

Estudo da participação do *Locus coeruleus* na antinocicepção induzida por sacarose em modelo experimental de hiperalgesia por capsaicina

Study of the *Locus coeruleus* involvement in antinociception induced by sucrose in an experimental model of hyperalgesia by capsaicin

KERPPERS, Ivo Ilvan 1

SAMPAIO, Luciana Maria Malosa 2

OLIVEIRA, Cláudia Santos 3

1 Unicentro

2,3 Centro Universitário Nove de Julho

Autor para correspondência: jkerppers@unicentro.br

Recebido em 29 de outubro de 2008; aceito em 01 de abril de 2009

RESUMO

O presente trabalho foi desenvolvido, em 12 animais (Rattus norvegicus, Muridae, Rodentia) divididos em dois grupos, com a finalidade de investigar se a ingestão de sacarose propicia o efeito de antinocicepção, demonstrando se o seu efeito pode reverter a hiperalgesia causada pela administração subcutânea de capsaicina, a qual causa reação de hiperalgesia por tempo aproximado de 50 minutos. Os testes antinociceptivos foram desenvolvidos através do método de retirada de cauda (tail-flick), sendo realizados de forma padronizada em ambos os grupos analisados. Os animais lesionados apresentaram com média e mediana os valores $3,12 \pm 2,95$ ($p=0.03$), enquanto os animais controle $3,30 \pm 3$ ($p=0.02$), sendo estatisticamente significantes. Na análise da variância não foi encontrado significância estatística ($p=0.64$). O estudo sugere que a rede neural noradrenergica do Locus coeruleus está evidentemente implicada na elaboração da antinocicepção induzida por substância doce.

PALAVRAS-CHAVE: antinocicepção; Locus coeruleus, sacarose

ABSTRACT

This study was conducted in animal model (Rattus norvegicus, Muridae, Rodentia) in order to investigate whether the ingestion of sucrose provides the effect of antinociception, demonstrating that the effect can reverse hyperalgesia caused by subcutaneous injection of capsaicin, which causes the reaction of hyperalgesia by approximate time of 50 minutes. The antinociceptive tests were developed by the method of withdrawal of tail (tail-flick), being carried out standardized in both groups. The animals were injured with a mean and median values 3.12 ± 2.95 ($p = 0.03$), while the control animals 3.30 ± 3 ($p = 0.02$), being statistically significant. In the analysis of variance it was not found statistical significance ($p = 0.64$). The study suggests that the neural network of noradrenergic Locus coeruleus is obviously involved in the drafting of antinociception induced by sweet substance.

KEY WORDS: antinociception; Locus coeruleus, sucrose

I. INTRODUÇÃO

De acordo com Ramenghi, Evans e Levene (1999), o efeito das substâncias adocicadas está correlacionado com a percepção gustativa produzida por elas, e não com o efeito da ingestão ou absorção das substâncias.

Johnston et al. (1999) propõem que os mecanismos de ação de analgesia pelas substâncias adocicadas referem-se à oralidade, relacionados a um efeito imediato, no qual a resposta calmante parece ser produzida pelo gosto, e a liberação de endorfinas, secundárias à excitação dos receptores gustativos das papilas linguais, pelo gosto doce.

Soluções concentradas de sacarose parecem reduzir o choro e outros comportamentos relacionados com a dor em bebês saudáveis, e a sacarose pode ser um analgésico útil e seguro para intervenções cirúrgicas de pequena magnitude em toda infância (HAOUARI et al., 1995; ABAD et al., 1996; SKOGSDAL; ERIKSSON; SCHOLLIN, 1997). O uso de sacarose oral é recomendado em larga extensão em procedimentos dolorosos nas unidades de tratamentos intensivos neonatais (MITCHELL; WATMAN, 2003).

Rebouças et al. (2005) mostra em seu estudo as evidências de que não somente o sistema opioidérgico, mas também o serotoninérgico e noradrenérgico participam da organização da antinocicepção induzida pela ingestão crônica de sacarose, muito embora tenham sido usados antagonistas inespecíficos e específicos de receptores opioides e serotoninérgicos administrados por via periférica.

O *Locus coeruleus* é ativado por estímulos dolorosos e está envolvido na antinocicepção (RENN ; DORSEY, 2005; SINGEWALD ; PHILIPPU, 1998). Haros, Jancso e Engberg (1987) relatam que a administração intravenosa de capsaicina apresenta um aumento da excitabilidade dos neurônios no *Locus coeruleus*. Este mesmo aumento foi evidenciado no tratamento de crianças neonatais com lesão de fibras nervosas sensitivas, indicando o efeito da capsaicina em nível central. Esse efeito excitatório consiste na ativação do receptor de proteína vanilóide-1 (RPV1), encontrou-se uma diminuição pós-sináptica de neurotransmissores glutamatergicos em relação à atividade pré-sináptica (PALAZZO et al, 2002; MARINELLES et al, 2002).

O RPV1 está envolvido na transmissão sensorial do nervo periférico aos neurônios sensoriais superiores. Pode ser ativada pelo aumento da temperatura, diminuição do PH ou fatores exógenos como a capsaicina (CATERINA et al, 1997; TOMINAGA et al, 1998).

A capsaicina ativa os RPV1 tem sido demonstrado como modulador na transmissão sináptica em aferentes primários na coluna dorsal e em gânglios viscerais (TSUNOO; KONISHI; OTSUKA, 1982; URBAN et al, 1985). Primariamente nas sinapses aferentes, a capsaicina causa um aumento espontâneo na liberação de glutamato e substância P, mas bloqueia simultaneamente a atividade elétrica de neurotransmissores (URBAN et al, 1985; URBAN ; DRAY, 1992; YANG et al, 1999).

Assim, o presente trabalho vem sendo conduzido com o intuito de determinar o envolvimento de um dos maiores representantes de núcleos noradrenérgicos do neuroeixo, o *Locus coeruleus*, na antinocicepção induzida por sacarose, por meio do teste de retirada de cauda em ratos (*Rattus norvegicus*).

II. MÉTODOS

Animais

Foram utilizados 12 ratos albinos, Wistar, machos, pesando entre 220-250g, divididos em dois grupos, controle (GC) e grupo com lesão (GL), os quais foram mantidos em gaiolas de acrílico, aos pares, sendo-lhes permitido livre acesso à comida e à água. Os animais foram mantidos sob ciclo claro/escuro de 12h sob temperatura de 22±1 °C.

Procedimento experimental

Os animais foram anestesiados com uma solução de 0,1ml de ketamina (Dopase, frasco 10 ml) para 0,2ml de xilasina (Dopase, frasco 10 ml) e levados a um aparelho estereotáxico (David Kopf, EUA), onde suas cabeças foram fixadas pelo rochedo temporal e incisivos superiores. Eletrodos confeccionados com fio esmaltado de 0,5 mm de diâmetro por 10 mm de comprimento foram implantados no tronco encefálico e dirigidos ao *Locus coeruleus* (LC), bilateralmente, e tomando-se o bregma como referência, e estando a sutura lambdoide e bregmática em um mesmo plano horizontal.

Após o pós-operatório de cinco dias, o *Locus coeruleus* foi lesado bilateralmente por meio da passagem de uma corrente elétrica contínua, de 2mA, durante 2s, por meio de um estimulador/lesador (Insight; Brasil). Como controle, um grupo independente foi utilizado para o procedimento "sham", que consiste na colocação dos fios condutores nos eletrodos, durante 2s, sem a passagem de corrente elétrica.

Testes nociceptivos

Todos os ratos tiveram seus limiares nociceptivos aferidos, utilizando-se para o isso o teste de retirada de cauda, colocada sobre o sensor de uma fonte de calor (Tail-Flick Instrument; Stoelting). Obtendo-se três latências consecutivas de retirada de cauda (LRC), entre 2,5 e 3,5 s.

III. RESULTADOS

A figura 1 mostra a localização do *Locus coeruleus* em *Rattus norvegicus*, onde foram colocados os eletrodos por meio de cirurgia estereotáxica e realizados à lesão eletrolítica de 2 mA.

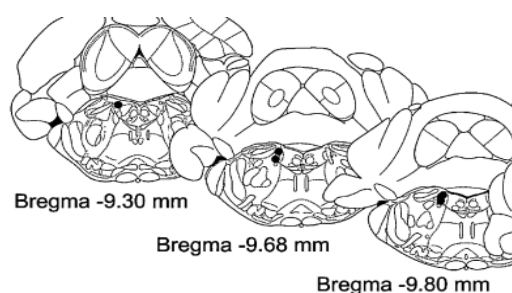


Figura1: Representação esquemática das regiões cerebrais do *Rattus norvegicus*, ilustrando a localização da lesão eletrolítica no *Locus coeruleus*, tratados com solução de sacarose (250g/L) durante 50 minutos.

A figura 2 mostra os valores das médias das três latências formando a linha de base e comparada após com as médias dos 50 minutos com ingestão de sacarose. Os animais lesionados apresentaram com média e mediana os valores $3,12 \pm 2,95$ ($p=0.03$), enquanto os animais controle $3,30 \pm 3$ ($p=0.02$), sendo estatisticamente significantes.

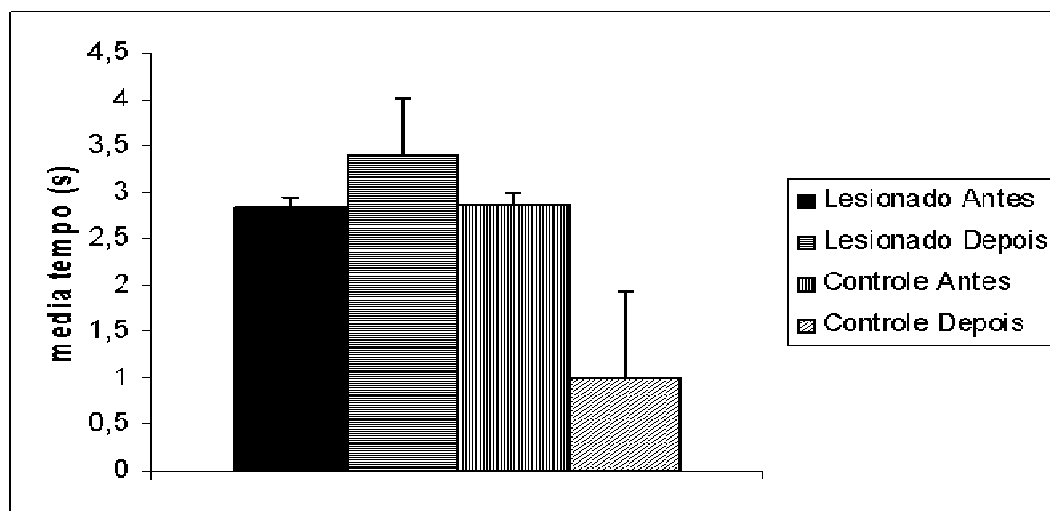


Figura 2: Valores das médias antes e depois dos animais serem lesionados no *Locus coeruleus* e com a ingestão de sacarose (250mg/L), e no grupo controle com a ingestão somente de sacarose.

A tabela 1 mostra os valores obtidos no teste de retirada de cauda do grupo lesado, com administração de sacarose. Pode-se observar que no quinto minuto após a ingestão de sacarose os valores do teste de retirada de cauda tiveram um aumento comparado aos valores iniciais.

Tabela 1: Valores obtidos no teste de retirada de cauda do grupo lesado, com administração de sacarose.

Grupo Lesionados	Tempo											
	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	
1	3,5	5,3	4,2	4,4	5	2,4	3,5	3,7	3,5	3,8	3,9	
2	2,1	2,3	3,6	3,2	3,7	2,9	3,7	3,5	3,6	3,9	4,1	
3	2,6	2,9	2,7	2,6	5,6	2,2	1,3	2,1	1,6	1,5	1,6	
4	2	4,6	6	5,3	4,9	3,9	4,9	1,8	2,4	1,7	2,7	
5	2	2,8	5	4,7	3,3	6	6	5,2	3	2,8	1,5	
Médias	2,44	3,58	4,3	4,04	4,5	3,48	3,88	3,26	2,82	2,74	2,76	

Anova: $p = 0,20$

A tabela 2 mostra os valores obtidos nos animais que não foram realizados lesão eletrolítica, sendo submetidos apenas à ingestão de sacarose. Observa-se que no grupo controle ocorreu uma redução dos valores da antinocicepção após a administração da sacarose, quando comparado ao minuto zero do teste no grupo.

Tabela 2: Valores obtidos no teste de retirada de cauda do controle, com administração de sacarose.

Grupo Controle	Tempo										
	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50
6	4,6	2,8	4	3,7	3	3,3	3,7	3,1	3	2,7	3,7
7	4,8	2,4	3,3	2,3	3,1	3	2,8	5,4	3,2	2,9	3,1
8	3,6	4	3,4	3,9	3,2	3,1	3	3,5	3,2	3,4	4,7
9	3,5	4,2	5,9	4,1	4	4,3	2,8	3,6	3,9	3,7	3,9
10	2,6	5,8	6	1,9	1,9	6	6	3,9	3,3	3,3	3,5
11	1,3	5,1	4,3	3,8	1,4	1,8	1,8	2,6	1,9	2,8	2,8
12	2,4	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Médias	3,2	4,3	4,7	3,6	3,2	3,9	3,7	4,0	3,5	3,5	3,9

Anova: p =0,64

IV. DISCUSSÃO

Irustra et al (2001) relatam em seus estudos, que foi administrada sacarose por um período de 14 dias, sendo administrada em conjunto com salina, atropina e mecamlamina, e obtiveram um índice de analgesia para a sacarose com salina. O presente estudo verificou que o efeito analgésico ocorreu durante os 50 minutos, iniciando-se após o quinto minutos de ingestão de sacarose.

Os antagonistas colinérgicos como a atropina e mecamlamina, podem antagonizar os efeitos da analgesia pela sacarose, sugerindo que a acetilcolina está envolvida na modulação dessas respostas (IRUSTRA et al, 2001).

Catia et al (2004) estudaram o envolvimento de receptores serotoninérgicos pré e pós-sinápticos na analgesia por substância doce, revelando que a ingestão de substância doce por um período prolongado causa efeito analgésico, corroborando com estudos de Irustra et al (2001); Segato et al (1997). O mesmo processo analgésico foi observado no presente estudo.

No presente estudo, verificou-se que a ingestão de substância doce (sacarose) entre o quinto e décimo minutos tem um aumento na antinociceção tanto nos animais com lesão de Locus e controle, porém não se obtendo estatística significativa para os grupos estudados.

Kishi et al (2006) relatam que a lesão neurotóxica por ácido ibotênico de neurônios noradrenérgicos do *Locus coeruleus*, com a ingestão crônica de substância doce tem efeito antinociceptivo, podemos observar que com a lesão eletrolítica obtivemos os mesmos resultados relatados por Kishi.

No estudo proposto a interação do *Locus coeruleus* com a atividade antinociceptiva demonstrou-se um mecanismo neural responsável na participação da atividade nociceptiva, tendo assim potencializado os efeitos nos receptores opioides, aumentando o tempo de retirada de cauda no grupo analisado com lesão do mesmo.

V. CONCLUSÃO

Apesar da análise estatística pelo ANOVA não apresentar significância, podemos concluir que a participação do locus cerúleo no processo antinociceptivo após a ingestão de substância doce fica potencializado e aumenta os efeitos analgésicos da sacarose.

VI. REFERÊNCIAS

- ABAD, F. et al. Oral sweet solution reduces pain-related behavior in preterm infants. *Acta Paediatr*, v. 85, p.854-858, 1996.
- CATERINA M.J. et al. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature*, v. 389, p.816-824, 1997.
- HAROS M.; JANCOS G.; ENGBERG G. Capsaicin-induced excitation of locus coeruleus neurons. *Acta Physiol Scand*, v. 129, p.415-420, 1987.
- HAOUARI N. et al. The analgesic effect of sucrose in full term infants: a randomised controlled trial. *BMJ* 3, v. 10, p.1498-1500, 1995.

- IRUSTRA A.E.C. Psychopharmacological evidences for the involvement of muscarinic and nicotinic cholinergic receptors on sweet substance-induced analgesia in *Rattus norvegicus*. *Neurosci Lett*, v 305, p.115-118, 2001.
- JOHNSTON C.C. et al. Effect of repeated doses os sucrose during heel stick procedure in preterm neonates. *Biology of the Neonate*, Basel, v. 75, p. 160-166, 1999.
- KISHI, R. Dorsal raphe nucleus and locus coeruleus neural networks and the elaboration of the sweet-substance-induced antinociception. *Neurosci Lett*, v 395, n.1, p.12-17, 2006.
- MARINELLES C. et al. Capsaicin activation of glutamatergic synaptic transmission in the rat locus coeruleus in vitro. *J Physiol*, v.543, p.531-540, 2002.
- MITCHELL A.; WALTMAN P.A. Oral sucrose and pain relief for preterm infants. *Pain Manag. Nurs*, v. 4, n.2, p. 62-69, 2003.
- PALAZZO E. et al. Interaction between vanilloid and glutamate receptors in the central modulation of nociception. *Eur Pharmacol*, v.439, p.69-75, 2002.
- RAMENGI L.A.; EVANS D.;LEVENE M.I."Sucrose analgesia": absorptive mechanism or taste perception? *Archives of Disease Childhood, Fetal and Neonatal edition*, London, v. 80, p. 146-147, 1999.
- REBOUCAS, E.C.; et al.Effect of the blockade of mu1-opioid and 5HT2A-serotonergic/alpha1-noradrenergic receptors on sweet-substance-induced analgesia. *Psychopharmacology (Berl)*, v. 179, n.2, p.349-355, 2005.
- RENN C.L.; DORSEY S.G. The physiology and processing of pain: a review. *AACN Clin Issues*, v.16, p.207-90, quiz 413-5, Jul./Sep. 2005.
- SEGATO, F.N. et al. Sucrose ingestion causes opioid analgesia. *Braz. J. Med. Biol. Res*, v.30, p. 981-984, 1997.
- SINGEWALD N.; PHILIPPU A. Release of neurotransmitters in the locus coeruleus. *Prog Neurobiol*, v. 56, p.237-267, 1998.
- SKOGSDAL Y; ERIKSSON M.; SCHOLLIN J. Analgesia in newborns given oral glucose. *Acta Paediat*, v. 86, p. 217-220, 1997.
- TOMINAGA M. et al. The cloned capsaicin receptor integranes multiple pain-producing stimuli. *Neuron*, v.21, p.531-543, 1998.
- TSUNOO A.; KONISHI S.; OTSUKA M. Substance P as an excitatory transmitter of primary affrent neurons in guinea-pig sympathetic ganglia. *Neuroscience*, v. 7, p.2025-2037, 1982.
- URBAN L. et. al. The acute and chronic effects of capsaicin on slon excitatory transmission in dorsal horn. *Brain Research*, v. 330, p.390-396, 1985.
- URBAN L.; DRAY A. Synaptic activation of dorsal horn neuros by selective C-fibre excitation with capsaicin in the mouse spinal cord in vitro. *Neuroscience*, v. 47, p.693-702, 1992.
- YANG K. et. al. Actions of capsaicin on dorsal root-evoked synaptic transmission to substantia gelatinosa neurons in adult rat spinal cord slices. *Brain Research*, v.830, p.268-273, 1999.