinociceptivos evidenciados com o uso de agonistas da dopamina (DA), assim como d-anfetamina, cocaína (COC) e apomorfina (APO) (DENNIS e MELZACK, 1983; LIN et alli 1989; MORGAN e FRANKLIN, 1990). Estudos desenvolvidos por numerosos pesquisadores (YAKSH et alli 1981; BASBAUM e FIELDS, 1984; BESSON e CHAOUDI, 1987; KURASHI et alli 1987; OLIVERAS e BESSON, 1992) demonstraram que, em animais experimentais, a estimulação elétrica, de núcleos celulares de fibras aminérgicas, se projeta sobre a medula espinhal onde ocorre a inibição da ativação das células provocada por estímulo nociceptivo; acrescentando também que a administração intratecal (i.t.) de 5-HT, de NOR e de DA ou de agonistas desses mediadores produzem analgesia em nível medular.

Com base em critérios farmacológicos e bioquímicos (KEBABIAN e CALNE, 1979) foram identificados, inicialmente, dois subtipos de receptores da DA, denominados D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub>. Posteriormente, foi definido, por meio da biologia molecular, a existência de três novos receptores, sendo denominados D<sub>3</sub>, D<sub>4</sub> e D<sub>5</sub>. Os receptores D<sub>1</sub> e D<sub>5</sub> estimulam a adenilato ciclase enquanto os receptores D<sub>2</sub> estão acoplados a vários sistemas efetores, incluindo inibição da adenilato ciclase, inibição da mobilização de cálcio, abertura da corrente de potássio. O sistema efector envolvido com o receptor D<sub>3</sub> inclui a inibição da mobilização de cálcio, podendo esse receptor estar acoplado à proteína G, enquanto o receptor D<sub>4</sub> inibe a adenilato ciclase.

O efeito antinociceptivo da DA parece envolver predominantemente o receptor DAérgico D<sub>2</sub>, uma vez que a analgesia induzida por DA administrada por via i.t. foi inibida por sulpirida (SUL), antagonista de receptor D<sub>2</sub> e não por SCH 23390 (SCH), antagonista seletivo de receptor D<sub>1</sub> (LIU et alli 1992). De maneira semelhante, GONZALEZ-RIOS et alli (1986) observaram que o efeito antinociceptivo causado por APO, agonista direto de receptores D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub>, foi revertido por SUL e por naloxona (NAL). Utilizando-se antagonistas seletivos  $\delta$  opióides e inibidores de encefalinases foi possível sugerir que a analgesia da APO não envolve uma ligação encefalinérgica (MICHAEL-TITUS et alli 1990) mas, juntamente com RU 24926, agonista seletivo de receptor D<sub>2</sub>, o mecanismo de ação dessas drogas, possivelmente, envolve um opióide endógeno que

age em receptores opióides do tipo  $\mu$  (MICHAEL-TITUS et alli 1990; SUAUDEAU e COSTENTIN, 1995).

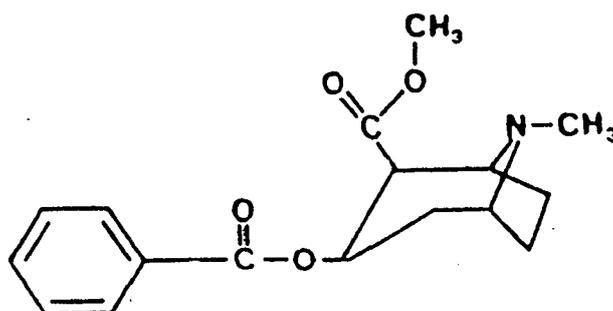


Figura 1 - Estrutura química da cocaína

A DA é considerada um importante neurotransmissor relacionado aos efeitos subjetivos da COC {éster metílico do ácido [1R-(exo,exo)]-3-(benzoiloxi) - 8 - metil - 8 - azabicyclo [3.2.1] - octano - 2 - carboxílico} (CUNNINGHAM e CALLAHAN, 1991; CUNNINGHAM et alli 1991; CAINE e KOOB, 1993). Pelo fato de a COC (Figura 1) aumentar indiretamente os níveis extracelulares de aminas biogênicas no SNC, sugere-se que ela possa ter uma potente propriedade analgésica sistêmica em animais (LIN et alli 1989; PERTOVAARA et alli 1990, 1991) e na espécie humana (YANG et alli 1982), sendo essa ação independente de sua atividade hipertensiva (LIN et alli 1989)

ou anestésica local (PERTOVAARA et alli 1988) e mediada, pelo menos em parte, por mecanismos DAérgicos (LIN et alli 1989). A compreensão atual sobre o mecanismo principal pelo qual a COC age sobre neurônios monoaminérgicos é o bloqueio do transporte de recaptção (RITZ et alli 1987; YI e JOHNSON, 1990), produzindo, conseqüentemente, uma elevação dos níveis extracelulares do neurotransmissor, com posterior ativação do receptor.

Sabe-se que a administração aguda de COC promove aumento na atividade locomotora, caracterizada por farejamento compulsivo, movimento lateral com a cabeça, movimento repetido com a pata dianteira e ação de levantar (POST e ROSE, 1976), podendo esses comportamentos ser bloqueados por tratamento prévio, utilizando-se antagonistas de receptor da DA, ou produzindo-se lesões da via DAérgica (KELLY e IVERSEN, 1975; RITZ et alli 1988), o que sugere que neurônios DAérgicos podem desempenhar importante papel na mediação desses efeitos (KALIVAS e STEWART, 1991). Por outro lado, estudos recentes têm demonstrado que animais tratados de forma repetida com COC apresentam sensibilização farmacológica (ALOYO et alli 1995; MATTINGLY et alli 1996; ELMER et alli 1996; KURIBARA, 1996).

No contexto do estudo de drogas, a sensibilização farmacológica refere-se a um aumento do efeito de uma dada droga pela administração repetida ou a um deslocamento da curva dose-resposta para a esquerda (STEWART e BADIANI, 1993) podendo tal sensibilização desenvolver-se como resposta a um efeito particular de uma droga e não a outro. Alguns autores mostraram ainda a

existência de uma variação individual na suscetibilidade à sensibilização farmacológica (LEITH e KUCZENSKI, 1982; SEGAL e KUCZENSKI, 1987), sendo que a diferença sexual pode ser um fator contribuinte nessa variação (CAMP e ROBINSON, 1988a; FORGIE e STEWART, 1993; ZANIN e TAKAHASHI, 1994).

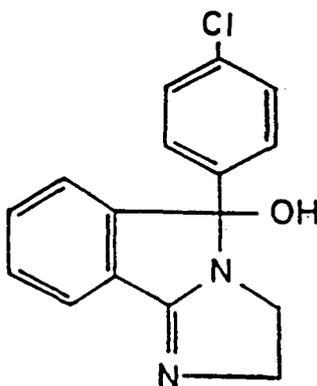


Figura 2 - Estrutura química do mazindol

Por outro lado, o mazindol (5-hidroxi-5-*p*-clorofenil-2,3-dihidro-5H-imidazo-2,1-*d*-isoindol) (MAZ) droga anorexígena não-feniletilamina, conhecida por bloquear o mecanismo de captação de catecolaminas (KRUK e ZARRINDAST, 1976; JAVITCH et alli 1983; BENNET et alli 1993), liga-se com alta afinidade no mesmo sítio de ligação da COC (JAVITCH et alli 1983). Possivelmente, pelo fato de o mecanismo de ação do MAZ (Figura 2) ser semelhante ao da COC, ele mostra um perfil farmacológico similar observado em

modelos animais, induzindo aumento da atividade locomotora, comportamento de girar, estereotípias e aumento da temperatura corporal (KRUK e ZARRINDAST, 1976; ZAMBOTTI et alli 1976).

Estudos desenvolvidos anteriormente sobre a auto-administração de MAZ têm demonstrado que essa droga é auto-administrada por alguns animais (RISNER e SILCOX, 1981; WILSON e SCHUSTER, 1991), enquanto parece haver risco mínimo de abuso na espécie humana (CHAIT et alli 1987). Conforme mencionado anteriormente, as respostas de MAZ são relacionadas às da COC em animais treinados para discriminar COC de placebo, sugerindo que esses compostos compartilham efeitos estimulatórios discriminativos similares (KLEVEN et alli 1990; WITKIN et alli 1991; MANSBACH e BALSTER, 1993).

Em virtude de o MAZ ser conhecido por agir primariamente, ainda que não exclusivamente, inibindo a captação de DA (JAVITCH et alli 1984; PÖGÜN et alli 1991) e, considerando observações prévias, acima citadas, é provável que os efeitos induzidos por MAZ possam envolver o sistema DAérgico.

Também tem sido observado que o sistema neuronal DAérgico parece desempenhar papel importante no efeito anorexígeno do MAZ. Estudos realizados por KRUK e ZARRINDAST (1976) evidenciaram que pimozida, um antagonista dopaminérgico D<sub>2</sub>, antagonizou a anorexia de MAZ e anfetamina (ANF), porém a reversão não ocorreu com metergolina, um bloqueador es-

pecífico de receptores 5-HT, indicando que a ativação de receptores da DA possivelmente medeia respostas anorexígenas. A implicação do sistema noradrenérgico é eliminada, uma vez que, a aplicação direta de NOR ou de substâncias que estimulam  $\alpha$ -adrenoceptores estimulam a fome em animais saciados, sendo que esse efeito pode ser antagonizado por agentes bloqueadores de  $\alpha$ -adrenoceptores (BROEKKAMP e VAN ROSSUM, 1972; KRUK, 1973).

Como já citado anteriormente, há várias evidências indicando que animais tratados com COC apresentam propriedades analgésicas em vários modelos experimentais (LIN et alli 1989; KIRITSY-ROY et alli 1994; GATCH et alli 1995; SCHUELKE et alli 1996). Da mesma forma que a COC, outros anestésicos locais, assim como a lidocaína (LID), a dimetocaína e a procaína têm demonstrado ser antinociceptivos (BIELLA e SOTGIU, 1993; RIGON e TAKAHASHI, 1996).

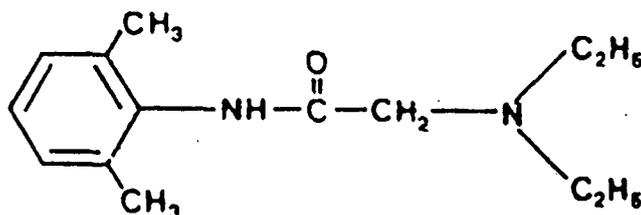


Figura 3 - Estrutura química da lidocaína

A LID [2-(dietilamino)-*N*-(2,6-dimetilfenil) acetamida] foi sintetizada em 1943, por Löfgren, e é hoje considerada o protótipo dos anestésicos locais (Figura 3). É absorvida rapidamente após administração parenteral e trato gastrointestinal e respiratório. Na presença de um vasoconstritor, como, por exemplo, a epinefrina, sua absorção e toxicidade são diminuídas, e a duração de ação é prolongada. A biotransformação da LID ocorre em nível hepático, por oxidases de função mista, produzindo monoetilglicina xilidida e glicina xilidida, que possuem propriedades anestésicas (TUCKER e MATHER, 1988).

Tem-se observado que a LID, quando administrada sistemicamente, produz analgesia em várias condições dolorosas (BOAS et alli 1982; CAS-SUTO et alli 1985). Resultados de experimentos recentes desenvolvidos por RIGON e TAKAHASHI (1996) revelaram que a administração sistêmica de LID aumentou significativamente as latências para os testes de retirada da

cauda e de placa quente e reduziu, de modo dependente da dose, o número de contorções induzidas por ácido acético em camundongos (WOOLF e WIESENFELD-HALLIN, 1985; BIELLA et alli 1993; BIELLA e SOTGIU, 1993; COURTEIX et alli 1994).

Enquanto alguns estudos registram que o efeito inibitório seletivo da LID sobre a transmissão nociceptiva pode ser mediada centralmente (WOOLF e WIESENFELD-HALLIN, 1985; TASKER et alli 1987; BACH et alli 1990, SOTGIU et alli 1991; BIELLA et alli 1993; COURTEIX et alli 1994), outros têm encontrado resultados negativos. Por exemplo, WIESENFELD-HALLIN e LINDBLON (1985) registraram que a LID não produz antinocicepção em ratos e GRANT et alli (1993) mostraram que a administração sistêmica de LID em camundongos não aumenta a latência no teste de retirada da cauda.

Em virtude da forte semelhança existente entre a COC e alguns anestésicos locais quanto as suas estruturas químicas e pelo fato da existência de evidências indicando que COC e anestésicos locais competem por um sítio comum de captação de DA (RITZ et alli 1988), poderia se supor que esses agentes também apresentariam efeito similar sobre o SNC, ou seja, produziriam efeitos tipo-cocaína. Confirmando parcialmente esses dados, estudos desenvolvidos recentemente por GRAHAM et alli (1995) demonstraram que os efeitos comportamentais evidenciados por anestésicos locais do grupo éster, assim como, COC, dimetocaína e procaína são provenientes do aumento de DA

sináptica, enquanto que anestésicos locais do grupo amida, como por exemplo a lidocaína, parece não afetar o metabolismo DAérgico.

Diante do relatado, observa-se que MAZ, além de seu efeito anorético, produz efeitos comportamentais relacionados a psicoestimulantes como COC e ANF; não há, porém, nenhuma informação, pelo menos de que se tenha conhecimento, de propriedades antinociceptivas dessa droga. Por outro lado, a LID é conhecida por seus efeitos analgésicos e anestésicos locais. Logo, o estudo realizado foi direcionado com o objetivo de investigar, por meio do teste da formalina, a ação antinociceptiva do MAZ e da LID, bem como de avaliar o possível envolvimento dos sistemas DAérgico e opióide nas respostas induzidas por essas drogas. Também foi investigado a ocorrência do fenômeno de sensibilização com MAZ e LID, e verificado, de forma preliminar, a participação dessas drogas no edema de pata, produzido por injeção intraplantar de formalina.

Pelo fato de a COC ser conhecida por seus efeitos estimulantes, analgésicos e anestésicos locais e envolver mecanismos de ação em comum com o MAZ e a LID, utilizou-se essa droga como controle positivo em todos os protocolos experimentais.

## 2 - OBJETIVOS

- Comparar o possível efeito antinociceptivo do MAZ, da LID e da COC, administrados por via intraperitoneal, intratecal e intracerebroventricular, no teste da formalina em camundongos.
- Investigar se a administração repetida (10 dias) por via intraperitoneal do MAZ, da LID e da COC, em baixas doses, induz sensibilização farmacológica ao efeito antinociceptivo.
- Investigar o envolvimento dos sistemas DAérgico e opióide no efeito antinociceptivo causado pela administração intraperitoneal do MAZ, da LID e da COC.
- Verificar se a associação MAZ+MOR, LID+MOR e COC+MOR têm alguma influência na analgesia causada pela administração isolada de cada uma dessas drogas.
- Verificar o efeito do MAZ, da LID e da COC no edema de pata produzido por injeção intraplantar de formalina.

### 3 - MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 - Animais

Utilizou-se camundongos albinos Swiss machos, com aproximadamente 3 meses de idade, pesando entre 30 e 40 gramas, provenientes do Biotério do Departamento de Farmacologia da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Dois dias antes do experimento, os animais foram distribuídos em caixas de plástico com serragem, em grupos de 6, e ali mantidos em temperatura controlada ( $23 \pm 1^\circ\text{C}$ ), em ciclo claro e escuro de 12 horas (6h - 18h), com livre acesso à água e à comida, exceto durante as sessões de teste. Cada animal foi utilizado uma única vez.

#### 3.2 - Medida da Antinociceção

O efeito antinociceptivo foi avaliado por meio do teste da formalina. Utilizou-se um funil de vidro, com 17 cm de diâmetro, onde, antes de serem testados, os animais foram mantidos durante 5 minutos, a fim de permitir a adaptação ao novo ambiente (SHIBATA et alli 1989). Um espelho foi colocado num ângulo de  $45^\circ$  atrás do funil, para facilitar a observação das respostas. Cada animal foi avaliado separadamente.

Após a administração das drogas e do veículo (VEÍC), cada camundongo recebeu 20  $\mu\text{l}$  de formalina a 2,5% por via sub-cutânea (s.c.), na superfície intraplantar da pata posterior direita, sendo, após, recolocado no ambiente ex-

perimental previamente conhecido. Observou-se, a seguir, o tempo de lambida ou de mordida da pata (WHELLER et alli 1988), em duas diferentes fases: a primeira, quando decorridos de 0 a 5 minutos; e a segunda, quando decorridos de 15 a 30 minutos da administração de formalina (HUNSKAAR e HOLE, 1987).

### **3.3 - Administração intratecal**

Para a administração i.t., utilizou-se um suporte convexo onde os animais foram colocados em decúbito ventral, de forma que a coluna vertebral ficasse arqueada e o local da injeção exposto, facilitando a administração das drogas ou do VEÍC. Inicialmente, os camundongos foram anestesiados levemente com éter etílico, com o objetivo de facilitar a administração i.t. e, em seguida, foram colocados sobre o suporte. Uma agulha de insulina, conectada, por meio de um cateter, à uma seringa de Hamilton de 10  $\mu$ l, foi então inserida no canal medular entre as vértebras L<sub>5</sub> e L<sub>6</sub> dorsal (HYLDEN e WILCOX, 1980) por onde as drogas e o VEÍC foram administrados.

Ao término de cada experimento, os animais foram sacrificados com éter etílico, em recipiente fechado, e, em seguida, a coluna vertebral foi seccionada, com o objetivo de visualizar o correto local da injeção. A presença do corante no canal medular foi considerada como indicador de sucesso na punção lombar, porcentagem de acerto em torno de 90%, sendo descartados os demais animais.

### **3.4 - Administração intracerebroventricular**

Inicialmente, os animais foram anestesiados levemente com éter etílico, com o objetivo de facilitar a administração intracerebroventricular (i.c.v.).

Nessa técnica, utilizou-se um volume fixo de 5  $\mu$ l, administrado, diretamente no ventrículo lateral, sem o uso de estereotáxico, no grupo tratado com VEÍC e nos grupos tratados com MAZ, LID e COC, por meio de uma agulha de insulina, conectada, por intermédio de um catéter, à uma seringa de Hamilton de 10  $\mu$ l. Para a padronização da profundidade da administração i.c.v., utilizou-se apenas 3,2 mm da extremidade final da agulha, sendo o seu restante, protegido por uma pequena borracha (LAURSEN E BELKNAP, 1986). Após 5 minutos de espera em uma caixa de plástico com serragem, os animais foram avaliados pelo teste da formalina e, ao término de cada experimento, sacrificados, por meio de inalação de éter etílico, em recipiente fechado.

Para visualizar o correto local da administração i.c.v., foi retirada a pele sobre a caixa craniana de cada animal e exposta a área do local da injeção. Os resultados de animais que não apresentaram perfeitas condições técnicas na administração das drogas e do VEÍC não foram considerados.

### **3.5 - Coordenação motora “rota-rod”**

Os camundongos foram testados no “rota-rod”, aparelho que consiste de uma roda rotatória de 2,5 cm de diâmetro, envolvida com lixa, girando numa velocidade de 7 r.p.m. (DUNHAN e MIYA, 1957). Uma seleção prévia foi feita

24 horas antes do experimento, e somente os camundongos que permaneceram em equilíbrio no aparelho por 2 minutos foram utilizados. No dia do teste, os animais foram novamente submetidos ao “rota-rod” durante 2 minutos e, após, colocados em uma caixa de plástico com serragem, onde permaneceram em repouso durante 1 hora, antes de serem testados com as drogas ou com o VEÍC utilizados nos diversos tratamentos. A análise foi feita aos 3, 20 e 30 minutos após a injeção da formalina, e a avaliação da coordenação motora foi feita durante 2 minutos, registrando-se o tempo (s) de permanência dos animais no aparelho.

### **3.6 - Drogas**

Mazindol (Instituto Químico Campinas-IQC, São Paulo, Brasil), (±)-sulpirida, cloridrato de naloxona, SCH 23390 (RBI, MA. U.S.A.), haloperidol (Cristália, São Paulo, Brasil), cloridrato de lidocaína (Sigma Chemical Co., St Louis, MO. U.S.A.), cloridrato de cocaína, cloridrato de morfina, (Merck AG. Darmstadt, Alemanha), azul de Evans, solução tampão fosfato (PBS - pH 7,6: NaCl 137 mM, KCL 2 mM e tampão fosfato 10 mM), formaldeído (Merck, Rio de Janeiro, Brasil) e lauril sulfato de sódio (Reagen, Rio de Janeiro, Brasil). O mazindol, a sulpirida e o haloperidol foram homogeneizados com 1 gota de tween 80 e, em seguida, dissolvidos em uma solução de carboximetilcelulose a 0,025%. A lidocaína, a cocaína, a naloxona, o SCH 23390, a morfina, a solução de azul de Evans-5% (AE) e de lauril sulfato de sódio-2,5% foram dissolvidos

em água destilada. A solução aquosa de formalina a 2,5% (0,92% de formaldeído) foi preparada utilizando-se PBS como solvente, e administrada com 20  $\mu$ l, por via s.c., na superfície intraplantar da pata posterior direita, conforme citado anteriormente. As drogas foram administradas em um volume fixo de 0,1 ml por 10 g de peso, quando se utilizou o tratamento por via intraperitoneal (i.p.) ou por via s.c. Já para o tratamento i.t. e i.c.v. administraram-se volumes de 2,5  $\mu$ l e de 5  $\mu$ l, respectivamente.

### **3.7 - Análise Estatística**

Os resultados foram expressos por meio da média  $\pm$  erro padrão da média (e.p.m.) para cada protocolo experimental. Diferenças entre grupos foram inicialmente determinadas, utilizando-se os testes de análise de variância (ANOVA de uma e duas vias), conforme a exigência do protocolo experimental, e em seguida, complementados pelo teste de Newman-Keuls, quando necessário. Valores de  $p$  menores que 0,05 foram considerados estatisticamente significantes.

## 4- RESULTADOS

### 4.1 - Efeito antinociceptivo do mazindol e da lidocaína, administrados por via intraperitoneal.

Para investigar os possíveis efeitos analgésicos do MAZ e da LID, várias doses dessas drogas foram utilizadas no tratamento agudo.

Nesse protocolo experimental, MAZ (1,25; 2,5; 5 e 10 mg/kg), LID (10, 20 e 30 mg/kg) e COC (20 mg/kg) foram injetados por via i.p. nos animais experimentais. Após 15 minutos da administração das drogas, os camundongos receberam formalina a 2,5% na superfície intraplantar da pata posterior direita e foram, em seguida, avaliados pelo teste da formalina.

Os resultados da administração aguda de diferentes doses de MAZ (1.25 - 10 mg/kg) e de LID (10 - 30 mg/kg), injetadas por via i.p., estão ilustrados na Figura 4. A análise estatística efetuada pela ANOVA de uma via revelou efeito significativo dos tratamentos: [  $F_{10, 91} = 16,90$ ;  $p < 0,0001$  ], na primeira fase, e [  $F_{10,91} = 30,35$ ;  $p < 0,0001$  ], na segunda fase do teste. A análise subsequente, utilizando-se o teste de Newman-Keuls, revelou, para MAZ e LID, uma redução estatisticamente significativa do tempo de lambida das patas, na primeira fase do teste, sendo esse efeito analgésico dependente da dose.

Na segunda fase do teste da formalina, o MAZ manteve, em todas as doses utilizadas, o mesmo padrão de resposta analgésica da primeira fase, enquanto que a LID somente demonstrou efeito antinociceptivo significativo nas doses maiores (20 e 30 mg/kg).

A COC (20 mg/kg) demonstrou resposta antinociceptiva significativa em ambas as fases da dor induzida por formalina.

O MAZ, a LID e a COC não afetaram a coordenação motora no teste do “rota-rod” em nenhuma das doses utilizadas (Tabela 1).

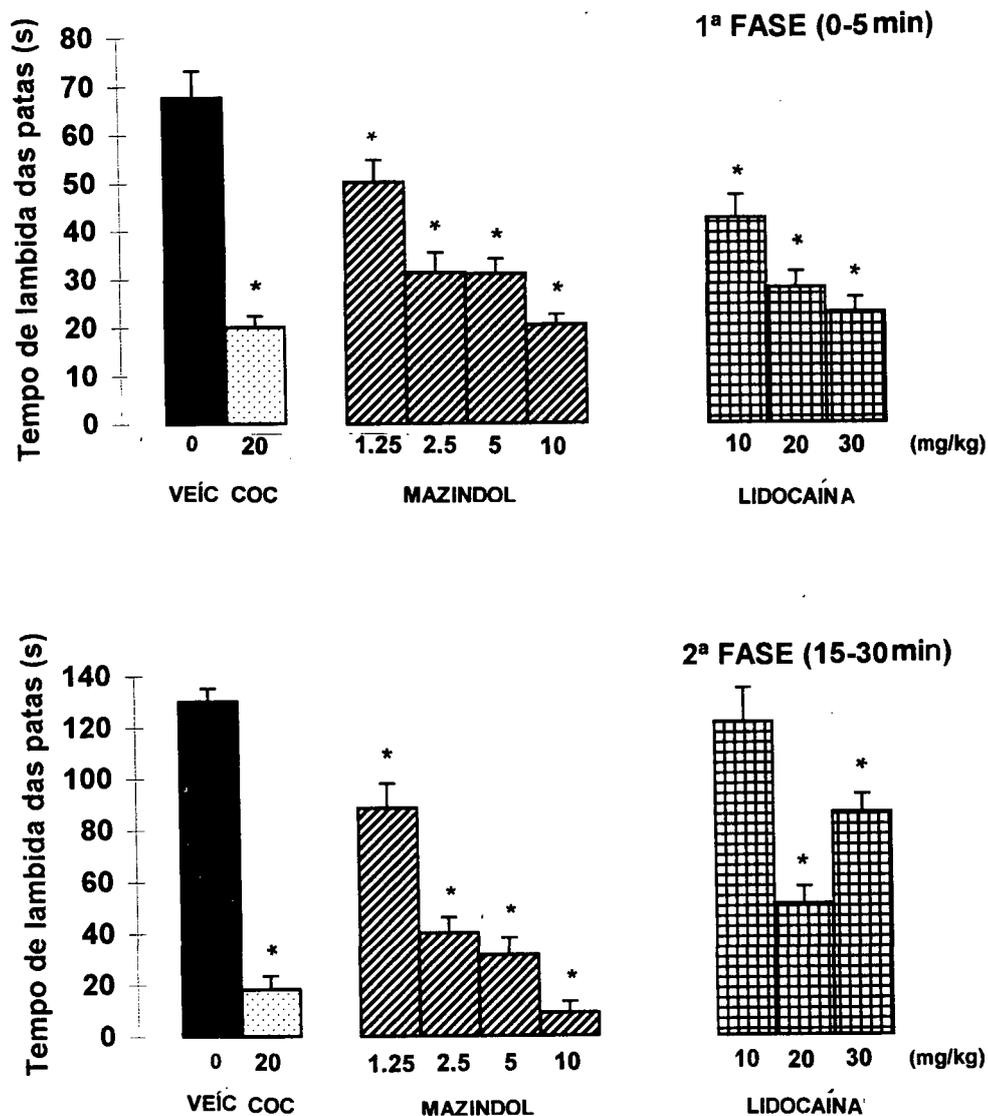


Figura 4 - Efeito antinociceptivo agudo do mazindol (1,25 - 10 mg/kg, i.p.), lidocaína (10-30 mg/kg, i.p.) e cocaína (20 mg/kg, i.p.) na primeira e na segunda fase do teste da formalina, 15 minutos após os tratamentos. Os dados são expressos como a média  $\pm$  e.p.m. de 10 animais.

\*  $p < 0,05$  em relação ao grupo tratado com veículo.

Teste de Newman Keuls.

Tabela 1 - Efeito do tratamento agudo (i.p.) do mazindol, da lidocaína e da cocaína sobre a coordenação motora.

Tempo de permanência no “rota-rod” (s)

Tratamento mg/kg i.p.	Tempo decorrido após a injeção de formalina (min)		
	03	20	30
Veículo	119,6 ± 0,3	119,5 ± 0,5	119,6 ± 0,3
Cocaína 20	119,0 ± 0,6	120,0 ± 0,0	119,6 ± 0,3
Mazindol 1,25	119,6 ± 0,3	120,0 ± 0,0	120,0 ± 0,0
Mazindol 2,5	119,0 ± 0,6	119,0 ± 0,6	119,6 ± 0,3
Mazindol 5	118,6 ± 1,3	119,3 ± 0,4	119,3 ± 0,4
Mazindol 10	118,6 ± 0,9	119,6 ± 0,3	120,0 ± 0,0
Lidocaína 10	120,0 ± 0,0	120,0 ± 0,0	120,0 ± 0,0
Lidocaína 20	119,3 ± 0,6	120,0 ± 0,0	120,0 ± 0,0
Lidocaína 30	120,0 ± 0,0	120,0 ± 0,0	120,0 ± 0,0

Os valores representam a média ± e.p.m. de 06 animais.

#### **4.2 - Efeito antinociceptivo do mazindol e da lidocaína após administração repetida.**

A administração repetida de MAZ e de LID teve por objetivo investigar a presença ou não de sensibilização farmacológica ao efeito antinociceptivo dessas drogas.

A partir dos resultados do tratamento agudo, as menores doses de MAZ (1,25 mg/kg) e de LID (10 mg/kg) foram selecionadas para efetuar o tratamento repetido com o objetivo de observar melhor as respostas antinociceptivas, quando comparadas com o tratamento agudo. A dose de COC (20 mg/kg) foi a mesma empregada no tratamento agudo.

Nesse protocolo experimental, os animais foram tratados com MAZ, LID e COC administrados por via i.p. durante 7 dias consecutivos, em seguida, foram mantidos 2 dias sem droga e, no 10<sup>o</sup> dia, foram avaliados pelo teste da formalina, 15 minutos após a administração das mesmas drogas. Os animais controles receberam o mesmo tratamento acima citado com exceção de que no 10<sup>o</sup> dia foram testados com VEÍC (Tabela 2).

Tabela 2 - Protocolo experimental do tratamento repetido (10 dias, i.p.) do mazindol, da lidocaína e da cocaína.

Tratamento mg/kg, i.p.				N
7 dias		2 dias	10 <sup>o</sup> dia (teste)	
Cocaína	20	sem droga	Veículo	10
Mazindol	1,25	sem droga	Veículo	10
Lidocaína	10	sem droga	Veículo	10
Cocaína	20	sem droga	Cocaína 20	10
Mazindol	1,25	sem droga	Mazindol 1,25	10
Lidocaína	10	sem droga	Lidocaína 10	10

N = Número total de camundongos.

O tempo esperado entre a administração das drogas e a injeção de formalina na pata, no 10<sup>o</sup> dia, foi de 15 minutos.

Os efeitos da administração repetida do MAZ (1,25 mg/kg), da LID (10 mg/kg) e da COC (20 mg/kg), injetados por via i.p., estão ilustrados na Figura 5.

A análise estatística com a utilização do teste ANOVA de uma via indicou diferenças significantes no tratamento: [  $F_{5,54} = 25,08$ ;  $p < 0,0001$  ], na primeira fase, e [  $F_{5,54} = 10,09$ ;  $p < 0,0001$  ], na segunda fase do teste da formalina.

A comparação “post hoc”, utilizando-se o teste de Newman-Keuls na primeira fase, revelou que, após as injeções repetidas de MAZ, de LID e de COC, os animais mostraram efeito antinociceptivo estatisticamente significativo, no dia do teste, quando comparados com o respectivo grupo injetado

com VEÍC. Por outro lado, na segunda fase do teste da formalina, somente a COC apresentou resposta analgésica significativa em relação ao mesmo parâmetro analisado. Embora nessa fase tenha sido observada a redução do tempo de lambida das patas seguida à administração repetida de MAZ e de LID, os resultados não revelaram significância estatística.

Na análise entre os tratamentos agudo e repetido, os seguintes tratamentos foram considerados para comparação: cocaína, 20 mg/kg; mazindol, 1,25 mg/kg e lidocaína, 10 mg/kg. A comparação estatística (ANOVA de uma via) indicou diferenças significantes: [ $F_{5,54} = 15,98$ ;  $p < 0,0001$ ], na primeira fase, e [ $F_{5,54} = 29,16$ ;  $p < 0,0001$ ], na segunda fase do teste da formalina. Em seguida, os resultados foram analisados empregando-se o teste de Newman-Keuls, sendo detectado aumento significativo da analgesia somente com o uso de LID (10 mg/kg), em ambas as fases do teste da formalina ( $p < 0,05$ ).

Em nenhuma das doses utilizadas, o MAZ, a LID e a COC afetaram a coordenação motora no teste do “rota-rod” (Tabela 3).

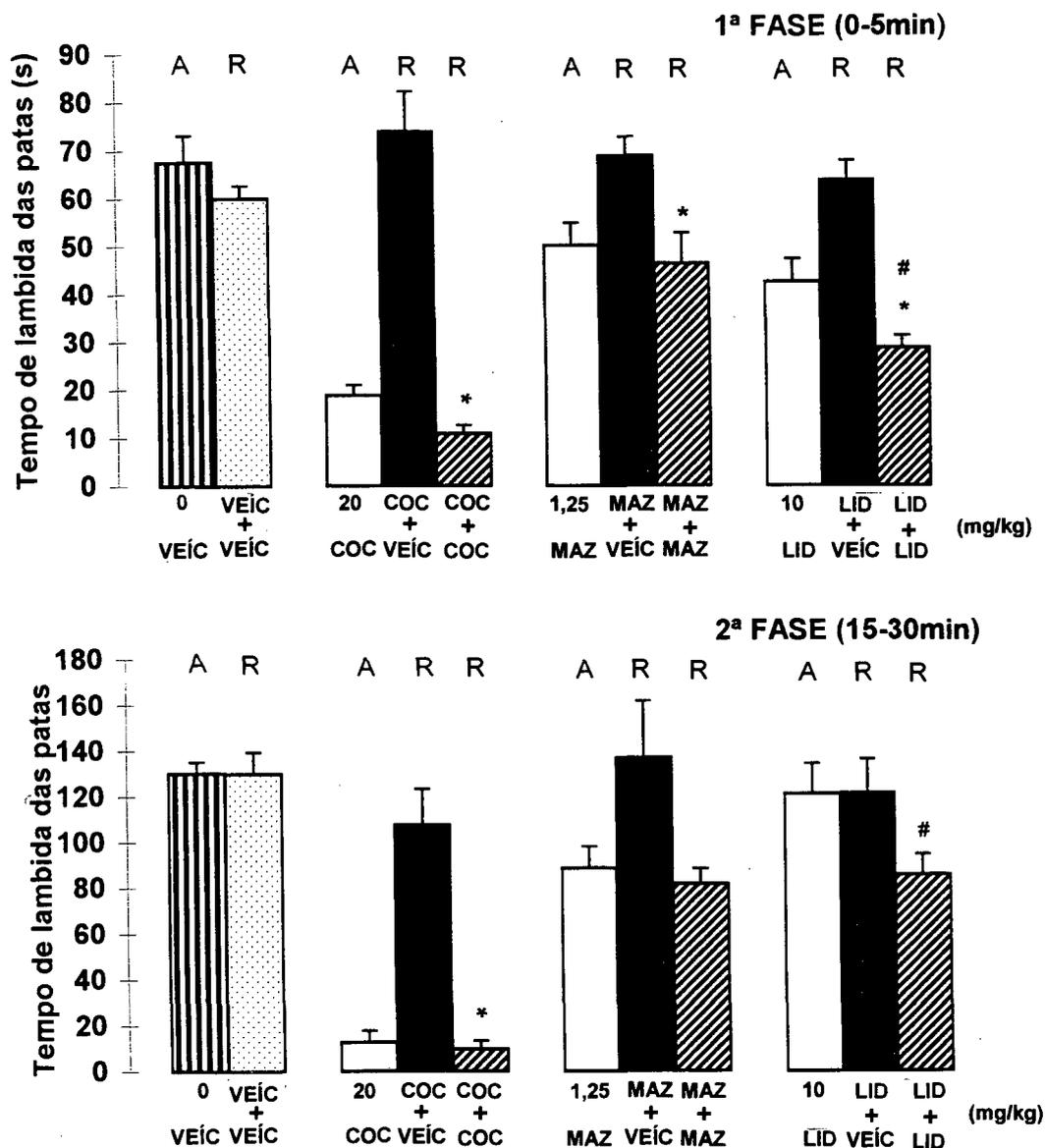


Figura 5 - Efeito antinociceptivo da administração aguda (A) e repetida (R) do mazindol (1,25 mg/kg, i.p.), lidocaína (10 mg/kg, i.p.) e cocaína (20 mg/kg, i.p.) na primeira e na segunda fase do teste da formalina. Após tratamento repetido durante 7 dias, os grupos foram subdivididos, recebendo no 10º dia a injeção i.p. de veículo ou da respectiva droga, iniciando o teste somente 15 minutos após o último tratamento.

Os dados são expressos como a média  $\pm$  e.p.m. de 10 animais.

\*  $p < 0,05$  em relação ao respectivo grupo controle.

#  $p < 0,05$  em relação ao tratamento agudo.

Teste de Newman Keuls.

Tabela 3 - Efeito do tratamento repetido (10 dias, i.p.) do mazindol, da lidocaína e da cocaína sobre a coordenação motora.

Tempo de permanência no "rota-rod" (s)

Tratamento mg/kg i.p.	Tempo decorrido após a injeção de formalina (min)		
	03	20	30
Veículo	118,6 ± 0,6	119,6 ± 0,3	120,0 ± 0,0
Cocaína 20	120,0 ± 0,0	120,0 ± 0,0	119,6 ± 0,3
Mazindol 1,25	119,6 ± 0,3	120,0 ± 0,0	120,0 ± 0,0
Lidocaína 10	120,0 ± 0,0	120,0 ± 0,0	120,0 ± 0,0

Os valores representam a média ± e.p.m. de 06 animais.

#### **4.3 - Efeito do tratamento prévio com haloperidol, sulpirida e SCH 23390 na antinocicepção induzida por mazindol e lidocaína administrados por via intraperitoneal.**

Esse protocolo experimental visou verificar o envolvimento do sistema DAérgico na antinocicepção causada pela administração aguda de MAZ e LID.

As doses de MAZ (5 mg/kg) e de LID (10 mg/kg) que demonstraram resposta analgésica intermediária no tratamento agudo foram selecionadas para o estudo da influência de mecanismos DAérgicos, por meio do tratamento prévio com haloperidol (HAL) e SUL, antagonistas com maior afinidade de ligação por receptores D<sub>2</sub>, e com SCH, antagonista seletivo de receptor D<sub>1</sub>.

As doses de HAL (0,2 mg/kg), SUL (5 mg/kg) e SCH (0,03 mg/kg) empregadas nesse protocolo experimental foram baseadas em experimentos prévios e/ou pilotos realizados no laboratório da Farmacologia da UFSC.

No estudo aqui relatado, os animais receberam duas injeções: a primeira de antagonista ou de VEÍC, seguida por MAZ (5 mg/kg), LID (20 mg/kg), COC (20 mg/kg), ou por VEÍC administrados por via i.p., de acordo com cada experimento. O tempo decorrido entre a primeira e a segunda injeção foi de 15 minutos, e os animais só receberam formalina, na superfície intraplantar da pata posterior direita, após 15 minutos da última administração (Tabela 4).

Tabela 4 - Protocolo experimental do tratamento prévio (i.p.) com haloperidol, sulpirida e SCH 23390.

Tratamento mg/kg, i.p.	N	Tratamento mg/kg, i.p.	N
Veíc + Veíc	10	Hal 0,2 + Veíc	10
Veíc + Coc 20	10	Hal 0,2 + Coc 20	10
Veíc + Maz 5	10	Hal 0,2 + Maz 5	10
Veíc + Lid 20	10	Hal 0,2 + Lid 20	10
Sul 5 + Veíc	10	SCH 0,03 + Veíc	10
Sul 5 + Coc 20	10	SCH 0,03 + Coc 20	10
Sul 5 + Maz 5	10	SCH 0,03 + Maz 5	10
Sul 5 + Lid 20	10	SCH 0,03 + Lid 20	10

N = Número total de camundongos.

O tempo esperado entre a primeira e a segunda administração foi de 15 minutos. A injeção de formalina na pata foi efetuada 15 minutos após o último tratamento.

Os resultados do tratamento prévio com HAL (0,2 mg/kg) e SUL (5 mg/kg) injetados por via i.p. estão ilustrados na Figura 6.

Utilizando-se o teste de análise de variância (ANOVA de duas vias) foi evidenciado significância estatística entre os tratamentos: [ $F_{3,72} = 43,39$ ;  $p < 0,0000001$ ], na primeira fase, e [ $F_{3,72} = 22,29$ ;  $p < 0,0000001$ ], na segunda fase do teste. Com relação aos tratamentos prévios, a ANOVA de duas vias demonstrou os seguintes resultados: HAL [ $F_{3,72} = 8,95$ ;  $p < 0,003$ ], na primeira fase, e [ $F_{3,72} = 14,94$ ;  $p < 0,0002$ ], na segunda fase do teste; SUL [ $F_{3,72} = 20,05$ ;  $p < 0,00002$ ], na primeira fase, e [ $F_{3,72} = 12,10$ ;  $p < 0,0008$ ], na segunda fase do teste da formalina. Além disso, quando foi realizado a interação entre os tratamentos prévios com HAL (0,2 mg/kg) e SUL (5 mg/kg) e os tratamentos com

MAZ (5 mg/kg), LID (20 mg/kg) e COC (20 mg/kg) foi evidenciado os seguintes resultados: HAL [ $F_{3,72} = 9,28$ ;  $p < 0,00002$ ], na primeira fase, e [ $F_{3,72} = 8,94$ ;  $p < 0,00004$ ], na segunda fase do teste; SUL [ $F_{3,72} = 2,76$ ;  $p < 0,047$ ], na primeira fase, e [ $F_{3,72} = 4,43$ ;  $p < 0,006$ ], na segunda fase do teste da formalina.

Na análise posterior, teste de Newman Keuls, evidenciou-se que HAL (0,2 mg/kg) e SUL (5 mg/kg) reverteram a resposta antinociceptiva produzida pela administração i.p. de MAZ (5 mg/kg) nas duas fases do teste. Esse tratamento, entretanto, não interferiu no efeito analgésico induzido por LID (20 mg/kg),  $p > 0,05$ .

A Figura 7 demonstra o efeito da administração prévia de SCH (0,03 mg/kg) sobre a atividade analgésica de MAZ, LID e COC administrados por via i.p.

A análise estatística efetuada por meio da ANOVA de duas vias mostrou significância entre os tratamentos: [ $F_{3,72} = 28,83$ ;  $p < 0,0000001$ ], na primeira fase, e [ $F_{3,72} = 44,42$ ;  $p < 0,0000001$ ], na segunda fase do teste. Com relação ao tratamento prévio com SCH, o teste de análise de variância (ANOVA de duas vias), evidenciou os seguintes resultados: [ $F_{3,72} = 2,27$ ;  $p = 0,135$ ], na primeira fase, e [ $F_{3,72} = 1,09$ ;  $p = 0,299$ ], na segunda fase do teste da formalina. A interação entre o tratamento prévio e os tratamentos não demonstrou significância estatística: [ $F_{3,72} = 2,22$ ;  $p = 0,925$ ], na primeira fase, e [ $F_{3,72} = 0,61$ ;  $p = 0,614$ ], na segunda fase do teste.

Como era de se esperar, a análise “post hoc” , utilizando-se o teste de Newman-Keuls, demonstrou que o tratamento prévio com SCH, não alterou significativamente as respostas antinociceptivas de MAZ (5 mg/kg) e LID (20 mg/kg).

A ação analgésica da COC foi inibida por HAL e SUL, em ambas as fases do teste, porém, com o emprego de SCH, essa resposta não foi evidenciada.

O MAZ, a LID e a COC, administrados separadamente ou na presença de HAL, SUL ou SCH, não afetaram a coordenação motora no teste do “rota-rod” (Tabela 5).

A análise estatística, utilizando-se o teste de Newman Keuls, revelou que não houve diferença significativa entre os animais tratados isoladamente com HAL, SUL e SCH, quando as respostas foram comparadas com as do grupo tratado com VEÍC.

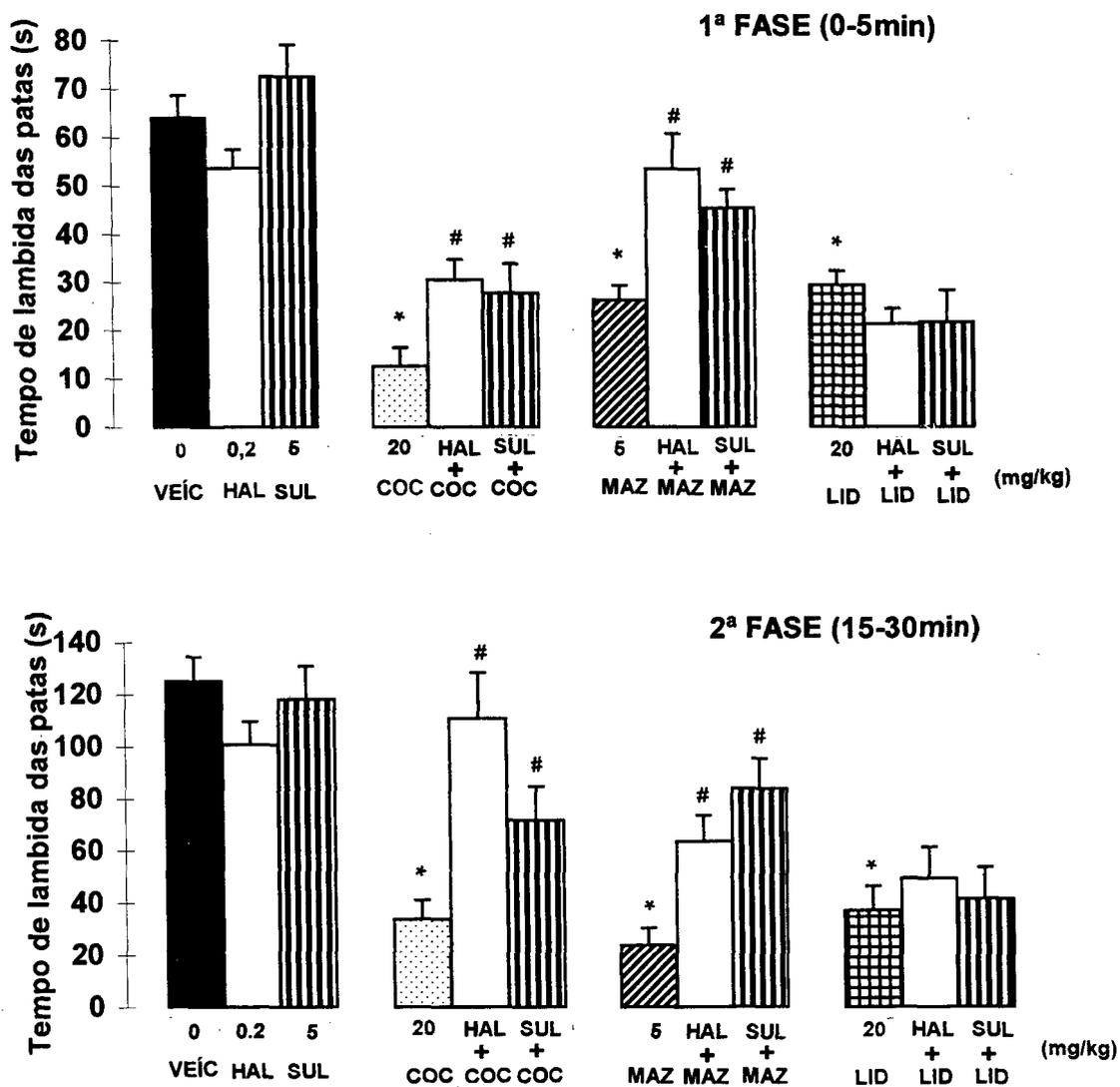


Figura 6 - Influência do tratamento prévio com haloperidol (0,2 mg/kg, i.p.) e sulpirida (5 mg/kg, i.p.) sobre a atividade antinociceptiva causada pela administração de mazindol (5 mg/kg, i.p.), lidocaína (20 mg/kg, i.p.) e cocaína (20 mg/kg, i.p.) na primeira e na segunda fase do teste da formalina, 15 minutos após a última administração. Os dados são expressos como a média  $\pm$  e.p.m. de 10 animais.

\*  $p < 0,05$  em relação ao grupo tratado com veículo.

#  $p < 0,05$  em relação ao respectivo grupo controle.

Teste de Newman Keuls.

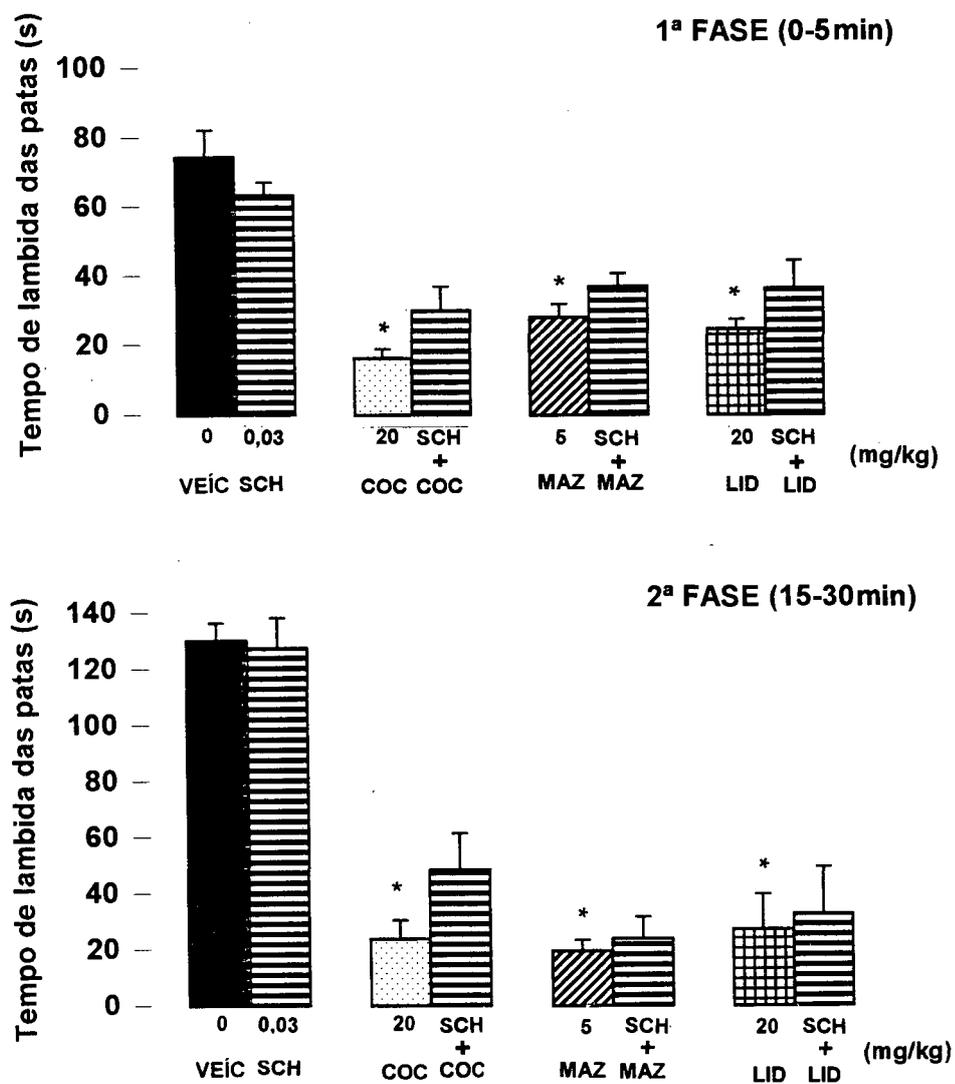


Figura 7 - Influência do tratamento prévio com SCH 23390 (0,03 mg/kg, i.p.) sobre a atividade antinociceptiva causada pela administração de mazindol (5 mg/kg, i.p.), lidocaína (20 mg/kg, i.p.) e cocaína (20 mg/kg, i.p.) na primeira e na segunda fase do teste da formalina, 15 minutos após a última administração. Os dados são expressos como a média  $\pm$  e.p.m. de 10 animais.

\*  $p < 0,05$  em relação ao grupo tratado com veículo.

Teste de Newman Keuls.

Tabela 5 - Efeito do tratamento prévio (i.p.) com haloperidol, sulpirida e SCH 23390 sobre a coordenação motora de camundongos tratados com mazindol, lidocaína e cocaína.

Tratamento mg/kg i.p.	Tempo de permanência no "rota-rod" (s)		
	Tempo decorrido após a injeção de formalina (min)		
	03	20	30
Veículo	119,6 ± 0,3	119,5 ± 0,5	119,6 ± 0,3
Haloperidol 0,2	118,6 ± 0,6	118,6 ± 0,6	119,0 ± 0,6
Hal 0,2 + Coc 20	119,6 ± 0,3	120,0 ± 0,0	119,6 ± 0,3
Hal 0,2 + Maz 5	118,3 ± 0,6	117,6 ± 1,2	119,0 ± 1,0
Hal 0,2 + Lid 20	119,3 ± 0,4	120,0 ± 0,0	119,3 ± 0,4
Sulpirida 5	120,0 ± 0,0	120,0 ± 0,0	120,0 ± 0,0
Sul 5 + Coc 20	119,6 ± 0,3	120,0 ± 0,0	120,0 ± 0,0
Sul 5 + Maz 5	118,6 ± 0,6	119,3 ± 0,4	120,0 ± 0,0
Sul 5 + Lid 20	119,0 ± 0,6	120,0 ± 0,0	120,0 ± 0,0
SCH 23390 0,03	119,3 ± 0,6	119,6 ± 0,3	119,6 ± 0,3
SCH 0,03 + Coc 20	120,0 ± 0,0	120,0 ± 0,0	120,0 ± 0,0
SCH 0,03 + Maz 5	119,3 ± 0,6	120,0 ± 0,0	119,6 ± 0,3
SCH 0,03 + Lid 20	120,0 ± 0,0	119,6 ± 0,3	119,6 ± 0,0

Os valores representam a média ± e.p.m. de 06 animais.

#### **4.4 - Efeito do tratamento prévio com naloxona na antinocicepção induzida por mazindol e lidocaina administrados por via intraperitoneal.**

Esse experimento teve por objetivo investigar o envolvimento do sistema opióide na resposta analgésica induzida por MAZ e LID.

O efeito antinociceptivo observado nos animais tratados com MAZ (5 mg/kg) e LID (20 mg/kg) foi investigado na ausência e na presença de NAL, antagonista opióide com maior afinidade pelos receptores do tipo  $\mu$ .

A dose de NAL, 2 mg/kg, empregada nesse protocolo experimental foi baseada em experimentos anteriores, realizados no laboratório da Farmacologia da UFSC.

Os animais receberam duas injeções: a primeira de antagonista ou de VEÍC, seguida por MAZ (5 mg/kg), LID (20 mg/kg), COC (20 mg/kg), ou por VEÍC administrados por via i.p., de acordo com cada experimento. O tempo esperado entre a primeira e a segunda injeção foi de 15 minutos e os animais só receberam a injeção de formalina, na superfície intraplantar da pata posterior direita, após 15 minutos da última administração (Tabela 6).

Tabela 6 - Protocolo experimental do tratamento prévio (i.p.) com naloxona.

Tratamento mg/kg i.p.	N
Nal 2 + Veíc	10
Nal 2 + Coc 20	10
Nal 2 + Maz 5	10
Nal 2 + Lid 20	10

N = Número total de camundongos.

O tempo esperado entre a primeira e a segunda administração foi de 15 minutos. A injeção de formalina na pata foi efetuada 15 minutos após o último tratamento.

Os resultados do tratamento prévio com NAL na antinocicepção induzida por MAZ, LID e COC estão ilustrados na Figura 8.

Utilizando-se o teste de análise de variância (ANOVA de duas vias) foi evidenciado significância estatística entre os tratamentos:  $[F_{3,72} = 67,72; p < 0,0000001]$ , na primeira fase, e  $[F_{3,72} = 31,70; p < 0,0000001]$ , na segunda fase do teste da formalina. Com relação ao tratamento prévio com NAL e o grupo tratado com as drogas, a ANOVA de duas vias, demonstrou significância estatística na primeira fase do teste:  $[F_{3,72} = 10,64; p < 0,0016]$ , porém, na segunda fase, não evidenciou-se diferença significativa:  $[F_{3,72} = 0,19; p = 0,65]$ . Os resultados da interação entre o tratamento prévio e os tratamentos foram estatisticamente significantes somente na primeira fase:  $[F_{3,72} = 5,58; p < 0,0016]$ , porém na segunda fase do teste, não observou-se diferença significativa:  $[F_{3,72} = 0,83; p = 0,47]$ .

Em seguida, os resultados foram analisados utilizando-se o teste de Newman-Keuls. Essa análise estatística revelou que o tratamento prévio de camundongos com NAL (2 mg/kg) inibiu o efeito antinociceptivo do MAZ (5 mg/kg) na primeira fase; entretanto o mesmo tratamento não foi capaz de interferir na ação analgésica causada por COC (20 mg/kg) e LID (20 mg/kg) no teste da formalina ( $p > 0,05$ ).

O tratamento prévio com NAL, não alterou significativamente as respostas antinociceptivas de MAZ (5 mg/kg) e LID (20 mg/kg), na segunda fase do teste da formalina, porém, embora os camundongos tratados com COC, em presença de NAL, tenham demonstrado uma tendência de reverter o efeito analgésico produzido pela primeira, esse efeito não foi estatisticamente significativo ( $p = 0,78$ ).

O MAZ, a LID e a COC, administrados isoladamente ou na presença do antagonista opióide, não afetaram a coordenação motora no teste do “rotarod” (Tabela 7).

Não foi observada diferença estatística, comparando-se os animais testados separadamente com NAL com os do grupo tratado com VEÍC, em nenhuma das fases do teste da formalina.

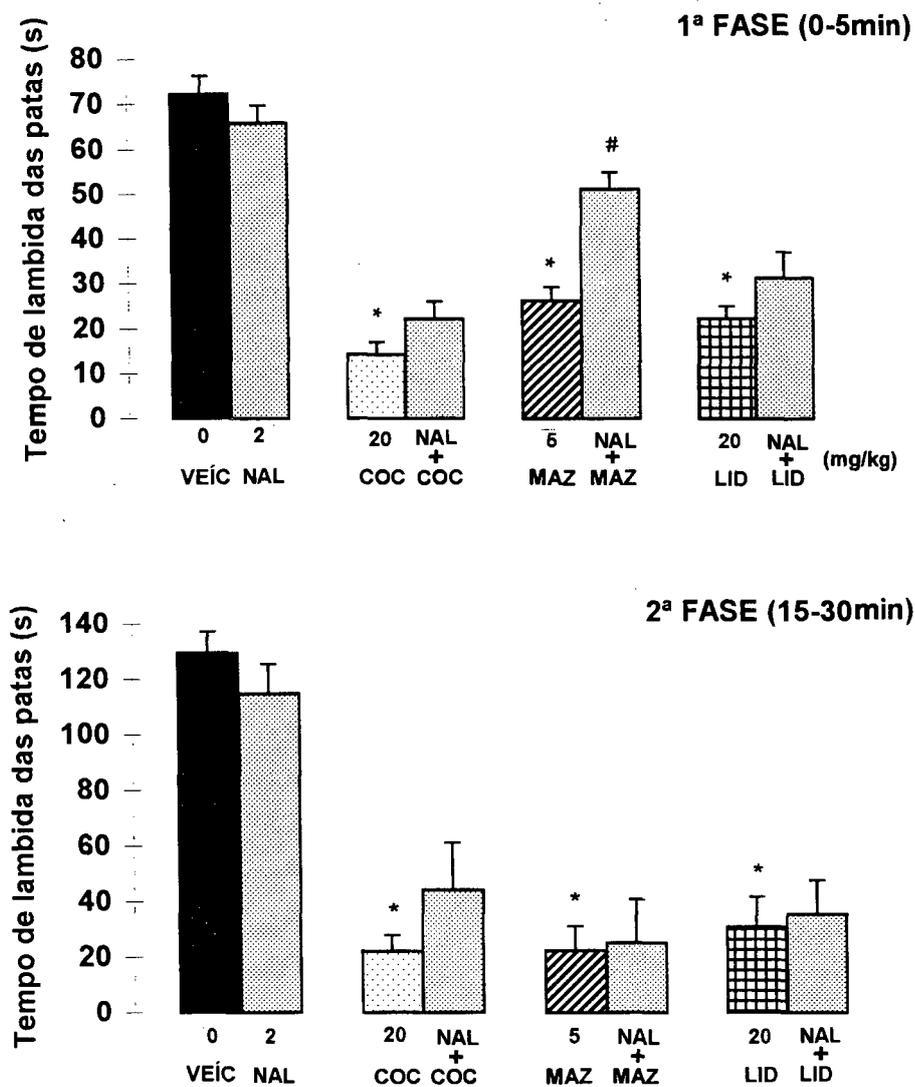


Figura 8 - Influência do tratamento prévio com naloxona (2 mg/kg, i.p.) sobre a atividade antinociceptiva causada pela administração de mazindol (5 mg/kg, i.p.), lidocaína (20 mg/kg, i.p.) e cocaína (20 mg/kg, i.p.) na primeira e na segunda fase do teste da formalina, 15 minutos após a última administração. Os dados são expressos como a média  $\pm$  e.p.m. de 10 animais.

\*  $p < 0,05$  em relação ao grupo tratado com veículo.

#  $p < 0,05$  em relação ao respectivo grupo controle.

Teste de Newman Keuls.

Tabela 7 - Efeito do tratamento prévio (i.p.) com naloxona sobre a coordenação motora de camundongos tratados com mazindol, lidocaína e cocaína.

Tempo de permanência no "rota-rod" (s)

Tratamento mg/kg i.p.	Tempo decorrido após a injeção de formalina (min)		
	03	20	30
Veículo	119,6 ± 0,3	119,5 ± 0,5	119,6 ± 0,3
Naloxona 2	119,3 ± 0,4	120,0 ± 0,0	120,0 ± 0,0
Nal 2 + Coc 20	119,3 ± 0,6	120,0 ± 0,0	120,0 ± 0,0
Nal 2 + Maz 5	118,6 ± 0,6	120,0 ± 0,0	120,0 ± 0,0
Nal 2 + Lid 20	120,0 ± 0,0	120,0 ± 0,0	120,0 ± 0,0

Os valores representam a média ± e.p.m. de 06 animais.

#### **4.5 - Efeito antinociceptivo da associação de mazindol ou lidocaína (i.p.) com morfina (s.c.) e o efeito da administração isolada dessas drogas.**

Este protocolo experimental visou verificar se a associação de MAZ+MOR e de LID+MOR modifica as respostas analgésicas observadas com essas drogas administradas isoladamente.

A dose empregada no experimento, bem como a via de administração da MOR (2 mg/kg), foram selecionadas da literatura a partir de estudos correlatos, podendo ser considerada adequada, já que a resposta analgésica produzida por essa dose é revertida pela administração prévia com NAL (GYIRES et alli 1985)

Nesse protocolo experimental, foram utilizadas doses baixas de MAZ, LID e COC, para que se observasse com maior clareza o efeito analgésico produzido pela associação dessas drogas com a MOR, ficando as referidas doses assim estabelecidas: MAZ (1,25 mg/kg), LID (10 mg/kg) e COC (10 mg/kg).

Os animais receberam, por via i.p., a injeção de MAZ (1,25 mg/kg), LID (10 mg/kg) ou COC (10 mg/kg), administrados separadamente ou simultaneamente com a morfina (2 mg/kg). O teste da formalina só foi iniciado após 15 minutos da administração das drogas (Tabela 8).

Tabela 8 - Protocolo experimental da associação de mazindol, lidocaína e cocaína (i.p.) com morfina (s.c.) e da administração isolada dessas drogas.

Tratamento		N
mg/kg		
	Veículo	6
	Cocaína 10 (i.p.)	6
	Mazindol 1,25 (i.p.)	6
	Lidocaína 10 (i.p.)	6
	Morfina 2 (s.c.)	6
Cocaína 10 (i.p.) + Morfina 2 (s.c.)		6
Mazindol 1,25 (i.p.) + Morfina 2 (s.c.)		6
Lidocaína 10 (i.p.) + Morfina 2 (s.c.)		6

N = Número total de camundongos.

O tempo esperado entre a administração das drogas e a injeção de formalina foi de 15 minutos.

As respostas dos tratamentos com MAZ, LID, COC e MOR, administrados isoladamente, e a associação da MOR com essas drogas estão ilustradas na Figura 9.

Os tratamentos utilizados com as drogas citadas na tabela 8 apresentaram nítida redução do tempo de lambida das patas, em relação aos animais tratados com VEÍC, na segunda fase do teste: [ $F_{7,40} = 10,52$ ;  $p < 0,0001$ ], porém, com exceção da LID (10 mg/kg), na primeira fase desse modelo experimental, os animais exibiram o mesmo perfil de resposta: [ $F_{7,40} = 6,03$ ;  $p < 0,0001$ ].

A comparação do efeito da associação de MAZ+MOR, LID+MOR e COC+MOR, em relação ao grupo de animais tratados separadamente com essas drogas, evidenciou significativa diferença estatística: [ $F_{6,35} = 3,44$ ;  $p = 0,0089$ ],

na primeira fase, e [ $F_{6,35} = 6,05$ ;  $p = 0,0002$ ], na segunda fase do teste da formalina (ANOVA de uma via).

Posteriormente, os resultados foram analisados, utilizando-se a comparação “post hoc” por meio do teste de Newman-Keuls.

No momento em que o MAZ foi associado com a MOR, observou-se efeito aditivo estatisticamente significativo na primeira fase do teste, quando essa associação foi comparada com a resposta apresentada pela administração isolada de MOR e de MAZ.

Da mesma forma, a associação de LID+MOR também evidenciou efeito aditivo, na segunda fase do teste, quando a resposta do tratamento combinado foi comparada com a do grupo tratado com LID separadamente.

Embora as associações de LID+MOR, na primeira fase, de MAZ+MOR e de COC+MOR, na segunda fase do teste, tenham demonstrado redução acentuada no tempo de lambida das patas, essas respostas não foram estatisticamente significantes, quando comparadas com as respostas dos animais que receberam somente MOR ou com as respostas dos animais que foram tratados isoladamente com MAZ e COC.

O MAZ, a LID, a COC e a MOR, administrados separadamente, e a associação da MOR com essas drogas não afetaram a coordenação motora no teste do “rota-rod” (Tabela 9).

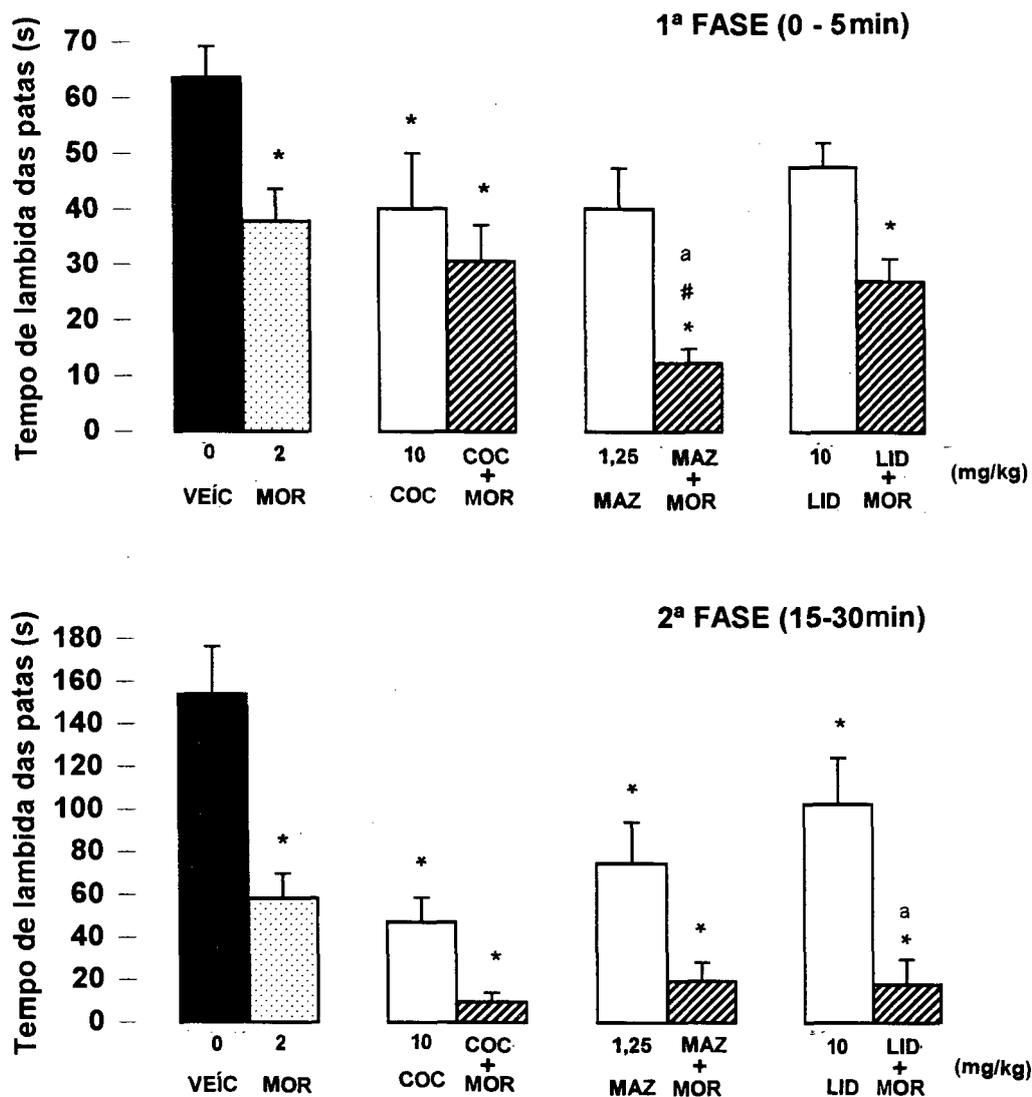


Figura 9 - Efeito antinociceptivo de mazindol (1,25 mg/kg, i.p.), lidocaina (10 mg/kg, i.p.), cocaína (10 mg/kg, i.p.) e morfina (2 mg/kg, s.c.) e a associação da morfina com essas drogas na primeira e na segunda fase do teste da formaiina, 15 minutos após os tratamentos. Os dados são expressos como a média  $\pm$  e.p.m. de 6 animais.

\*  $p < 0,05$  em relação ao grupo tratado com veículo.

#  $p < 0,05$  em relação ao grupo tratado com morfina.

<sup>a</sup>  $p < 0,05$  em relação ao respectivo grupo tratado com a droga isoladamente.

Teste de Newman Keuls.

Tabela 9 - Efeito sobre a coordenação motora do tratamento combinado de mazindol, lidocaína, cocaína (i.p.) com morfina (s.c.) e da administração isolada dessas drogas.

Tempo de permanência no "rota-rod" (s)

Tratamento mg/kg	Tempo decorrido após a injeção de formalina (min)		
	30	60	90
Veículo	119,6 ± 0,3	119,6 ± 0,3	119,6 ± 0,3
Cocaína 10 (i.p.)	120,0 ± 0,0	120,0 ± 0,0	120,0 ± 0,0
Mazindol 1,25 (i.p.)	119,6 ± 0,3	120,0 ± 0,0	120,0 ± 0,0
Lidocaína 10 (i.p.)	120,0 ± 0,0	120,0 ± 0,0	120,0 ± 0,0
Morfina 2 (s.c.)	120,0 ± 0,0	120,0 ± 0,0	119,6 ± 0,3
Coc 10 (i.p.) + Mor 2 (s.c.)	119,3 ± 0,4	119,6 ± 0,3	119,3 ± 0,3
Maz 1,25 (i.p.) + Mor 2 (s.c.)	119,0 ± 0,4	119,3 ± 0,4	119,6 ± 0,3
Lid 10 (i.p.) + Mor 2 (s.c.)	119,0 ± 0,6	120,0 ± 0,0	119,3 ± 0,4

Os valores representam a média ± e.p.m. de 06 animais.

#### **4.6 - Efeito antinociceptivo do mazindol e da lidocaína (i.t.) e efeito do tratamento prévio com sulpirida e naloxona (i.t.) na antinocicepção induzida por mazindol (i.p.).**

O protocolo 1 teve como objetivo investigar se a analgesia do MAZ e da LID, observada no tratamento agudo, poderia ter um sítio de ação em nível medular. No protocolo 2, foi avaliado o envolvimento dos sistemas DAérgico e opióide no efeito antinociceptivo induzido por MAZ, utilizando-se os antagonistas SUL e NAL (Tabela 10). Essa escolha se deu devido ao fato de que a resposta analgésica do MAZ (5 mg/kg, i.p.) foi inibida com o tratamento prévio de SUL (5 mg/kg, i.p.) e NAL (2 mg/kg, i.p.) (rever Figuras 6 e 8).

As doses de MAZ, LID (5, 10 e 20  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) e COC (20  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ), utilizadas no protocolo 1, foram estipuladas por meio de experimentos anteriores realizados no laboratório da UFSC. Por outro lado, a dose de SUL (16  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ , i.t.) e de NAL (1,2  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ , i.t.), usadas no protocolo 2, foram determinadas a partir da literatura, enquanto a dose de MAZ (5 mg/kg, i.p.) foi a mesma utilizada no tratamento prévio i.p.

A associação simultânea da solução do corante AE-5% com a solução de MAZ, LID e COC, utilizadas nesse estudo, teve por objetivo visualizar, por meio da coloração azul, o correto local da administração dessas drogas.

Os animais avaliados no protocolo 1 receberam um volume constante de 5  $\mu\text{l}$ , sendo 2,5 $\mu\text{l}$  de AE e 2,5  $\mu\text{l}$  de MAZ ou de LID, nas doses de 5, 10 e 20  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ , de acordo com cada experimento, enquanto, a COC, como controle

positivo, foi administrada somente na dose de 20  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ . Após 5 minutos de espera em uma caixa de plástico com serragem, os animais receberam a injeção intraplantar de formalina na pata.

No protocolo 2, um grupo de animais foi tratado com VEÍC (i.t.) e 5 minutos após com MAZ (5 mg/kg, i.p.), sendo a resposta desse grupo comparada com as respostas do tratamento prévio i.t.(técnica i.t., ver materiais e métodos).

Após serem levemente anestesiados, os animais foram tratados com SUL (16  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) e com NAL (1,2  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ), por via i.t. em um volume total de 5  $\mu\text{l}$ , sendo 2,5  $\mu\text{l}$  de AE e 2,5  $\mu\text{l}$  de antagonista, conforme o tratamento empregado. Logo em seguida, os camundongos foram colocados em uma caixa de plástico com serragem por 5 minutos e, após expirado esse tempo, receberam MAZ (5mg/kg) por via i.p., sendo imediatamente recolocados na caixa de plástico com serragem. Ali aguardaram 15 minutos até receberem a injeção de formalina na pata posterior direita (Tabela 10).

Tabela 10 - Protocolo experimental do tratamento com mazindol, lidocaína e cocaína (i.t.) e do tratamento prévio (i.t.) com sulpirida e naloxona sobre a resposta antinociceptiva do mazindol (i.p.).

<b>Tratamento</b> <b>µg/µl</b>	<b>Protocolo 1</b> <b>N</b>
Azul de Evans	6
Cocaína 20 (i.t.)	6
Mazindol 5, 10, 20 (i.t.)	6/dose
Lidocaína 5, 10, 20 (i.t.)	6/dose

<b>Tratamento prévio</b> <b>µg/µl e mg/kg</b>	<b>Protocolo 2</b> <b>N</b>
Azul de Evans	6
Sulpirida 16 (i.t.) + Veículo	6
Naloxona 1,2 (i.t.) + Veículo	6
Veículo + Mazindol 5 (i.p.)	6
Sulpirida 16 (i.t.) + Mazindol 5 (i.p.)	6
Naloxona 1,2 (i.t.) + Mazindol 5 (i.p.)	6

N = Número total de camundongos.

Protocolo 1 - O tempo esperado entre a administração das drogas e a injeção de formalina foi de 5 minutos.

Protocolo 2 - O tempo de espera entre a primeira e a segunda administração foi de 5 minutos. Os animais só receberam a injeção de formalina na pata após 15 minutos da última administração.

Os resultados da administração i.t. de MAZ e LID (5, 10 e 20 µg/µl) estão ilustrados na Figura 10.

A análise estatística efetuada (ANOVA de uma via), com os dados do protocolo 1, mostrou significância no tratamento quando essas respostas foram comparadas com as do grupo que recebeu VEÍC: [ $F_{7,40} = 4,58$ ;  $p < 0,0008$ ], na primeira fase do teste; entretanto, no intervalo de 15 a 30 minutos, as respostas dos grupos tratados com MAZ e com LID não diferiram da resposta do VEÍC: [ $F_{7,40} = 0,37$ ;  $p = 0,91$ ]. Posteriormente, os resultados da primeira fase foram analisados pelo teste de Newman Keuls, que revelou uma redução significativa das lambidas das patas, em relação ao grupo tratado com VEÍC, com todas as doses das drogas testadas. A COC (20  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) manteve o mesmo perfil de resposta do MAZ e da LID, em ambas as fases do teste.

Os resultados do tratamento prévio com SUL (16  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ , i.t) e NAL (1,2  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ , i.t) sobre a atividade analgésica do MAZ (5 mg/kg, i.p.) estão ilustrados na Figura 11.

A comparação estatística (ANOVA de uma via) indicou diferença significativa entre os tratamentos prévios empregados para SUL: [ $F_{3,20} = 14,81$ ;  $p < 0,0001$ ] e para NAL: [ $F_{2,15} = 15,28$ ;  $p = 0,0002$ ], na primeira fase do teste da formalina. As respostas dos grupos tratados, entretanto, não diferiram da resposta do grupo que recebeu VEÍC, na segunda fase do teste.

Posteriormente, a análise estatística da primeira fase evidenciou, por meio do Teste de Newman Keuls, que os camundongos tratados previamente (i.t.) com SUL (16  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ , i.t) e NAL (1,2  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ , i.t.) reverteram o efeito antinoci-

ceptivo causado pela administração isolada de MAZ (5 mg/kg, i.p.) ( $p < 0,05$ ).

Após a administração das drogas incluídas nos dois protocolos, os animais submetidos ao teste do "rota-rod" não apresentaram alteração na coordenação motora (Tabela 11).

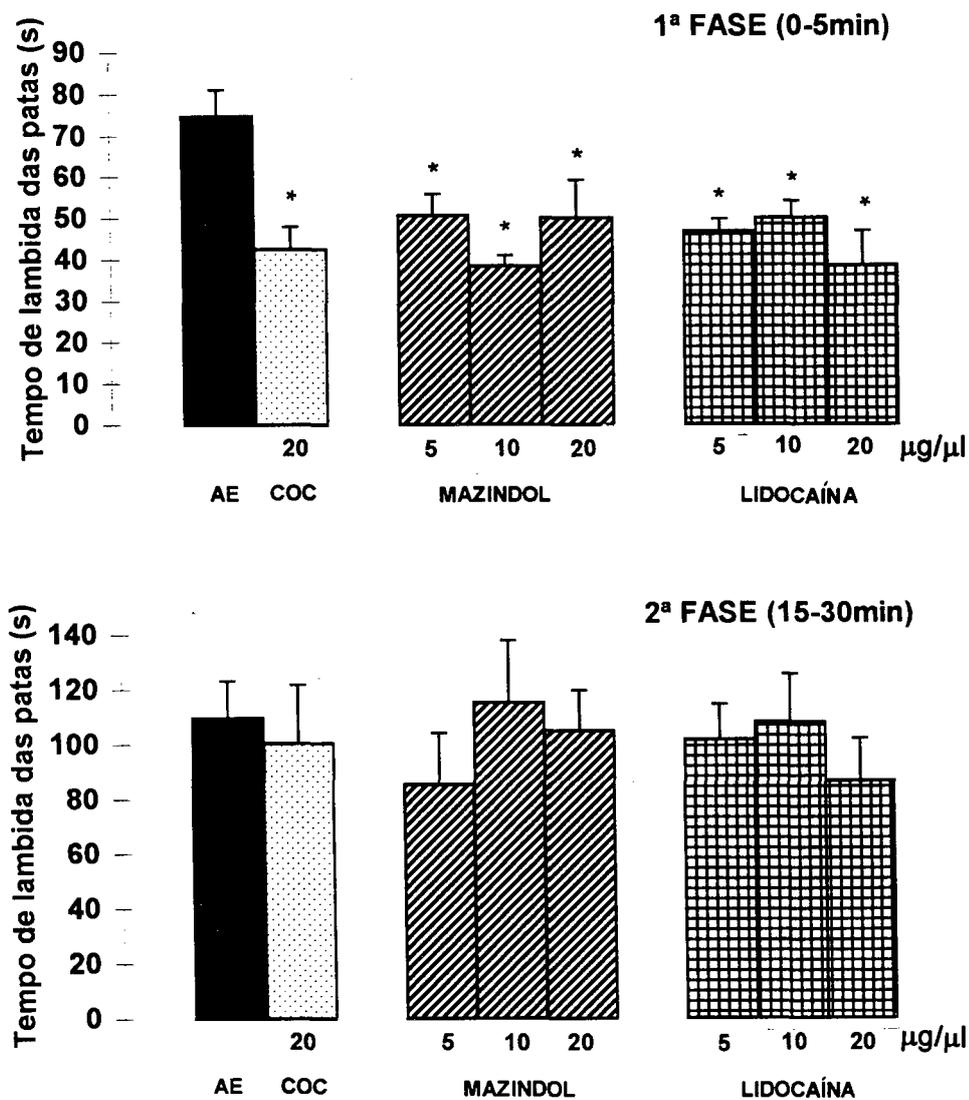


Figura 10 - Efeito antinociceptivo de mazindol (5-20 µg/µl, i.t.), lidocaína (5-20 µg/µl, i.t.) e cocaína (20 µg/µl, i.t.), administrados em um volume de 2,5 µl. Os animais foram avaliados na primeira e na segunda fase do teste da formalina, 5 minutos após os tratamentos. Os dados são expressos como a média ± e.p.m. de 6 animais.

\*  $p < 0,05$  em relação ao grupo tratado com veículo.

Teste de Newman Keuls.

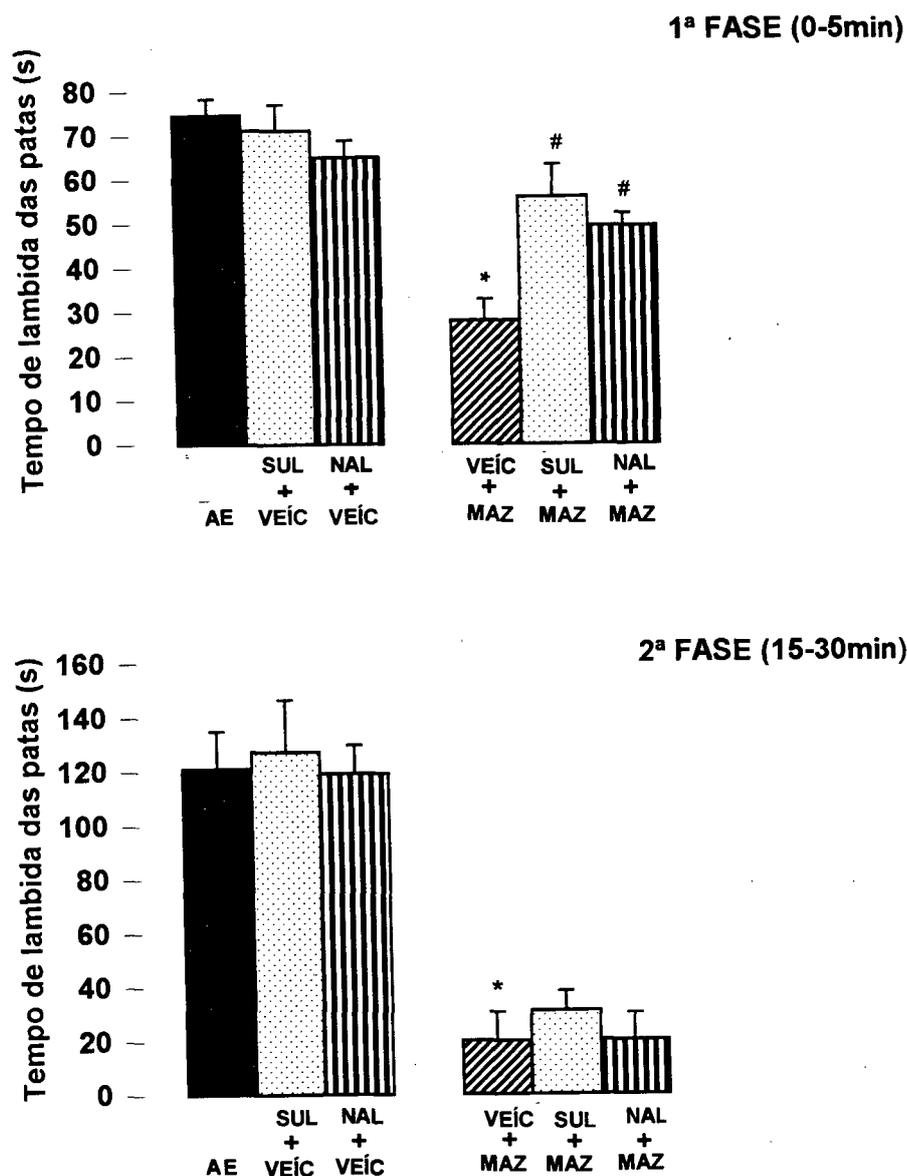


Figura 11 - Influência do tratamento prévio com sulpirida (16  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ , i.t.) e naloxona (1,2  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ , i.t.), administrados em um volume de 2,5  $\mu\text{l}$ , sobre a atividade antinociceptiva causada pela administração de mazindol (5 mg/kg, i.p.) na primeira e na segunda fase do teste da formalina, 15 minutos após a última administração. Os dados são expressos como a média  $\pm$  e.p.m. de 6 animais.

\*  $p < 0,05$  em relação ao grupo tratado com veículo.

#  $p < 0,05$  em relação ao respectivo grupo controle.

Teste de Newman Keuls.

Tabela 11 - Efeito sobre a coordenação motora do tratamento com mazindol, lidocaína e cocaína (i.t.) e do tratamento prévio com sulpirida e naloxona (i.t.) na antinocicepção do mazindol (i.p.).

Tempo de permanência no “rota-rod” (s)			
Tratamento $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	Tempo decorrido após a injeção de formalina (min)		
	30	60	90
Azul de Evans	$120,0 \pm 0,0$	$120,0 \pm 0,0$	$120,0 \pm 0,0$
Cocaína 20 (i.t.)	$119,6 \pm 0,3$	$120,0 \pm 0,0$	$119,6 \pm 0,3$
Mazindol 5 (i.t.)	$119,0 \pm 0,6$	$119,3 \pm 0,4$	$119,0 \pm 0,6$
Mazindol 10 (i.t.)	$119,0 \pm 1,0$	$120,0 \pm 0,0$	$119,3 \pm 0,4$
Mazindol 20 (i.t.)	$118,6 \pm 1,0$	$119,6 \pm 0,3$	$120,0 \pm 0,0$
Lidocaína 5 (i.t.)	$119,6 \pm 0,3$	$119,6 \pm 0,3$	$120,0 \pm 0,0$
Lidocaína 10 (i.t.)	$119,6 \pm 0,3$	$119,6 \pm 0,3$	$119,3 \pm 0,4$
Lidocaína 20 (i.t.)	$119,3 \pm 0,4$	$119,3 \pm 0,4$	$120,0 \pm 0,0$

Tratamento $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ e mg/kg			
	30	60	90
Azul de Evans	$120,0 \pm 0,0$	$120,0 \pm 0,0$	$120,0 \pm 0,0$
Sul 16 (i.t.) + Veíc	$120,0 \pm 0,0$	$120,0 \pm 0,0$	$120,0 \pm 0,0$
Nal 1,2 i.t.) + Veíc	$120,0 \pm 0,0$	$120,0 \pm 0,0$	$120,0 \pm 0,0$
Veíc + Maz 5 (i.p.)	$118,6 \pm 1,3$	$119,3 \pm 0,4$	$119,3 \pm 0,4$
Sul 16 (i.t.) + Maz 5 (i.p.)	$120,0 \pm 0,0$	$120,0 \pm 0,0$	$120,0 \pm 0,0$
Nal 1,2 i.t.) + Maz 5 (i.p.)	$120,0 \pm 0,0$	$120,0 \pm 0,0$	$120,0 \pm 0,0$

Os valores representam a média  $\pm$  e.p.m. de 06 animais.

#### 4.7 - Efeito antinociceptivo do mazindol e da lidocaína administrados por via intracerebroventricular.

Com o objetivo de investigar se a analgesia observada no tratamento agudo envolve sítios supra-medulares, utilizou-se a técnica de administração i.c.v. por meio de procedimento mencionado anteriormente em materiais e métodos, 3.4.

As doses de MAZ, LID (5, 10 e 20  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) e COC (20  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) foram definidas a partir de experimentos prévios realizados no laboratório da Farmacologia da UFSC.

Após 5 min da administração das drogas e do VEÍC via i.c.v., os animais foram avaliados pelo teste da formalina (Tabela 12).

Tabela 12 - Protocolo experimental do tratamento com mazindol, lidocaína e cocaína administrados por via intracerebroventricular.

Tratamento		N
$\mu\text{g}/\mu\text{l}$		
Veículo		6
Cocaína	20	6
Mazindol	5, 10 e 20	6/dose
Lidocaína	5, 10 e 20	6/dose

N = Número total de camundongos.

O tempo esperado entre a administração das drogas e a injeção de formalina foi de 5 minutos.

A Figura 12 apresenta os resultados dos tratamentos com MAZ e LID administrados por via i.c.v.

Nesse experimento foram observadas diferenças significantes nos resultados dos tratamentos em relação ao grupo tratado com VEÍC: [ $F_{7,40} = 7,15$ ;  $p < 0,0001$ ], na primeira fase, e [ $F_{7,40} = 10,66$ ;  $p < 0,0001$ ], na segunda fase do teste - ANOVA de uma via. A comparação “post hoc”, das doses utilizadas aplicando-se o teste de Newman Keuls, revelou efeito analgésico significante, sendo essa resposta não dependente da dose, em ambas as fases do teste da formalina. A COC (20  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ), utilizada como controle positivo, manteve o mesmo padrão de resposta do MAZ e da LID, nas duas fases do teste.

O MAZ, a LID e a COC, em nenhuma das doses testadas, afetaram a coordenação motora no teste do “rota-rod” (Tabela 13).

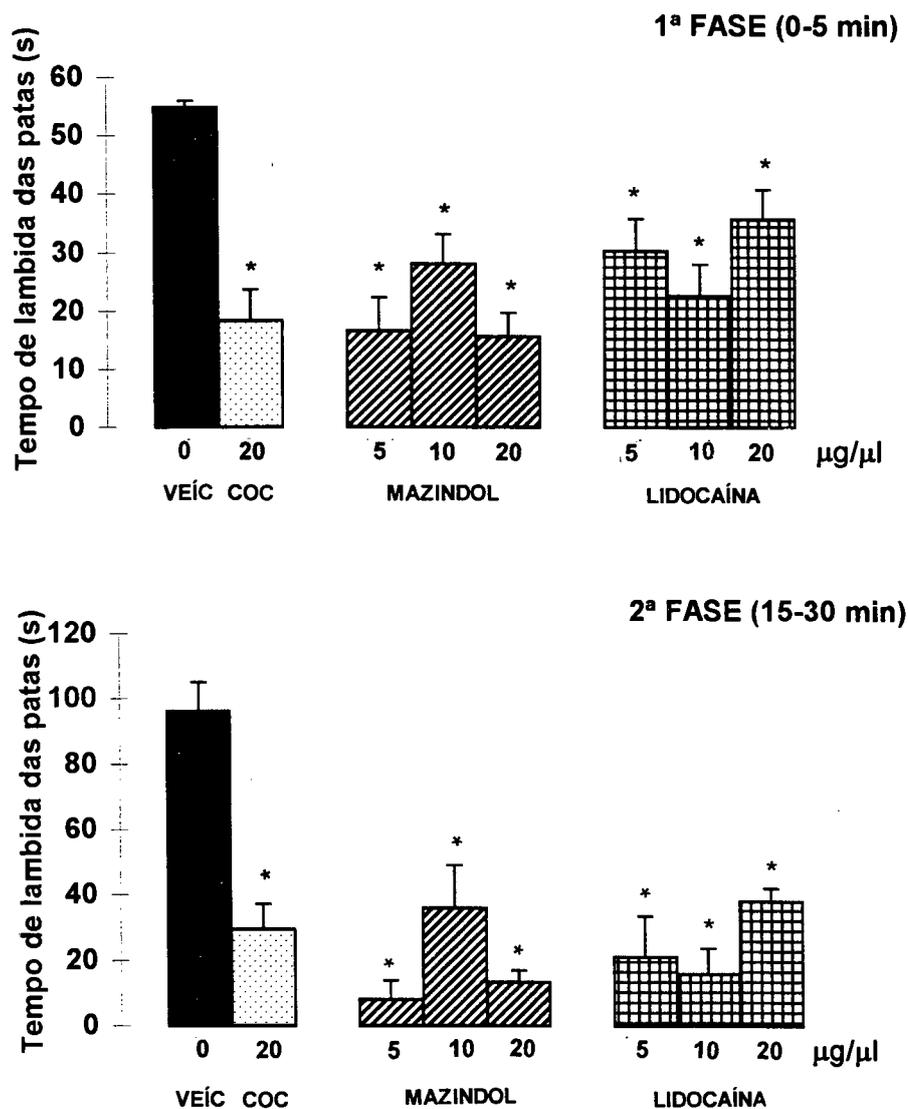


Figura 12 - Efeito antinociceptivo de mazindol (5-20 µg/µl, i.c.v.), lidocaína (5-20 µg/µl, i.c.v.) e cocaína (20 µg/µl, i.c.v.), administrados em um volume de 5 µl. Os animais foram avaliados na primeira e na segunda fase do teste da formalina, 5 minutos após os tratamentos. Os dados são expressos como a média ± e.p.m. de 6 animais.

\*  $p < 0,05$  em relação ao grupo tratado com veículo.

Teste de Newman Keuls.

Tabela 13 - Efeito sobre a coordenação motora do tratamento com mazindol, lidocaína e cocaína administrados por via intracerebroventricular.

Tempo de permanência no "rota-rod" (s)			
Tratamento $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	Tempo decorrido após a injeção de formalina (min)		
	30	60	90
Veículo	$120,0 \pm 0,0$	$119,6 \pm 0,3$	$120,0 \pm 0,0$
Cocaína 20	$120,0 \pm 0,0$	$120,0 \pm 0,0$	$120,0 \pm 0,0$
Mazindol 5	$120,0 \pm 0,0$	$120,0 \pm 0,0$	$120,0 \pm 0,0$
Mazindol 10	$119,0 \pm 0,6$	$119,0 \pm 0,6$	$119,0 \pm 0,6$
Mazindol 20	$119,6 \pm 0,3$	$120,0 \pm 0,0$	$120,0 \pm 0,0$
Lidocaína 5	$118,6 \pm 0,9$	$119,6 \pm 0,3$	$119,6 \pm 0,3$
Lidocaína 10	$120,0 \pm 0,0$	$120,0 \pm 0,0$	$120,0 \pm 0,0$
Lidocaína 20	$119,3 \pm 0,6$	$120,0 \pm 0,0$	$120,0 \pm 0,0$

Os valores representam a média  $\pm$  e.p.m. de 06 animais.

#### **4.8 - Efeito do mazindol e da lidocaína administrados por via intraperitoneal no edema de pata produzido por injeção intraplantar de formalina.**

O objetivo desse experimento foi verificar de uma forma preliminar se o MAZ e a LID teriam algum efeito na redução do edema de pata produzido por injeção intraplantar de formalina (Tabela 14).

As doses utilizadas foram selecionadas a partir do tratamento agudo, sendo definida a utilização de três doses de MAZ (1,25; 2,5 e 5 mg/kg) e de LID (10, 20 e 30 mg/kg) e de uma única dose de COC (20 mg/kg).

Para a avaliação do edema de pata, utilizou-se um “becker” contendo solução de lauril sulfato de sódio a 2,5% colocado sobre uma balança analítica, onde a pata direita de cada animal foi mergulhada até a junção tíbio-tarsal. O deslocamento do volume do líquido correspondeu ao peso da pata em miligramas (LARSEN e ARNT, 1985). Pelo fato de o lauril sulfato de sódio ser um detergente, ele foi utilizado nesse protocolo experimental com o objetivo de aderir à pata do animal e evitar conseqüentemente a formação de bolhas, que poderiam interferir nos resultados.

Antes de iniciar o tratamento com as drogas, a pata de cada animal foi pesada (peso basal), sob os mesmos procedimentos experimentais acima citados. Em uma etapa posterior, os camundongos receberam injeção i.p. de MAZ (1,25; 2,5 e 5 mg/kg), LID (10, 20 e 30 mg/kg) ou COC (20 mg/kg), conforme cada protocolo experimental. Os camundongos receberam a injeção de formalina na superfície intraplantar da pata posterior direita, somente após 15 mi-

nutos da administração das drogas mencionadas. A presença de edema na pata injetada foi observada passados 30, 60 e 90 minutos da injeção de formalina, visto que o edema de pata está presente na segunda fase do teste (HUNSKAAR e HOLE, 1987; CORRÊA e CALIXTO, 1993).

Tabela 14 - Efeito do mazindol, da lidocaína e da cocaína administrados por via intraperitoneal no edema de pata produzido por injeção intraplantar de formalina.

Variação do volume da pata (mg)

Tratamento	Dose (mg/kg)	Tempo decorrido após a injeção de formalina (min)		
		30	Dose (mg/kg)	90
Veículo	-	81,5 ± 5,35	-	75,8 ± 4,98
Cocaína	20	75,5 ± 14,3	20	72,0 ± 17,0
Mazindol	1,25	78,3 ± 11,2	1,25	97,5 ± 11,3
Mazindol	2,5	54,3 ± 7,12	2,5	80,5 ± 11,7
Mazindol	5	55,5 ± 5,92	5	79,1 ± 8,63
Lidocaína	10	64,5 ± 12,4	10	61,8 ± 11,7
Lidocaína	20	71,3 ± 4,90	20	77,6 ± 5,74
Lidocaína	30	62,8 ± 9,82	30	73,3 ± 7,86

Os valores representam a média ± e.p.m. de 06 animais.

A Tabela 14 apresenta os resultados de todos os tratamentos empregados, comparados com o grupo tratado com VEÍC, nos intervalos de 30, 60 e 90 minutos após a injeção intraplantar de formalina.

A análise estatística, efetuada por meio da ANOVA de uma via, a cada intervalo de tempo, indicou que não houve diferença significativa entre os tratamentos empregados: [ $F_{7,40} = 1,16$ ;  $p = 0,343$ , aos 30 minutos;  $F_{7,40} = 1,21$ ;  $p = 0,317$ , aos 60 minutos;  $F_{7,40} = 0,90$ ;  $p = 0,512$ , aos 90 minutos].

O MAZ, a LID e a COC, nas doses utilizadas, não afetaram a coordenação motora no teste do “rota-rod” (rever Tabela 1).

## 5 - DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo demonstram que o tratamento agudo de MAZ, LID e COC produz antinocicepção no teste da formalina, uma vez que se evidenciou significativa redução do tempo de lambida das patas entre os animais tratados com essas drogas e o grupo que recebeu VEÍC. Esses resultados parecem refletir um efeito analgésico consistente, visto que essas mesmas drogas não causaram incoordenação motora nos animais testados no “rota-rod”.

A seguir serão detalhadas as possíveis implicações dos resultados, conforme a seqüência do delineamento experimental efetuado: tratamento agudo, tratamento repetido, influência de antagonistas DAérgico e opióide, associação com a morfina, tratamento i.t., tratamento i.c.v. e edema de pata.

Um dos aspectos mais interessantes e relevantes observados neste estudo foi a antinocicepção, dependente da dose, induzida pelo MAZ (1,25; 2,5; 5 e 10 mg/kg), um agente anorexígeno, em ambas as fases do teste da formalina (Figura 4). Não se tem notícia até o momento, de relatos que demonstrem esse efeito antinociceptivo, porém o MAZ é conhecido por bloquear o mecanismo de captação de catecolaminas, ligando-se, com alta afinidade, no mesmo sítio de ligação da COC (JAVITCH et alli 1983). Dessa forma, os resultados obtidos sugerem que, no teste da formalina, o mecanismo envolvido na ação analgésica do MAZ pode estar parcialmente relacionado ao da COC, visto que ambas as drogas compartilham semelhantes efeitos comportamentais conforme

citado anteriormente na introdução (KRUK e ZARRINDAST, 1976; ZAMBOTTI et alli 1976).

Como era de se esperar, a COC (20 mg/kg) apresentou uma intensa resposta antinociceptiva, nas duas fases do teste da formalina, vindo ao encontro de estudos anteriores que indicam que essa droga possui propriedades analgésicas (LIN et alli 1989; PERTOVAARA et alli 1990; KIRITSY-ROY et alli 1994; GATCH et alli 1995).

Outra observação interessante foi o efeito antinociceptivo induzido por LID (20 e 30 mg/kg) nas duas fases do teste da formalina. De maneira semelhante, estudos anteriores, desenvolvidos no laboratório da Farmacologia, demonstraram que a LID significativamente aumentou as latências no teste da placa quente e no teste de retirada da cauda, além de ter reduzido, de modo dependente da dose, o número de contorções abdominais induzidas por ácido acético (RIGON e TAKAHASHI, 1996). Esses achados confirmam e estendem os dados da literatura que sugerem que outros anestésicos locais, além da COC, possuem propriedades analgésicas (WIESENFELD-HALLIN e LINDBLON, 1985; TASKER et alli 1987; BIELLA e SOTGIU, 1993).

Além das propriedades antinociceptivas e anestésicas locais, a COC é conhecida por seus efeitos psicoestimulantes. Sabe-se que, após um período de abstinência, a administração única de COC, mas não de salina, resulta em intensos comportamentos estereotipados (JOHNSON e SNELL, 1987). Essas respostas não são observadas em animais testados com COC em tratamento

agudo (HORGER et alli 1990). Esse psicoestimulante é conhecido por produzir sensibilização farmacológica em roedores, agindo por meio do bloqueio da recaptação promovendo conseqüentemente o aumento de DA na fenda sináptica (SEGAL e MEELL, 1974; POST e ROSE, 1976; KOLTA et alli 1985; REITH et alli 1986; ROBINSON e BECKER, 1986). Há evidências de que neurônios DAérgicos mesolímbicos possam desempenhar importante papel na mediação do desenvolvimento da sensibilização farmacológica induzida por psicoestimulantes (KALIVAS e STEWART, 1991). Confirmando essas considerações, estudo recente evidencia que animais expostos repetidamente ao MAZ também induzem sensibilização farmacológica ao seu efeito locomotor (ZANIN e TAKAHASHI, 1994).

Curiosamente quando se avaliou a ocorrência de sensibilização farmacológica nesse estudo, em ambas as fases do teste, o efeito de MAZ (1,25 mg/kg) administrado de forma repetida não diferiu da resposta analgésica do tratamento agudo, sugerindo que essa droga não desenvolve sensibilização a esse parâmetro comportamental (Figura 5).

Embora a administração repetida de COC (20 mg/kg) tenha demonstrado redução do tempo de lambida das patas em relação ao tratamento agudo, na primeira fase do teste, esse efeito não foi estatisticamente significativo; registrando-se, porém, a tendência de sensibilização farmacológica ao efeito analgésico dessa droga.

Por outro lado os animais tratados de forma repetida com LID (10 mg/kg) mostraram aumento significativo da analgesia na primeira e na segunda fase do teste da formalina, sugerindo que esses animais parecem ser mais suscetíveis a induzir sensibilização farmacológica ao efeito analgésico.

Ainda que, o aparecimento da sensibilização farmacológica pareça estar baseada em alterações na transmissão DAérgica, em regiões específicas do SNC (KALIVAS e WEBBER, 1988; KALIVAS e STEWART, 1991), é bastante aceita a idéia de que mecanismos múltiplos estariam envolvidos nas mudanças de efetividade de uma droga após exposições repetidas (GOUDIE e EMNETT-OGLESBY, 1989; TRUJILLO e AKIL, 1991). De acordo com essa hipótese, é possível sugerir que a sensibilização farmacológica ao efeito analgésico, evidenciada no presente estudo, envolve sistemas neuronais diferentes, visto que, essa sensibilização só foi demonstrada com a administração de LID (10 mg/kg), que recentemente foi descrita, por não envolver o sistema DAérgico (GRAHAM et alli 1995).

Embora a avaliação das principais vias de neurotransmissores subjacentes aos efeitos antinociceptivos obtidos com MAZ, LID e COC tenha sido efetuada de forma simplificada, com apenas uma dose, é possível correlacioná-los com os sistemas DAérgico e opióide pelas considerações abaixo.

O presente estudo demonstrou que o tratamento prévio com HAL (0,2 mg/kg) e SUL (5 mg/kg), antagonistas que agem preferentemente em receptores D<sub>2</sub>, mas não com SCH (0,03 mg/kg), antagonista seletivo D<sub>1</sub>, inibiu sig-

nificativamente as respostas antinociceptivas induzidas por MAZ (5 mg/kg) e COC (20 mg/kg) em ambas as fases do teste da formalina (Figuras 6 e 7). A reversão dessas respostas analgésicas está relacionada, provavelmente, à ação específica do MAZ e da COC sobre o sistema DAérgico.

Esses resultados estão de acordo com vários estudos que, utilizando antagonistas específicos, sugerem que os receptores DAérgicos D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub> estão envolvidos na analgesia de agonistas da DA, tal como COC, APO e d-ANF, no teste da formalina (LIN et alli 1989; MORGAN e FRANKLIN, 1990). Outros trabalhos demonstram a existência de influência de receptores D<sub>2</sub> na analgesia induzida por DA, agonistas de receptores D<sub>2</sub> ou agonistas DAérgicos mistos (LIU et alli 1992; SUAUDEAU e COSTENTIN, 1995; GONZALEZ-RIOS et alli 1986; MICHAEL-TITUS et alli 1990).

Por outro lado existem evidências que a resposta analgésica induzida por DA (LIU et alli 1992) e APO (GONZALEZ-RIOS et alli 1986), agonista DAérgico D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub>, é revertida por SUL mas não por SCH.

Assim sendo, o presente estudo sugere que receptores D<sub>2</sub> desempenham papel importante nas ações antinociceptivas do MAZ e da COC, e descartam o possível envolvimento de receptores D<sub>1</sub> da DA no efeito antinociceptivo provocado por essas drogas no teste da formalina, ao menos em camundongos e na dose empregada.

A constatação de que a resposta analgésica induzida por LID não foi inibida por HAL (0,2 mg/kg), SUL (5 mg/kg) e SCH (0,03 mg/kg), antago-

nistas DAérgicos utilizados nesse estudo, vem ao encontro de dados recentes da literatura que citam que anestésicos locais do grupo amida, assim como a LID, não afetam o metabolismo da DA (GRAHAM et alli 1995).

Um achado interessante foi a reversão da resposta analgésica induzida por MAZ (5 mg/kg) com a administração prévia de NAL (2 mg/kg), antagonista opióide que age preferentemente em receptores do tipo  $\mu$ , na primeira fase do teste da formalina, sugerindo a existência de uma ligação opioidérgica (figura 8). A ausência desse efeito na segunda fase do teste, provavelmente, envolve fatores farmacocinéticos. Uma vez que, NAL foi administrado 30 minutos antes da injeção de formalina, possivelmente, na segunda fase do teste, grande parte desse antagonista já tenha sido eliminada, prejudicando consequentemente a compreensão dos resultados.

Por outro lado, a resposta analgésica da COC (20 mg/kg) não foi inibida na presença de NAL (2 mg/kg). Já se mostrou, entretanto, que a resposta analgésica da COC (20 mg/kg, i.p.) não foi revertida por NAL (1 mg/kg, i.p.), no teste da formalina em ratos (LIN et alli 1989), enquanto outro estudo, utilizando a mesma espécie animal e o mesmo modelo experimental, registrou que o efeito analgésico da COC (25 mg/kg) foi inibido por esse antagonista opióide, porém com a dose de 10 mg/kg, i.p. (PERTOVAARA et alli 1990).

Com base nos dados acima relatados, o envolvimento do sistema opióide na analgesia induzida por COC, não pode ser totalmente descartado, uma vez

que outras doses dessas drogas não foram analisadas, além de que neste estudo não foi utilizado antagonista opióide seletivo.

Este trabalho também verificou a possibilidade do envolvimento do sistema opióide no efeito antinociceptivo induzido por LID. Da mesma forma que a resposta analgésica dessa droga não foi inibida pelos antagonistas DAérgicos utilizados: HAL (0,2 mg/kg), SUL (5 mg/kg) e SCH (0,03 mg/kg), a administração de NAL (2 mg/kg) também não foi efetiva.

Supõe-se, que os efeitos inibitórios centrais da LID ocorrem pelo fato de essa droga inibir a ativação de fibras C e de fibras A-delta (DARRELL et alli 1991) ou podem ser mediados por receptores glicina estriknina-sensíveis, por ação da própria droga ou por meio de seus metabólitos (monoetilglicina xilidida e glicina xilidida) que carregam a molécula de glicina intacta em suas estruturas (BIELLA e SOTGIU, 1993) e, desse modo, podem agir como agonista da glicina (BIELLA e SOTGIU, 1993).

Considerando as inúmeras evidências de que mecanismos catecolaminérgicos e especialmente mecanismos DAérgicos, estão envolvidos na atividade de analgésicos narcóticos (DUNAI' KOVÁCS e SZÉKELY, 1977; BEN-SRETI et alli 1983; MORGAN e FRANKLIN, 1990, 1991), esse trabalho verificou se a associação MAZ+MOR e LID+MOR pode alterar o efeito antinociceptivo induzido por cada uma dessas drogas administradas isoladamente (Figura 9).

O envolvimento do sistema opióide na analgesia de MAZ (5 mg/kg, i.p.), observado com o uso de NAL (2mg/kg, i.p.), parece ser confirmado com o

efeito causado por essa droga em associação com a MOR. O tratamento combinado de MAZ (1,25 mg/kg) com MOR (2 mg/kg) causou efeito aditivo estatisticamente significativo, na primeira fase do teste da formalina, quando essa resposta foi comparada com a dos animais tratados separadamente com MAZ e MOR.

Embora o tratamento combinado de COC (10 mg/kg) com MOR (2 mg/kg), no segundo intervalo do teste, tenha demonstrado aumento na resposta analgésica, em relação aos animais tratados com MOR e COC separadamente, esse efeito não foi estatisticamente significativo. Foi possível, porém, observar uma tendência a um efeito aditivo com o tratamento combinado dessas duas drogas. Esses resultados contrastam com alguns dados da literatura que mencionam o aumento da resposta analgésica da COC em combinação com a MOR e a importante implicação dessa associação para uso clínico no tratamento da dor (GATCH et alli 1995; SIERRA et alli 1992).

Também se observou que a associação de MOR (2 mg/kg) com LID (10 mg/kg), na segunda fase do teste, apresentou efeito aditivo estatisticamente significativo, em comparação ao grupo tratado somente com LID. Esses resultados sugerem que o sistema opióide pode estar envolvido na antinocicepção induzida por LID.

Tem sido muito pesquisada a interação entre os sistemas DAérgico e opióide na antinocicepção. Alguns estudos afirmam que NAL reverte o efeito antinociceptivo induzido por APO, agonista DAérgico que age em receptores

D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub> da DA, e por RU 24926, agonista seletivo de receptores D<sub>2</sub>, sendo que a ação desses agonistas DAérgicos parece estar acompanhada da liberação de endorfinas, peptídeos opióides que agem em receptores do tipo  $\mu$  (GONZALEZ-RIOS et alli 1986; SUAUDEAU e COSTENTIN, 1995). Por outro lado, MORGAN e FRANKLIN (1990) demonstraram que a analgesia da MOR foi bloqueada por lesão com 6 OHDA (6-hidroxidopamina) na região SN-ATV (substância negra-área tegumentar ventral). Seguindo essa mesma linha de raciocínio, em outro estudo foi observado que a administração repetida de COC aumenta os níveis de dinorfina, peptídeo opióide que se liga em receptores do tipo  $\kappa$ , no estriado e na substância negra, sendo que essa liberação depende da integridade da via DAérgica nigroestriatal, bem como da presença de receptores D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub> da DA, uma vez que antagonistas DAérgicos seletivos tenham bloqueado essa liberação (SIVAM, 1989).

O aumento da resposta analgésica de MAZ, LID e COC em associação com a MOR na segunda fase, em relação à primeira fase do teste, possivelmente se deve ao aumento de receptores opióides nos terminais nervosos durante o processo inflamatório (STEIN, 1995), que ocorre na segunda fase do teste da formalina (CORRÊA e CALIXTO, 1993).

O mecanismo envolvido na antinocicepção após a ativação de receptores opióides sobre neurônios periféricos parece envolver o aumento da corrente de potássio e a diminuição da corrente de cálcio levando à inibição do disparo neuronal e à liberação de transmissor (WERZ e MACDONALD, 1983; SCHROE-

DER et alli 1991). De forma similar, a ativação de receptores opióides em terminais nervosos centrais inibe a liberação de compostos excitatórios dependentes de cálcio e compostos pro-inflamatórios (p.exemplo a SP), de terminais nervosos periféricos (YAKSH, 1988), que contribuem para a ação antiinflamatória dos opióides (BARBER e GOTTSCHLICH, 1992).

É possível distinguir o sítio de ação de analgésicos: central, periférico ou simultaneamente central e periférico, com base nas respostas das drogas ao teste da formalina (SHIBATA et alli 1989).

Sabe-se que drogas narcóticas, como MOR, codeína, meperidina, inibem a resposta de dor igualmente na primeira e na segunda fase do teste da formalina (SHIBATA et alli 1989; HUNSKAAR et alli 1985; VACCARINO et alli 1989). Por outro lado, drogas que agem perifericamente como aspirina, dexametasona e hidrocortisona, inibem somente a segunda fase do teste. A aminopirina e o ácido mefenâmico, que têm um sítio de ação central, bem como um sítio de ação periférica (SHIBATA et alli 1986, WHITTLE, 1964) afetam ambas as fases, a resposta da segunda, contudo, é inibida por doses menores, comparadas com a primeira fase (SHIBATA et alli 1989). Essas observações confirmam os dados obtidos no presente trabalho, uma vez que a resposta anti-nociceptiva de MAZ, LID e COC ou a associação dessas drogas com a MOR foi evidenciada em ambas as fases do teste da formalina, sugerindo, ao menos em parte, ação central dessas drogas.

A administração i.t. de MAZ, LID e COC foi utilizada com o objetivo de verificar um possível sítio de ação em nível medular, no qual essas drogas poderiam estar exercendo os efeitos antinociceptivos observados com a administração i.p. (Figura 10).

No presente estudo, a administração i.t. de MAZ, LID e COC demonstrou uma resposta analgésica significativa somente na primeira fase do teste da formalina, em todas as doses utilizadas. É possível que o efeito em apenas uma fase do teste seja devido ao fato de essa droga não estar mais agindo, no local, na segunda fase. Esses resultados demonstram que o efeito antinociceptivo de MAZ, LID e COC envolvem, possivelmente, sítios medulares.

Pelo fato de a resposta analgésica induzida por MAZ (5 mg/kg, i.p.) ser antagonizada por HAL (0,2 mg/kg, i.p.), SUL (5 mg/kg, i.p.) e NAL (2 mg/kg, i.p.) e a partir dos resultados obtidos pela administração i.t., foi analisado a possibilidade do envolvimento dos sistemas DAérgico e opióide em nível medular, na resposta analgésica i.p. induzida por MAZ (Figura 11).

Utilizou-se neste protocolo experimental SUL (16  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ , i.t.) e NAL (1,2  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ , i.t.), antagonista que se liga preferentemente em receptores  $D_2$  e antagonista opióide, respectivamente. Os resultados sugerem que o efeito antinociceptivo de MAZ (5 mg/kg, i.p.) ocorre, pelo menos em parte, em nível medular, envolvendo receptores  $D_2$  da dopamina e receptores opióides, visto que a administração i.t. de SUL e NAL reverteu essa resposta analgésica na primeira

fase do teste da formalina. Esses dados confirmam os resultados observados com o tratamento prévio via i.p. de SUL (5 mg/kg) e NAL (2 mg/kg), sobre as respostas analgésicas induzidas por MAZ (5 mg/kg, i.p.).

A ausência de efeito desses antagonistas na segunda fase do teste confirma a hipótese, citada anteriormente, de que, possivelmente, essas drogas não estão mais agindo no local, nesse intervalo analisado.

Vários trabalhos evidenciam o envolvimento de mecanismos medulares, mediados por receptores  $D_2$  da DA. Conforme já mencionado, Liu et alli (1992), no teste de retirada da cauda, observaram que a administração i.t de SUL bloqueou o efeito antinociceptivo produzido por DA, ao passo que SCH e NAL, administrados pela mesma via, não alteraram essa resposta analgésica. De forma semelhante, estudo de “binding” demonstrou que sítios  $D_2$  estão concentrados na medula espinhal de rato (BARASI et alli 1985b).

Além do sistema DAérgico, pelo menos três outros sistemas, serotoninérgico, noradrenérgico e opioidérgico, regulam e modulam a transmissão nociceptiva em nível medular. Tem-se observado que opióides são efetivos quando administrados na medula espinhal, bem como diretamente no cérebro. Por exemplo, é sugerido que agonistas opióides do tipo  $\kappa$ , da mesma forma que agonistas opióides do tipo  $\mu$ , possam ter um sítio de ação em nível medular e supra-medular (MILLAN et alli 1989). Essa hipótese é argumentada, baseada em outro estudo que demonstra que a administração i.t. e i.c.v. de norbinaltorfimina, antagonista que se liga preferentemente em receptores do tipo  $\kappa$

pode atenuar a ação da administração sistêmica de U50,488H, agonista de receptores do tipo  $\kappa$  (TAKEMORI et alli 1988).

O presente trabalho também investigou se a resposta antinociceptiva induzida por MAZ, LID e COC possui um sítio de ação supra-medular (Figura 12). Os resultados confirmaram essa expectativa, visto que foi observado uma redução significativa do tempo de lambida das patas com a administração i.c.v. de MAZ, LID e COC em ambas as fases do teste da formalina.

Já está bastante comprovado o envolvimento de mecanismos descendentes inibindo a transmissão nociceptiva em nível de medula espinhal. Veja-se que a administração supra-medular de agonista de receptores opióides do tipo  $\mu$ , no teste da formalina, produz analgesia, dependente da dose, por ativação de mecanismos inibitórios descendentes (BARR et alli 1992).

Por outro lado, FLEETWOOD-WALKER (1988) observou que a estimulação da região A11, que origina projeções DAérgicas para a medula espinhal, inibe respostas nociceptivas nesse local, e esse efeito inibitório é antagonizado por SUL, antagonista que se liga preferentemente em receptores  $D_2$  da DA. Com base nesses conhecimentos, é possível sugerir que a antinocicepção do MAZ pode envolver também sítios supra-medulares, possivelmente pela ativação de projeções descendentes, aumentando a transmissão DAérgica que pode ser acompanhada da liberação de peptídeos opióides.

Conforme já descrito, as duas fases do teste da formalina envolvem mecanismos nociceptivos diferentes: a primeira fase está relacionada ao efeito di-

reto sobre nociceptores e é inibida por drogas que agem centralmente; em contraste com ela, a segunda fase parece estar envolvida com respostas inflamatórias, parcialmente mediadas por prostanóides, podendo ser inibida por esteróides e antiinflamatórios não esteroidais, bem como por drogas que agem centralmente (SHIBATA et alli 1989). A segunda fase do teste da formalina é freqüentemente acompanhada por edema, devido à liberação de mediadores inflamatórios (HUNSKAAR e HOLE, 1987; CORRÊA e CALIXTO, 1993). A BK, por exemplo, é produzida no sítio onde ocorre a lesão tecidual, inflamação ou anóxia, e é considerada fator importante que induz o extravasamento plasmático por intermédio da ativação de fibras simpáticas e sensoriais (DRAY et alli 1994). Existem registros de que drogas que agem centralmente, assim como a MOR, possam ter ação antiinflamatória (ARRIGO-REINA e FERRI, 1979), sugerindo o envolvimento de receptores opióides no controle da inflamação.

Os resultados preliminares do presente trabalho, quanto ao edema de pata, demonstram que MAZ (1,25; 2,5 e 5 mg/kg), LID (10, 20 e 30 mg/kg) e COC (20 mg/kg) não interferem nessa resposta, uma vez que, o efeito dessas drogas não alterou o volume das patas de maneira, estatisticamente significativa, em relação ao grupo tratado com VEÍC. (Tabela 14).

Em resumo, os resultados do presente trabalho, obtidos a partir de diferentes procedimentos experimentais, demonstram pela primeira vez que MAZ possui efeitos antinociceptivos no teste da formalina, de forma similar à COC. Os sistemas DAérgico, D<sub>2</sub> predominantemente, e opióide parecem estar envol-

vidos na resposta analgésica induzida por MAZ. O efeito antinociceptivo evidenciado com o uso da LID, possivelmente, não afeta o metabolismo da DA, o sistema opióide, entretanto, pode estar presente nessa resposta. Confirmando dados da literatura, a transmissão DAérgica parece estar envolvida no mecanismo de ação antinociceptiva induzida por COC. Visto que a associação de COC com opióides, origina uma preparação analgésica conhecida como “mistura Brompton’s”, que é utilizada no tratamento da dor crônica de pacientes cancerosos (MELZACK et alli 1976; MOUNT et alli 1976; JAFFE e MARTIN, 1990), é possível sugerir que drogas disponíveis para diferentes propósitos terapêuticos, assim como o MAZ, possam ser utilizadas como um antinociceptivo ou um agente adjuvante no tratamento da dor.

## CONCLUSÕES

-O MAZ, a LID e a COC são antinociceptivos no teste da formalina, possivelmente, envolvendo sítios medulares e supra-medulares, uma vez que as respostas analgésicas dessas drogas foram observadas com a administração i.t. e i.c.v.

-A LID administrada de forma repetida induziu sensibilização farmacológica ao efeito antinociceptivo. Embora o aparecimento de sensibilização pareça estar relacionado principalmente ao sistema DAérgico, essa resposta da LID possivelmente envolve outros sistemas neuronais, visto que essa droga parece não envolver a transmissão DAérgica. O MAZ e a COC, surpreendentemente, não causaram sensibilização ao efeito antinociceptivo, porém tem sido demonstrado que essas drogas induzem sensibilização farmacológica ao efeito locomotor após administração repetida.

-O sistema DAérgico parece estar envolvido na antinocicepção induzida por MAZ e COC a partir do nível medular e, possivelmente, os receptores  $D_2$  têm papel importante nessa resposta. Os receptores  $D_1$  parecem não estar envolvidos na resposta analgésica dessas drogas.

-O sistema opióide parece estar envolvido na resposta antinociceptiva causada por MAZ, já que essa resposta foi antagonizada por NAL.

-Confirmando estudos recentes, o efeito antinociceptivo induzido por LID, provavelmente não envolve mecanismos DAérgicos. O sistema opióide, entretanto, pode estar presente.

-A associação MAZ+MOR produziu efeito aditivo significativo, confirmando a interação entre os sistemas DAérgico e opóide. É possível que na associação LID+MOR outros sistemas neuronais estejam interagindo com o sistema opóide. Curiosamente a resposta do tratamento combinado COC+MOR não apresentou essa resposta, porém a literatura cita que a associação dessas drogas induz efeito aditivo em diferentes modelos experimentais.

-O MAZ, a LID e a COC parecem não interferir no edema de pata induzido por injeção intraplantar de formalina, sugerindo que essas drogas não possuem efeito antiinflamatório preponderante.

## ABSTRACT

The present study was carried out to investigate the antinociceptive action of mazindol (MAZ), an anorectic drug largely used e of lidocaine, a local anesthetic, following i.p., i.t or i.c.v. routes of administration in the mouse formalin test. An additional group of cocaine (COC) treated animals was used as positive control. Also, the occurrence of sensitization to the antinociceptive action was evaluated following repeated drug administration. Further, the involvement of dopaminergic (DAérgic) e/or opioid systems in the responses were examined through antagonist pretreatments and drug association with morphine (MOR). The involvement of MAZ, LID or COC in paw-oedema induced by formalin and in the motor coordination were also examined. The results demonstrate that i.p. administration of MAZ ( 1,25; 2,5; 5 e 10 mg/kg), LID (10, 20 e 30 mg/kg) e COC (20 mg/kg) significantly reduced the paw-licking responses compared to control animals. The repeated administration of LID (10 mg/kg, i.p.) caused sensitization to its antinociceptive effect, but repeated MAZ (1,25 mg/kg) or COC (20 mg/kg) failed to show this response. Pretreatment with haloperidol (0,2 mg/kg, i.p.) e sulpiride (5 mg/kg, i.p.), D<sub>2</sub> antagonists, inhibited the analgesic effects of MAZ (5 mg/kg) e COC (20 mg/kg), but SCH 23390 (0,03 mg/kg, i.p.), D<sub>1</sub> antagonist, was without effect. In addition, naloxone (2 mg/kg, i.p.), opioid antagonist significantly inhibited MAZ (5 mg/kg, i.p.) antinociceptive effect. None of these antagonists affected

the LID response. On the other hand, the association of MAZ (1,25 mg/kg, i.p.) or LID (10 mg/kg, i.p.) with MOR (2 mg/kg, i.p.) caused significant additive response. Significant antinociceptive effects were also shown following i.t. or i.c.v. administration of MAZ, LID (5, 10 e 20  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) or COC (20  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ). Intrathecal pretreatment with sulpiride (16  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) or naloxone (1,2  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) reversed the analgesic action of MAZ (5 mg/kg, i.p.), thus confirming previous experiments. All drug treatments failed to show anti-inflammatory action and they unaffected motor coordination. In conclusion, these findings suggest that MAZ e LID induce significant antinociceptive effects in mice, possibly involving medular and supramedular sites. In addition, these results confirmed the COC antinociceptive action in the mouse-formalin test. The DAergic, mainly  $D_2$  receptors, e opioid systems appear to be involved in the MAZ response. The predominant mechanism responsible by LID antinociceptive action remains unknown.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, F.V.; MELZACK, R. Brainstem lesions dissociate neural mechanisms of morphine analgesia in different kinds of pain. **Brain Res.** 251: 149-155, 1982.
- ABBOTT, F.V.; YOUNG, S.N. Effect of 5-hydroxytryptamine precursors on morphine analgesia in the formalin test. **Pharmacol. Biochem. Behav.** 31: 855-860, 1988.
- AKIL, H.; MAYER, D.J.; LIEBESKIND, J.C. Antagonism of stimulation-produced analgesia by naloxone, a narcotic antagonist. **Science.** 191: 961-962, 1976.
- ALOYO, V.J.; PAZDALSKI, P.S.; KIRIFIDES, A.L.; HARVEY, J.A. Behavioral sensitization, behavioral tolerance, and increase [<sup>3</sup>H]WIN 35,428 binding in rabbit caudate nucleus after repeated injections of cocaine. **Pharmacol. Biochem. Behav.** 52: 335-340, 1995.
- ARRIGO-REINA, R.; FERRI, S. Opiate receptors and the neurochemical correlate of pain. in: **Advances in Pharmacological Research e Practice** (FÜRST, S. ed) Pergamon Press Akadémiai Kiadó, pp. 223-226, 1979.

- BACH, F.W.; JENSEN, T.S.; KASTRUP, J.; STIGSBY, B.; DEJGARD, A. The effects of intravenous lidocaine on nociceptive processing in diabetic neuropathy. **Pain**. 40: 29-34, 1990.
- BARASI, S. CLATWORTHY, A. DUGGAL, K.N.; GONZALEZ, J.P.; SEWELL, R.D.E. Blockade of the antinociceptive effect of intrathecal dopamine agonists in naive and supersensitive rats. **Br. J. Pharmacol.** 85: 352, 1985b.
- BARBER, A; GOTTSCHLICH, R. Opioid agonists e antagonists: an evaluation their peripheral actions in inflammation. **Med. Res. Rev.** 12: 525-562, 1992.
- BARR, G.A.; MIYA, D.Y.; PAREDES, W. Analgesic effects of intraventricular and intrathecal injections of morphine e ketocyclazocine in the infant rat. **Brain Res.** 584: 83-91, 1992.
- BASBAUM, A.I.; FIELDS, H.L. Endogenous pain control systems: brainstem spinal pathways and endorphin circuitry. **Ann. Rev. Neurosci.** 7: 309-338, 1984.
- BENNET, B.A., HYDE, C.E.; PECORA, J.R.; CLODFELTER, J.E. Differing neurotoxic potencies of methamphetamine, mazindol and cocaine in mesencephalic cultures. **J. Neurochem.** 60: 1444, 1993.

- BEN-SRETI, M.M.; GONZALEZ, J.P.; SEWELL, R.D.E. Differential effects of SKF 38393, LY 141865 on nociception and morphine analgesia. **Life Sciences** 33: 665-668, 1983.
- BESSON, J.M.; CHAOUCH, A. Peripheral and spinal mechanisms of nociception. **Physiol. Rev.** 67: 67-186, 1987.
- BIELLA, G.; SOTGIU, M.L. Central effects of systemic lidocaine mediated by glycine spinal receptors: an iontophoretic study in the rat spinal cord. **Brain Res.** 603: 201-206, 1993.
- BIELLA, G.; LACERENZA, M.; MARCHETTINI, P. SOTGIU, M.L. Diverse modulation by systemic lidocaine of iontophoretic NMDA and quisqualic acid induced excitations on rat dorsal horn neurons. **Neurosci. Lett.** 157: 207-210, 1993.
- BOAS, R.A.; COVINO, B.G.; SHAHNARIAN, A. Analgesic responses to i.v. lignocaine. **Br. J. Anaesth.** 54: 501-505, 1982.
- BONICA, J.J. The management of pain. Philadelphia. **Lea & Febiger**, 1990.
- BROEKKAMP, C.; VAN ROSSUM, J.M. Clonidine induced intrahypothalamic stimulation of eating in rats, **Psychopharmacol.** 25: 1621-68, 1972.

- CAINE, S.B.; KOOB G.F. Modulation of cocaine self-administration in the rat through D-3 dopamine receptors. **Science**. 260: 1814-1816, 1993.
- CAMP, M.D.; ROBINSON, T.E. Susceptibilidade to sensitization. I. Sex differences in the enduring effects of chronic D-amphetamine treatment on locomotion, stereotyped behavior and brain monoamines. **Behav. Brain Res.** 30: 55-68, 1988a.
- CASSUTO, J.; WALLIN, G.; HOGSTROM, S.; FAXEN, A.; RIMBACK, G. Inhibition of postoperative pain by continuous low-dose intravenous infusion of lidocaine. **Anesth. Analg.** 64: 971-974, 1985.
- CHAIT, L. D.; UHLENHUTH, E.H. JOHANSON, C.E. The reinforcing and subjective effects of several anorectics in normal human volunteers. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 242: 777-783, 1987.
- CORRÊA, C.R.; CALIXTO, J.B. Evidence for participation of B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub> kinin receptors in formalin-induced nociceptive response in the mouse. **Br. J. Pharmacol.** 110: 193-198, 1993.
- COURTEIX, C.; BADIN, M.; CHANTELAUZE, C.; LAVARENNE, J.; ESCHALIER, A. A. Study of the sensitivity of the diabetes-induced pain model in rats to a range of analgesics. **Pain** 57: 153-160, 1994.

- CUNNINGHAM, K.A.; CALLAHAN, P.M. Monoaminergic reuptake inhibitors enhance the discriminative state induced by cocaine in the rat. **Psychopharmacol.** 104: 177-180, 1991.
- CUNNINGHAM, K.A.; DWORKIN, S.I.; SMITH, J. Neurobiology of cocaine: Reinforcing and stimulus effects, In **Cocaine: Pharmacology, Physiology and Clinical Strategies** (LAKOSKI, J.M.; GALLOWAY, M.P. WHITE, F.J. eds) NJ. Tellford Press, pp. 91-113, 1991.
- DARRELL, L.; TANELIAN, M.D. Analgesic concentrations of lidocaine suppress tonic A-delta and C fiber discharges produced by acute injury. **Anesth.** 74: 934-936, 1991.
- DENNIS, S.G.; MELZACK, R. Comparison of phasic and tonic pain in animals, **Adv. Pain Res. Ther.** 3: 747-760, 1979.
- DENNIS, S.G.; MELZACK, R. Effects of cholinergic and dopaminergic agents on morphine analgesia measured by three pain tests. **Exp. Neurol.** 81: 167, 1983.
- DRAY, A.; URBAN, L.; DICKENSON, A. Pharmacology of chronic pain. **Trends Pharmacol.** 15: 190-197, 1994.
- DUBUISSON, D.; DENNIS, S.G. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine and brain stem stimulation in rats and cats. **Pain** 4: 161-174, 1977.

- DUGGAN, A.W.; MORTON, C.R. Tonic descending inhibition and spinal nociceptive transmission. **Prog. Brain. Res.** 77: 193-207, 1988.
- DUNAI-KOVÁCS, Z.; SZÉKELY, J.I. Effect of apomorphine on the antinociceptive activity of morphine. **Psychopharmacol.** 53: 65-72, 1977.
- DUNHAM, N.W.; MIYA, T.S. A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. **J. Am. Pharm. Assoc.** 46: 208-209, 1957.
- ELMER, G.I.; BROCKINGTON, A.; GORELICK, D.A.; CARROL, F.I.; RICE, K.C.; MATECKA, D.; GOLDBERG, S.R.; ROTHMAN, R.B. Cocaine cross-sensitization to dopamine uptake inhibitors: unique effects of GBR12909. **Pharmacol. Biochem. Behav.** 53: 911-918, 1996.
- FLEETWOOD-WALKER, S.M.; HOPE, P.J.; MITCHELL, R. Antinociceptive actions of descending dopaminergic tracts on cat and rat dorsal horn somatosensory neurones. **J. Physiol.** 399: 335-348, 1988.
- FORGIE, M.L.; STEWART, J. Sex difference in amphetamine-induced locomotor activity in adult rats: role of testosterone exposure in the neonatal period. **Pharmacol. Biochem. Behav.** 46: 637-645, 1993.

- GATCH, M.B.; NEGUS, S.S.; BUTELMAN, E.R.; MELLO, N.K. Antinociceptive effects of cocaine/opioid combinations in rhesus monkeys. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 275: 1346-1354, 1995.
- GONZALEZ-RIOS, F.; VLAICULESCU, A.; BEN NATAN, L.; PROTAIS, P.; COSTENTIN, J. Dissociated effects of apomorphine on various nociceptive responses in mice. **J. Neural Transm.** 67: 87-103, 1986.
- GOUDIE, A.J.; EMMETT-OGLESBY, M.V. Tolerance and sensitization: overview. In: **Psychotropic drugs: tolerance e sensitization** (GOUDIE, A.J.; EMMETT-OGLESBY, M.V) Human Press, 114, 1989.
- GRAHAM, J.H.; MAKER, J.R.; ROBINSON, S.E. The effect of cocaine and other local anesthetics on central dopaminergic neurotransmission. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 27: 707-717, 1995.
- GRANT, G.J.; ZAKOWSKY, M.I.; VERMEULER, K.; LANGERMAN, L.; RAMANATHAN, S.; TURNDORF, H. Assessing local anesthetic effect using the mouse tail flick test. **J. Pharmacol. Toxicol. Meth.** 29: 223-226, 1993.
- GYIRES, K.; BUDAVÁRI, I.; FÜRST, S.; MOLNÁR, I. Morphine inhibits the carrageenan-induced oedema and the chemoluminescence of leucocytes stimulated by zymosan. **J. Pharm. Pharmacol.** 37: 100-104, 1985.

- HALEY, J.E.; SULLIVAN, A F.; DICKENSON, A H. Evidence for spinal *N*-methyl-D-aspartate receptor involvement in prolonged chemical nociception in the rat. **Brain Res.** 518: 218-226, 1990.
- HEAPY, C.G.; JAMIESON A.; RUSSELL, N.J.W. Afferent C-fibre and a- delta activity in models of inflammation. **Br. J. Pharmacol.** 90: 164, 1987.
- HERTZ, A.; MILLAN, M.J. Endogenous opioid peptids in the descending control of nociceptive responses of spinal dorsal horn neurons. **Prog. Brain. Res.** 77: 263-273, 1988.
- HORGER, B. SHELTON, K.; SCHENK, S. Preexposure sensitizes rats to the rewarding effects of cocaine. **Pharm. Bioch. Behav.** 37: 707-711, 1990.
- HUNSKAAR, S.; HOLE, K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain** 30: 103-114, 1987.
- HUNSKAAR, S.; FASMER, O.B.; HOLE, K. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics, **J. Neurosc. Meth.** 14: 69-76, 1985.
- HYLDEN, J.L.K.; WILCOX, G.L. Intrathecal morphine in mice: a new technique. **Eur. J. Pharmacol.** 67: 313-316, 1980.

JAFFE, J.H.; MARTIN, W.R. Opioid analgesics and antagonists. in: **The Pharmacological Basis of Therapeutics**, 8th ed, (GILMAN, A.G.; GOODMAN, L.S.; NIES, A.S.; TAYLOR, P. eds) Pergamon Press, New York, pp. 485-521, 1990.

JAVITCH, J.A.; BLAUSTEIN, R.O.; SNYDER, S.H. [<sup>3</sup>H] Mazindol binding associated with neuronal dopamine uptake sites in corpus striatum membranes. **Eur. J. Pharmacol.**, 90: 461-462, 1983.

JAVITCH, J.A.; BLAUSTEIN, R.O.; SNYDER, S.H. [<sup>3</sup>H]-Mazindol binding associated with neuronal dopamine and norepinefrine uptake sites. **Mol. Pharmacol.** 26: 35-44, 1984.

JESSELL, T. M.; KELLY, D.D. Pain and nalgesia. In: **Principles of Neural Science** (KEEL, E.R.; SCHWARTZ, J.H.; JESSELL, T.M. eds) Appleton & Lange, pp. 385-399, 1991.

JOHNSON, K.; SNELL, L.D. Sensitization to the behavioral effects of cocaine is associated with altered dopamine metabolism and release in rat brain. **Soc. Neurosci. Abstr.** 13: 1718, 1987.

KALIVAS, P.W.; STEWART, J. Dopamine transmission in the initiation and expression of drug and stress-induced sensitization of motor activity. **Brain Res. Rev.** 16: 223-244, 1991.

- KALIVAS, P.W.; WEBER, B. Amphetamine injection into the ventral mesencephalon sensitizes rats to peripheral amphetamine and cocaine. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 245: 1095-1102, 1988.
- KEBABIAN, J.W.; CALNE, D.B. Multiple receptors for dopamine. **Nature** 277: 93-96, 1979.
- KELLY P.H.; IVERSEN, S.D. Selective 6-OHDA-induced destruction of mesolimbic dopamine neurons: Abolition of psychostimulant-induced locomotor activity in rats. **Eur. J. Pharmacol.** 40: 45-56, 1975.
- KIRITSY-ROY, J.A.; SHYU, B.C.; DANNEMAN, P.J.; MORROW, T.J.; BELCZYNSKI, C.; CASEY, K.L. Spinal antinociception mediated by a cocaine-sensitive dopaminergic supraspinal mechanism. **Brain Res.** 644: 109-116, 1994.
- KLEVEN, M.S.; ANTHONY, E.W.; WOOLVERTON, W.L. Pharmacological characterization of the discriminative stimulus effects of cocaine in rhesus monkeys. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 254: 312-317, 1990.
- KOLTA, M.G.; SHREVE, P.; URETSKY, N.J. Effect of methylphenidate pretreatment on the behavioral and biochemical responses to amphetamine. **Eur. J. Pharmacol.** 117: 279-282, 1985.
- KRUK, Z.L.; ZARRINDAST, M.R. Mazindol anorexia is mediated by activation of dopaminergic mechanisms. **Br. J. Pharmacol.** 58: 367-372, 1976.

KRUK, Z.L., Dopamine and 5-hydroxytryptamine inhibit feeding in rats.

**Nature New Biol.** 246: 52-53, 1973.

KURAIKI, Y.; SATOH, M.; TAKAGI, H. The descending noradrenergic

systems and analgesia. **Pain and Headache** 9: 101-128, 1987.

KURIBARA, H. Inhibitory effect of restraint on induction of behavioral

sensitization to methamphetamine and cocaine in mice. **Pharmacol.**

**Biochem. Behav.** 54: 327-331, 1996.

LARSEN, J.; ARNT, J. Reduction in locomotor activity of arthritic rats as

parameter for chronic pain: effect of morphine, acetylsalicylic acid and

citalopram. **Acta Pharmacol. et Toxicol.** 57: 345-351, 1985.

LAURSEN, S.E.; BELKNAP, J.K. Intracerebroventricular injections in

mice. Some methodological refinements. **J. Pharmacol. Meth.** 16:355-

357, 1986.

LEITH, N.J.; KUCZENSKI, R. Two dissociable components of behavioral

sensitization following repeated amphetamine administration. **Psycho-**

**pharmacol.** 76: 310-315, 1982.

LIN, Y.; MORROW, T.J.; KIRITSY-ROY, J.A.; TERRY, L.C.; CASEY,

K.L. Cocaine: evidence for supraspinal, dopamine mediated, non opiate

analgesia. **Brain Res.** 479: 306-312, 1989.

- LIU, Q.; QIAO, J.; DAFNY, N. D<sub>2</sub> dopamine receptor involvement in spinal dopamine-produced antinociception. **Life Sciences**. 51: 1485-1492, 1992.
- MANSBACH, R.S.; BALSTER, R.L. Effects of mazindol on behavior maintained or occasioned by cocaine. **Drug Alcohol Dependence** 31: 183-191, 1993.
- MATTINGLY, B.A.; ROWLETT, J.K.; ELLISON, T.; RASE, K. Cocaine-induced behavioral sensitization: effects of haloperidol and SCH 23390 treatments. **Pharmacol. Bioch. Behav.** 53: 481-486, 1996.
- MELZACK, M.; WALL, P. The challenge of Pain. **Penguin Books**, Londres, 1991.
- MELZACK, R.; OFIESH, J.G.; MOUNT, B.M. The Brompton mixture: effects on pain in cancer patients. **Can. Med. Assoc. J.** 115: 125-128, 1976.
- MERSKEY, H. Pain terms: a list with definitions and notes on usage. Recommended by the IASP Subcommittee on Taxonomy. **Pain** 6: 249-252, 1979.
- MICHAEL-TITUS, A.; BOUSSELMAME, R.; COSTENTIN, J. Stimulation of dopamine D<sub>2</sub> receptors induces an analgesia involving an opioid-dergic but non enkephalinergic link. **Eur. J. Pharmacol**, 187: 201-207, 1990.

- MILLAN , M.J. Kappa-opioid receptor-mediated antinociception in the rat. I. Comparative actions of mu- and kappa-opioids against noxious thermal, pressure and electrical stimuli. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 251: 334-341, 1989.
- MORGAN, M.J.; FRANKLIN, K.B.J. Dopamine receptor subtypes and formalin test analgesia. **Pharmacology Biochemistry & Behavior.** 40: 317-322, 1991.
- MORGAN, M.J.; FRANKLIN, K.B.J. 6-Hydroxydopamine lesions of the ventral tegmentum abolish D-amphetamine and morphine analgesia in the formalin test but not in the tail-flick test. **Brain Res.** 519: 144-149, 1990.
- MOUNT, B.M.; AJEMIAN, I.; SCOTT, J.F. Use of the Brompton mixture in treating the chronic pain of malignant disease. **Can. Med. Assoc. J.** 115: 122-124, 1976.
- MURRAY, C.W.; PORRECA, F.; COWAN, A. Methodological refinements of the mouse paw formalin test - an animal model of tonic pain. **J. Pharmacol. Meth.** 20: 175-186, 1988.
- OLIVERAS, J.L.; BESSON, J.M. Serotonin, stimulation-produced analgesia and spinal mechanisms of nociception. **Adv. Biosci.** 85: 383-406, 1992.

PASTERNAK, G.W. Pharmacological mechanisms of opioid analgesics.

**Clin. Neuropharmacol.** 16: 1-18, 1993.

PERT, A. Cholinergic and catecholaminergic modulation of nociceptive

reactions. Interactions with opiates. **Pain Headache.** 9: 1, 1987.

PERTOVAARA, A.; BELZYNSKI, C.R.; MORROW, T.J.; CASEY, K.L.

The effect of systemic cocaine on spinal nociceptive reflex activity in the rat. **Brain Res.** 438: 286-290, 1988.

PERTOVAARA, A.; MECKE, E.; CARLSON, S. Attempted reversal of

cocaine-induced antinociceptive effects with naloxone, and opioid antagonist. **Eur. J. Pharmacol.** 192: 349-353, 1991.

PERTOVAARA, A.; KAUPPILA, T.; TUKEVA, T. The effect of mede-

tomidine, an  $\alpha_2$  - adrenoceptor agonist, in various pain tests. **Eur. J. Pharmacol.** 179: 323-328, 1990.

PÖGÜN, S.; SCHEFFEL, U.; KUCHAR, M.J. Cocaine displaces

[<sup>3</sup>H]WIN35428 binding to dopamine uptake sites *in vivo* more rapidly than mazindol or GRB 12909. **Eur. J. Pharmacol.** 198: 203-205, 1991.

POST R.M.; ROSE, H. Increasing effects of repetitive cocaine admini-

stration in the rat. **Nature.** 260:731-732, 1976.

RAJA, S.N.; MEYER, R.A.; CAMPBELL, J.N. Peripheral mechanisms of

somatic pain. **Anesthesiol.** 68: 571-590, 1988.

- RAMABADRAN, K.; BANSINATH, M. A critical analysis of the experimental evaluation of nociceptive reactions in animals. **Pharmac. Res.** 3: 263-269, 1986.
- REISINE, T.; PASTERNAK, G. Opioid analgesics and antagonists. in: **The Pharmacological Basis of Therapeutics** (HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E.; MOLINOFF, P.B.; RUDDON, R.W. eds) 9th ed, McGraw-Hill Companies, pp. 521-555, 1996.
- REITH, M.E.A.; MEISLER, B.E.; SERSHEN, H.; LAJTHA, A Structural requirements for cocaine congeners to interact with dopamine e serotonin uptake sites in mouse brain e to induce stereotyped behavior. **Bioch. Pharmacol.** 35: 1223-1229, 1986.
- RIGON, A.R.; TAKAHASHI, R.N. The effects of systemic procaine, lidocaine and dimethocaine on nociception in mice. **Gen. Pharmacol.** 27: 647-650, 1996.
- RISNER, M.E.; SILCOX, D.L. Psychostimulant self-administration by beagle dogs in a progressive ratio paradigm. **Psychopharmacol.** 75: 25-30, 1981.
- RITZ M.C.; LAMB, R.J.; GOLDBERG, S.R.; KUCHAR, M.J. Cocaine self-administration appears to be mediated by dopamine uptake inhibition. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiat.** 12: 233-239, 1988.

- RITZ, M.C.; LAMB, R.J.; GOLDBERG, S.R.; KUHAR, M.J. Cocaine receptors on dopamine transporters are related to self-administration of cocaine **Science**. 237: 1219-1223, 1987.
- ROBINSON, T.E.; BECKER, J.B. Enduring changes in brain and behavior produced by chronic amphetamine administration: a review and evaluation of animal models of amphetamine psychosis. **Brain Res.** 11: 157-198, 1986.
- ROSLAND, J.H.; TJØLSEN, A.; MAEHLE, B.; HOLE, K. The formalin test in mice: effect of formalin concentration. **Pain** 42: 235-242, 1990.
- ROSLAND, J.H.; The formalin test in mice: the influence of ambient temperature. **Pain** 45: 211-216, 1991.
- SAKATA, R.K.; GOZZANI, J.L. Fisiopatologia da dor. **Revista Brasileira de Medicina**. 51: 3-5, 1994.
- SCHUELKE, G.S.; TERRY, L.C.; POWERS, R.H.; RICE, J.; MADDEN, J.A. Cocaine analgesia: an in vivo structure-activity study. **Pharmacol. Bioch. Behav.** 53: 133-140, 1996.
- SCHROEDER, J.E.; FISCHBACH, P.S.; ZHENG, D.; MCCLESKEY, E.W. Activation of mu opioid receptors inhibits transient high-and low-threshold Ca<sup>++</sup> currents, but spares a sustained current. **Neuron** 6: 13-20, 1991.

SEGAL, D.S.; KUCZENSKI, R. Individual differences in responsiveness to single and repeated amphetamine administration: behavioral characteristics and neurochemical correlates. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 242: 917-926, 1987.

SEGAL, D.S.; MEELL, A.J. Long-term administration of d-amphetamine: progressive augmentation of motor activity and stereotypy. **Pharmacol. Biochem. Behav.** 2: 249-255, 1974.

SHIBATA, M.; OHKUBO, T.; TAKAHASHI, H.; INOKI, R. Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. **Pain** 38: 347-352, 1989.

SHIBATA, M.; OHKUBOT, T.; TAKAHASHI, H.; INOKI, R. Interaction of bradykinin with substance P on vascular permeability and pain response, **Jpn. J. Pharmacol.** 41: 427-429, 1986.

SIERRA, V.; DUTTARROY, A.; LUTFY, K.; CEIDO, J.; BILLINGS, B.; WILLIAM ZITO, S.; YOBURN, B. C. Potentiation of opioid analgesia by cocaine: the role of spinal and supraspinal receptors. **Life Science** 50: 591-597, 1992.

SIVAM, S.P. Cocaine selectively increases striatonigral dynorphin levels by a dopaminergic mechanism. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 250: 818-824, 1989.

- SOTGIU, M. L.; LARENZA, M.; MARCHETTINI, P. Selective inhibition by systemic lidocaine of noxious evoked activity in rat dorsal horn neurons. **Neuroreport** 2: 425-428, 1991.
- STEIN, C.M.D. The control of pain in peripheral tissue by opioids. **New Eng. J. Med.** 332: 1685-1690, 1995.
- STEWART, J.; BADIANI, A. Tolerance and sensitization to the behavioral effects of drugs. **Behav. Pharmacol.** 4: 289-312, 1993.
- SUAUDEAU, C.; COSTENTIN, j. Analgesic effect of the direct D<sub>2</sub> dopamine receptor agonist RU 24926 and cross tolerance with morphine. **Fundam. Clin. Pharmacol.** 9:147-152, 1995.
- TAKEMORI, A. E.; BEGONIA, Y.H.O.; NAESETH, J.S.; PORTOGHESE, P.S. Norbinaltorphimine, a highly selective kappa-opioid antagonist in analgesic and receptor binding assays. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 246: 255-258, 1988.
- TASKER, R.A.R.; CHOINIÈRE, M.; LIBMAN, S.M.; MELZACK, R. Analgesia produced by injection of lidocaine into the lateral hypothalamus. **Pain** 31: 237-248, 1987.
- TJØLSEN, A.; BERGE, O.; HUNSKAAR, S.; ROSLE, J.H.; HOLE, K. The formalin test: an evaluation of the method. **Pain** 51: 5-17, 1992.
- TRUJILLO, K.A.; AKIL, H. Opiate tolerance and dependence: recent findings and synthesis. **New Biol.** 3: 915-923, 1991.

- TUCKER, G.T.; MATHER, L.E. Property, absorption e disposition of local anesthetics: pharmacokinetics. in: **Neural Blockade in Clinical Anesthesia e Management of Pain** (COUSINS, M.D.; BRIDENBAUGH, P.O. J.B.) Lippincott & Co. Philadelphia 47-110, 1988.
- VACCARINO, A.L.; TASKER, R.A.R.; MELZACK, R. Analgesia produced by normal doses of opioid antagonists alone and in combination with morphine. **Pain**. 36: 103-109, 1989.
- WERZ, M.A.; MACDONALD, R.L. Opioid peptides selective for mu- and delta-opiate receptors reduce calcium-dependent action potential duration by increasing potassium conductance. **Neurosci Lett**. 42: 173-178, 1983.
- WHELLER, H.; PORRECA, F.; COWAN, A. Further development of the formalin test in rats as a tonic pain model. **FASEB J**. 2: 1391, 1988.
- WHITTLE, B.A. The use of changes in capillary permeability in mice to distinguish between narcotic and nonnarcotic analgesics. **Br. J. Pharmacol**. 22: 246-253, 1964.
- WIESENFELD-HALLIN, Z.; LINDBLON, U. The effect of systemic tetracaine, lidocaine and bupivacaine on nociception in the rat. **Pain** 23: 357-360, 1985.

- WILLIS Jr., W.D. Anatomy and physiology of descending control of nociceptive responses of dorsal horn neurons: comprehensive review. **Prog. Brain. Res.** 77: 1-29, 1988.
- WILSON, M.C.; SCHUSTER, C.R.. Mazindol self-administration in the rhesus monkey. **Pharmacol. Biochem. Behav.** 4: 207-210, 1991.
- WITKIN, J.M.; NICHOLS, D.E.; TERRY, P.; KATZ, J.L. Behavioral effects of selective dopaminergic compounds in rats discriminating cocaine injections. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 257, 706-713, 1991.
- WOOLF, C.J.; WIENSENFELD-HALLIN, Z. The systemic administration of local anaesthetics produces a selective depression of C-afferent fibre evoked activity in the spinal cord. **Pain.** 23: 361-374, 1985.
- WOOLF, C.J. Recent advances in the pathophysiology of acute pain. **Br. J. Anesthesiol.** 63: 139-146, 1989.
- YAKSH, T.L.; HAMMOND, D.L.; TYCE, G.M. Functional aspects of the bulbospinal monoaminergic projections in modulating processing of somatosensory information. **Fed. Proc.** 40: 2786-2794, 1981.
- YAKSH, T.L. Substance P release from knee joint afferent terminals: modulation by opioids. **Brain Res.** 458: 319-324, 1988.
- YANG, J.C.; CLARK, W.C.; DOOLEY, J.C.; MIGNOGNA, F.V. Effect of intranasal cocaine on experimental pain in man. **Anesth. Analg.** 61: 358-561, 1982.

YI, S.J.; JOHNSON, K.M. Effects of acute and chronic administration of cocaine on striatal uptake, compartmentalization and release of [<sup>3</sup>H] dopamine. **Neuropharmacol.** 29, 475-486, 1990.

ZANIN, M.; TAKAHASHI, R.N. Sex difference in sensitization to the locomotor effects of mazindol in rats. **Brain Res.** 34: 385-387, 1994.

ZAMBOTTI, F.; CARRUBA, M.O.; BARZAGHI, F.; VICENTINI, L.; GROPETTI, A.; MANTEGAZZA, P. Behavior effects of a new non-phenylethylamine anorexigenic agent: Mazindol. **Eur. J. Pharmacol.** 36: 405-412, 1976.

ZEMLAM, F.P.; BEHBEHANI, M.M.; MURPHY, R.M. Serotonin receptors subtypes and the modulation of pain transmission. **Prog. Brain Res.** 77: 349-355, 1988.