

# Comportamentos espontâneos e induzidos em ratos com dor neuropática por constrição crônica do nervo ciático\*

## *Spontaneous and induced behaviors in rats with neuropathic pain by chronic sciatic nerve constriction*

Nilza Dutra Alves<sup>1</sup>, Terezinha Jesus Teixeira Santos<sup>2</sup>, Samuel Bovy de Castro Costa<sup>2</sup>, Alice Maria Bovy de Castro Costa<sup>2</sup>, Francisco Marlon Carneiro Feijó<sup>2</sup>, Carlos Mauricio de Castro Costa<sup>3</sup>

\*Recebido do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE.

### RESUMO

**JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS:** A dor neuropática é uma condição frequente e desafiadora no que concerne ao tratamento, necessitando assim do uso de modelos experimentais para a melhor compreensão de seus mecanismos. O objetivo deste estudo foi reproduzir cirurgicamente o modelo de constrição crônica do nervo ciático e quantificar os comportamentos auto-dirigidos sugestivos de dor neuropática crônica experimental durante quatro semanas.

**MÉTODO:** Foram utilizados 21 ratos Wistar divididos em três grupos: normal (n = 7), pseudo-cirúrgico (n = 7) e cirúrgico (n = 7). No grupo pseudo-cirúrgico, procedeu-se apenas a exposição bilateral do nervo ciático, sem lesioná-los. No grupo cirúrgico procedeu-se a exposição do nervo ciático à direita e então constrição com fio mononylon 4.0 em quatro locais, separados por 2 mm de distância. No membro esquerdo, fez-se apenas exposição do nervo ciático, sem lesioná-lo.

**RESULTADOS:** A análise dos comportamentos revelou um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) de coçar-se e morder-se nos membros posteriores direito e esquerdo (em espelho), com predomínio à direita. Além disso, houve diminuição significativa de empinar-se e exploratórios como correr, andar, farejar, e aumento significativo de descansar/dormir e congelar-se. A análise dos testes térmicos revelou presença de alodínia (40° C) e hiperalgesia (46° C) nos membros posteriores direito e esquerdo.

**CONCLUSÃO:** O modelo induziu mononeuropatia ciática dolorosa expressa por comportamentos espontâneos sugestivos de dor crônica, além de alodínia e hiperalgesia.

**Descritores:** Comportamento animal, dor, neuropatia ciática, rato.

### SUMMARY

**BACKGROUND AND OBJECTIVES:** Neuropathic pain is a frequent and challenging condition in terms of management, thus requiring the use of experimental models to better understand its mechanisms. This study aimed at surgically reproducing chronic sciatic nerve constriction model and at quantifying self-directed behaviors suggestive of experimental chronic neuropathic pain during four weeks.

**METHOD:** Twenty-one Wistar rats were divided in three groups: normal (n = 7), pseudo-surgical (n = 7) and surgical (n = 7). The pseudo-surgical group was submitted to bilateral sciatic nerve exposure without injury. The surgical group was submitted to right sciatic nerve exposure and constriction with mononylon thread 4.0 in four sites 2 mm apart from each other. Left sciatic nerve was exposed without injury.

1. Mestre em Farmacologia pela Universidade Federal do Ceará, Alagoas, CE, Brasil.
2. Pesquisador do Laboratório de Neurologia Experimental e Neurofisiologia da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.
3. Professor Titular de Fisiologia e Chefe do Laboratório de Neurologia Experimental e Neurofisiologia da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

Endereço para correspondência:

Dra. Nilza Dutra Alves  
Centro de Biomedicina/FAMED/UFC  
Rua Cel. Nunes de Melo, 1315 – Rodolfo Teófilo  
60430-270 Fortaleza, CE.  
Fone: (85) 3366-8202 - Fax: (85) 3366-8333  
E-mail: mcastro@ufc.br

**RESULTS:** Behavioral analysis has shown significant increase ( $p < 0.05$ ) in scratching and biting right and left hind limbs (in mirror), predominantly to the right. In addition there has been significant decrease in rearing up and exploratory behaviors such as running, walking and sniffing, and significant increase in resting / sleeping and freezing. Thermal tests analysis has shown allodynia ( $40^{\circ}\text{C}$ ) and hyperalgesia ( $46^{\circ}\text{C}$ ) in right and left hind limbs.

**CONCLUSION:** The model has induced painful sciatic single neuropathy expressed by spontaneous behaviors suggestive of chronic pain, in addition to allodynia and hyperalgesia.

**Keywords:** Animal behavior, pain, sciatic neuropathy, rat.

## INTRODUÇÃO

A dor neuropática é um problema comum na clínica. Faz parte de várias síndromes neurológicas e representa cerca de 25% dos pacientes atendidos em grandes clínicas de dor. Estima-se que a prevalência de dor neuropática na população seja cerca de 7%-8%. A dor neuropática é uma frequente complicação de traumas acidentais, procedimentos cirúrgicos e doenças que afetam o sistema nervoso central (SNC) ou periférico.

Os mecanismos relacionados à dor neuropática não são completamente esclarecidos, mas experimentos em animais de laboratório indicam o envolvimento da sensibilização de neurônios aferentes periféricos e centrais<sup>1</sup>.

Para tentar compreender esses mecanismos, muitos modelos animais foram desenvolvidos e se dividem em nociceptivos e neuropáticos. Nos modelos animais de dor crônica, detectam-se seus sinais através das mudanças de vários comportamentos. Os modelos de poliartrose adjuvante e sua variante, a monoartrose adjuvante, representa os modelos de dor crônica nociceptiva<sup>2,3</sup>. Esses modelos permitem estudar a dor nociceptiva, enquanto que a dor neuropática é estudada pelos modelos da ligadura parcial do nervo ciático desenvolvido por Seltzer, Dubner e Shir<sup>4</sup>, e para qual Decosterd e Woolf<sup>5</sup> desenvolveram uma variante. Porém, o principal modelo utilizado atualmente é o desenvolvido por Bennett e Xie<sup>6</sup>, que mais tarde foi modificado<sup>4</sup>, e que consiste na constrição crônica do nervo ciático. Neste modelo, verificou-se o aparecimento de alodínia, hiperalgesia e disestesia<sup>7</sup>. Também verificou-se maior incidência de comportamentos auto-dirigidos, notadamente o coçar-se, que se destacou como um possível parâmetro de dor crônica mais fácil de ser identificado e quantificado<sup>7,8</sup>. Existe ainda o modelo do neuroma<sup>9</sup>, da rizotomia dorsal<sup>10</sup> e o modelo desenvolvido por Kim e Chung<sup>11</sup>, onde

foi feita uma ligadura de um ou dois nervos espinhais (L5 ou L5 e L6). Esses modelos levam ao desenvolvimento de hiperalgesia mecânica e térmica e alodínia.

Os comportamentos de alimentar-se, beber, dormir, lambese, coçar-se e sexuais são dados que dão condições para análise das funções normais do organismo animal. Mudanças significativas nesses comportamentos podem ser produzidas em animais que apresentam dor intensa e persistente.

O comportamento de coçar-se, sugestivo de dor crônica, tem sido observado nos modelos utilizados para estudar esse tipo de dor e tem se apresentado significativamente aumentado<sup>3,7,8,12-14</sup>. Nesses mesmos estudos, várias manipulações farmacológicas foram realizadas. Fármacos como morfina, baclofeno, vigabatrina, carbamazepina, entre outros empregados apresentavam ação analgésica, bem como diminuição desses comportamentos, tendo sido caracterizado o seu efeito analgésico indicando que esse comportamento denota a presença de dor crônica.

Na artrite adjuvante, os animais apresentam vocalizações espontâneas, dificuldade em movimentar-se, em limpar-se, perda de peso e preferência por líquido analgésico<sup>2</sup>, além do aumento significativo do coçar-se<sup>3,8</sup>. Vários são os fatores que sugerem que o coçar-se seja um sinal de dor crônica. De Castro-Costa e col. (1981, 1987)<sup>3,8</sup>, observaram em ratos artríticos um significativo aumento desse comportamento, o qual era inibido pela morfina e acetilsalicilato e não por anti-histamínicos excluindo, portanto prurido. Kupers e col.<sup>7</sup> fizeram uma análise sobre os comportamentos espontâneos no modelo de dor neuropática, onde comprovaram que o coçar-se se apresentou aumentado, sendo esse aumento revertido pela morfina e pela estimulação central.

Autotomia após a ligação e transfixação do nervo ciático tem sido relatada nos animais que apresentam dor neuropática crônica<sup>9</sup>. Repetidas aplicações intraperitoneais de guanetidina por diferentes dias reduzem significativamente a autotomia<sup>9</sup>. Coderre, Grimes e Melzack<sup>15</sup>, ao utilizarem guanetidina em animais com ligação e transfixação do nervo ciático, valorizam significativamente o comportamento de autotomia.

O objetivo deste estudo foi reproduzir cirurgicamente o modelo de constrição crônica do nervo ciático descrito por Bennett e Xie<sup>6</sup> e quantificar os comportamentos auto-dirigidos sugestivos de dor neuropática crônica experimental durante quatro semanas.

## MÉTODO

Após aprovação do projeto pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal do Departamento de Fisiologia e Far-

macologia da Universidade Federal do Ceará, realizou-se este estudo duplamente encoberto com o intuito de correlacionar os comportamentos de dor neuropática experimental. Decidiu-se reproduzir o modelo experimental de neuropatia ciática constritiva descrita por Bennett e Xie<sup>6</sup> e modificado por Seltzer, Dubner e Shir<sup>4</sup>, considerando que esse modelo reproduz neuropatias constritivas semelhantes a humanas e oferece parâmetros clínicos e comportamentais sugestivos de dor crônica neuropática<sup>7</sup>.

Foram utilizados 21 ratos Wistar machos e fêmeas, pesando entre 180 e 420 g no dia da cirurgia, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará (UFC) e do Biotério da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). Os animais foram distribuídos em grupos e colocados em número de três ou quatro por gaiola, a água e alimento *ad libitum*, e em condições de luz ambiental. As gaiolas continham no solo cerca de 5 mm de raspa de madeira. Esses animais foram divididos em três grupos: normal (n = 7), pseudo-cirúrgico (n = 7) e cirúrgico (n = 7).

Os animais utilizados como grupo normal e grupo cirúrgico foram avaliados do ponto de vista comportamental quantitativo em um observatório, e do ponto de vista de reação ao estímulo térmico pela medida da latência da resposta motora de retirada dos membros posteriores. Todos os experimentos foram realizados entre 05h00 e 10h00 da manhã.

#### **Grupo normal (n = 7)**

Primeiro estudou-se o grupo normal, composto de machos e fêmeas, peso entre 180 e 300 g, no 1º dia de observação. Os animais ao serem colocados no ambiente de observação eram deixados durante cinco minutos para a adaptação ao novo ambiente. Só então se iniciava o período de observações, com duração de 30 min. Esse procedimento foi repetido durante 30 dias, em uma sala silenciosa e no período de 5h00 as 10h00 da manhã. Além disso, os animais eram diariamente pesados, para verificar o ganho de peso.

Para realizar as observações comportamentais os ratos eram colocados em um observatório de madeira de 100 cm x 50 cm x 50 cm, iluminado com uma lâmpada de 40 watts em um dos cantos. A frente do observatório foi feita de vidro de modo a permitir ao experimentador observar os elementos comportamentais. O fundo do observatório era coberto com serragem de madeira. O observatório foi colocado em uma sala silenciosa e escura. Após o período de adaptação de cinco minutos, as observações tinham início. Durante 30 minutos, os comportamentos

dos ratos eram quantificados por meio de um programa de computador desenvolvido especificamente para tal finalidade. Os comportamentos eram registrados pressionando-se um dos botões do teclado que correspondia aos vários comportamentos dos ratos. O programa registrava os dados para posterior análise.

Os comportamentos observados foram alimentar-se, empinar-se, exploratórios com o correr, andar e farejar, descansar/dormir, coçar-se, morder-se, limpar-se, e congelar-se. O comportamento de coçar-se foi observado levando-se em consideração o coçar-se à direita e à esquerda, o mesmo aconteceu para o comportamento de morder-se, tendo em vista a unilateralidade da lesão cirúrgica.

Esse grupo foi submetido a testes térmicos diariamente após as observações, os quais consistiam em mergulhar o membro posterior esquerdo e em seguida o posterior direito em um banho-maria nas temperaturas de 40° C e 46° C. Essas temperaturas eram medidas através de um termômetro mergulhado ao banho-maria. Durante a imersão dos membros, cada rato era cuidadosamente segurado pelo experimentador pela região cervical e caudal, de modo que os membros e a cabeça ficassem livres, facilitando assim a retirada dos membros quando desejasse. Acredita-se também que com isso diminuísse o estresse a que esse animal estava sendo submetido.

Uma vez mergulhado o membro, aguardava-se que o animal o retirasse ou se debatesse com o corpo com esse objetivo. Quando isso não acontecia até 15 segundos após o mergulho, o membro era retirado, para que não houvesse lesões (tempo de *cut-off*). O tempo de retirada dos membros era registrado através de um cronômetro e anotado para posterior análise. Com esse teste detectou-se a presença ou não de hiperalgesia e/ou alodínia, que são duas importantes condições na dor neuropática crônica.

#### **Grupo pseudo-cirúrgico (n = 7)**

O segundo grupo, denominado grupo pseudo-cirúrgico, por não haver constrição do nervo ciático, composto por machos e fêmeas, com peso entre 200 e 280 g no dia do procedimento cirúrgico, submetidos às mesmas condições ambientais que o grupo normal.

Esses ratos foram pesados e anestesiados com cetamina (12 mg/kg) e xilazina (1 mg/kg), administradas no membro posterior por via muscular. Após estarem anestesiados, iniciava-se o ato cirúrgico.

Os animais eram colocados sobre uma mesa com o ventre para cima e seus membros presos por um esparadrapo. Nos membros posteriores realizou-se tricotomia na parte interna e a desinfecção com iodopolvidina. A incisão de 1,5 cm foi realizada na face interna da coxa alcançando

a fásia de modo a separar os músculos glúteos e o músculo bíceps femoral, momento em que o nervo ciático era exposto, sem ser tocado ou manipulado; em seguida liberavam-se os músculos separados e suturava-se a pele com fio de algodão.

Após o procedimento foram colocados nas gaiolas e oferecidos água e comida à vontade. As observações foram realizadas durante 30 dias, sendo a primeira realizada antes da cirurgia e a seguinte após 29 dias. As observações se procediam no mesmo observatório, nas mesmas condições das observações do grupo normal e seguindo as mesmas regras. Os testes térmicos desse grupo também foram realizados seguindo o mesmo protocolo dos animais do grupo normal. Além disso, os animais eram diariamente pesados, para observação do ganho de peso.

### Grupo cirúrgico (n = 7)

Este grupo de animais era composto por machos e fêmeas, com peso entre 180 e 420 g no dia do procedimento cirúrgico e estavam submetidos às mesmas condições ambientais que o grupo normal e pseudo-cirúrgico.

Os animais eram pesados e anestesiados com cetamina (12 mg/kg) e xilazina (1 mg/kg), administrados no membro posterior por via muscular. Os procedimentos iniciais até a instalação da lesão foram os mesmos já descritos. Após expor o nervo ciático, foi dissecado e exposto na altura do pequeno trocânter do fêmur em um comprimento medindo em torno de 8 mm do nervo ciático proximal e então tracionado para melhor execução dessa técnica. O nervo foi dissecado, tracionado e constricto usando um fio *mononylon* 4.0 e também transfixado com o mesmo fio, usando-se uma mini-agulha cortante 3/8. O nervo ciático era transfixado em 3/4 de seu diâmetro e constricto em quatro locais separados por 2 mm de distância aproximadamente. Em seguida recolocado no seu local de origem, os músculos liberados e a pele suturada com fio de algodão. Esse procedimento era realizado no membro posterior direito constituindo o modelo de dor neuropática induzida pela constrição do nervo ciático. Esse é o modelo de Bennett e Xie (1988)<sup>6</sup> com modificações sugeridas por Seltzer, Dubner e Shir<sup>4</sup>. O membro esquerdo desses animais foi pseudo-operado. Denominou-se aqui pseudo-operação ao ato cirúrgico de incidir a pele, fásia, separar os músculos glúteos e bíceps femoral e expor o nervo ciático, sem lesá-lo. Uma vez exposto, os músculos eram soltos e a pele suturada com fio de algodão.

Os animais eram reconduzidos às gaiolas e oferecidos água e comida *ad libitum*.

As observações foram feitas nos 30 dias subsequentes à cirurgia. As observações eram realizadas no mesmo ob-

servatório, sob as mesmas condições do grupo normal e pseudo-cirúrgico e seguindo as mesmas regras. Os testes térmicos desse grupo também foram realizados seguindo o mesmo protocolo dos animais do grupo normal e pseudo-cirúrgico. Ao longo dos dias os animais eram pesados e o peso anotado.

### Análise estatística

Para análise estatística foram usados os programas de computador NORUSIS e SISVAR, em que foram utilizados vários testes estatísticos. Os dados foram considerados estatisticamente diferentes quando a probabilidade de ocorrência da hipótese nula fosse inferior a 5% ( $p < 0,05$ ).

Em todos os grupos foram realizados os testes de normalidade e homogeneidade. O programa NORUSIS foi utilizado para testar normalidade e homogeneidade dos dados e gerar a Análise de Variância.

O programa SISVAR foi utilizado para fazer a análise dos contrastes.

O teste de Bonferroni foi aplicado quando as populações eram consideradas normais. Quando as populações não apresentavam homogeneidade, se utilizou o teste *t* de Student-Newman-Keuls.

### Ética

Procurou-se, durante todo o experimento, seguir rigorosamente as normas estabelecidas em 1983 pela *International Association for the Study of Pain* (IASP), que estabelecem que se deva utilizar o menor número possível de animais, que o modelo desenvolvido não leve à incapacitação definitiva, que não interfira nas suas atividades rotineiras e que se dêem condições a esses animais para que esses possam dispor de maneira que aliviem essa dor<sup>16</sup>.

### RESULTADOS

Foram analisados os comportamentos alimentar-se, empinar-se, exploratórios como correr, andar e farejar, descansar/dormir, coçar-se, morder-se, limpar-se, e congelar-se. O comportamento de coçar-se, assim como o de morder-se, foi observado levando-se em consideração os membros direito e esquerdo.

Os sete animais que foram submetidos à constrição do nervo ciático desenvolveram mononeuropatia ciática. Nos animais observados verificou-se que ao longo de 30 dias houve mudanças significativas de alguns comportamentos. As mudanças comportamentais relativas à constrição do nervo ciático acentuam-se, principalmente, a partir do 20º dia. Contudo, o aumento máximo das mudanças comportamentais dava-se no 30º dia após a constrição.



O comportamento de alimentar-se e limpar-se não apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os três grupos (Tabela 1). O empinar-se, no entanto, diminuiu significativamente ( $p < 0,05$ ) nos animais com constrição do nervo ciático, porém não houve diferenças entre os animais do grupo normal e pseudo-cirúrgico (Gráfico 1 e Tabela 1). Já na análise dos comportamentos exploratórios (correr, andar, farejar, verificou-se redução estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) nos animais do grupo cirúrgico quando comparada aos animais dos grupos normal e pseudo-cirúrgico (Gráfico 1 e Tabela 1). Os comportamentos de descansar/dormir e congelar-se nos ratos com constrição do nervo ciático, por sua vez, apresentaram aumento, estatisticamente, significativo ( $p < 0,05$ ) quando comparados aos grupos normal e pseudo-cirúrgico (Gráfico 1 e Tabela 1).

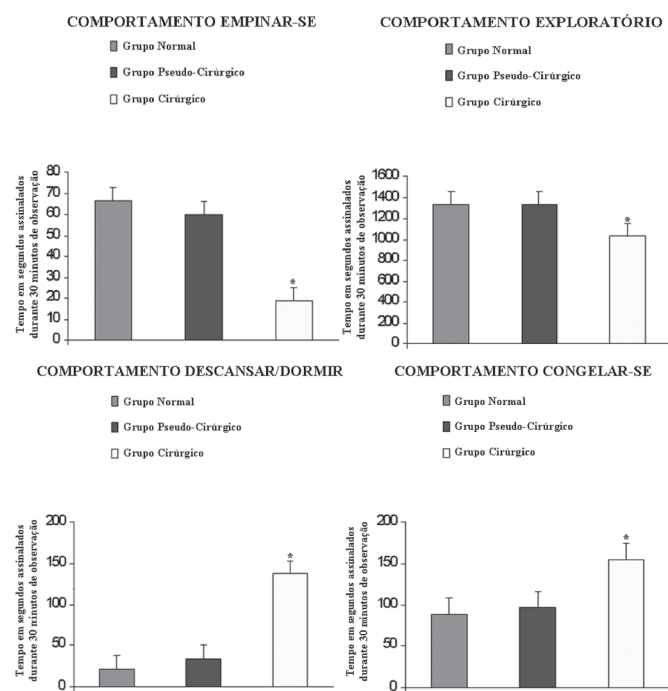


Gráfico 1 – Tempo de execução dos comportamentos empinar-se, exploratório, descansar/dormir e congelar-se observados nos grupos normal (n = 7), pseudo-cirúrgico (n = 7) e cirúrgico (n = 8). Os valores estão expressos em média ± EPM. As barras verticais representam o erro padrão da média. \* Representa a significância estatística ( $p < 0,05$ ) entre os grupos (testes de Bonferroni e de Student-Newman-Keuls) em relação aos valores obtidos no grupo normal.

O comportamento de coçar-se se apresentou significativamente aumentado ( $p < 0,05$ ) nos membros posteriores direito e esquerdo (Gráfico 2 e Tabela 1), quando comparados aos grupos normal e pseudo-cirúrgico. Observou-se também que no membro direito (membro lesionado) ocorreu um aumento maior quando comparado ao membro contralateral (membro ficticiamente operado) (Gráfico 2 e Tabela 1), porém sem diferenças significativas.

Tabela 1 – Médias com diferença estatística dos comportamentos observados nos grupos estudados.

Comportamentos	Grupos		
	Cirúrgico	Pseudo-Cirúrgico	Normal
Alimentar-se	16,55	22,21	20,44
Empinar-se	18,55*	60,00	66,51
Exploratórios	1035,63*	1329,37	1333,63
Descansar/dormir	137,50*	33,28	21,71
Congelar-se	154,37*	96,87	89,41
Limpar-se	246,51	250,52	267,90
Coçar-se à direita	78,80*	2,07	0,86
Coçar-se à esquerda	57,17*	2,00	0,81
Morder-se à direita	37,78*	1,88	0,35
Morder-se à esquerda	24,12*	1,54	0,48

\*  $p < 0,05$

Gráfico 2 – Tempo de execução dos comportamentos coçar-se e morder-se à direita e à esquerda observados nos grupos normal (n = 7), pseudo-cirúrgico (n = 7) e cirúrgico (n = 8). Os valores estão expressos em média ± EPM. As barras verticais representam o erro padrão da média. \* Representa a significância estatística ( $p < 0,05$ ) entre os grupos (teste de Bonferroni) em relação aos valores obtidos no grupo normal.

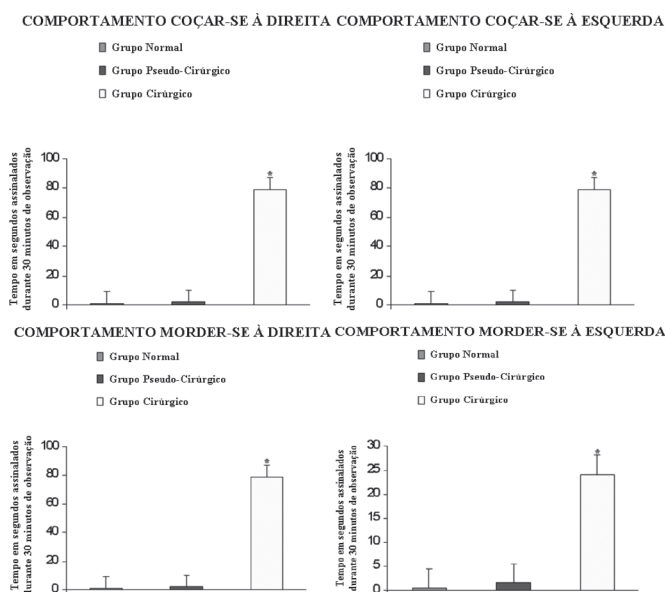


Gráfico 2 – Tempo de execução dos comportamentos coçar-se e morder-se à direita e à esquerda observados nos grupos normal (n = 7), pseudo-cirúrgico (n = 7) e cirúrgico (n = 8). Os valores estão expressos em média ± EPM. As barras verticais representam o erro padrão da média. \* Representa a significância estatística ( $p < 0,05$ ) entre os grupos (teste de Bonferroni) em relação aos valores obtidos no grupo normal.

Os animais com mononeuropatia ciática apresentaram diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) do limiar de resposta ao estímulo térmico, de 40° C em ambos os membros direito e esquerdo, em relação aos grupos normal e pseudo-cirúrgico, sugerindo a presença de alodínia (Gráfico 3 e Tabela 2). Na temperatura de 46° C as respostas dos membros direito e esquerdo e dos grupos normal e pseudo-cirúrgico foram semelhantes (Gráfico 4 e Tabela 2). Os ratos com mononeuropatia revelaram uma diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) no tempo de latência dos membros direito e esquerdo, indicando a presença de hiperalgesia (Gráfico 4 e Tabela 2).

Tabela 2 – Médias com diferença estatística dos testes térmicos observados nos grupos estudados.

Latências	Grupos		
	Cirúrgico	Pseudo-Cirúrgico	Normal
40° C à direita	12,12*	14,57	14,89
40° C à esquerda	11,42*	14,57	14,85
46° C à direita	4,362*	6,050	6,080
46° C à esquerda	4,62*	6,100	6,03

\*  $p < 0,05$

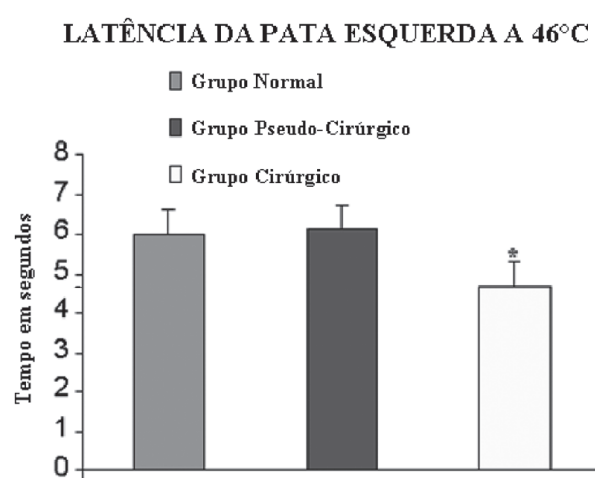
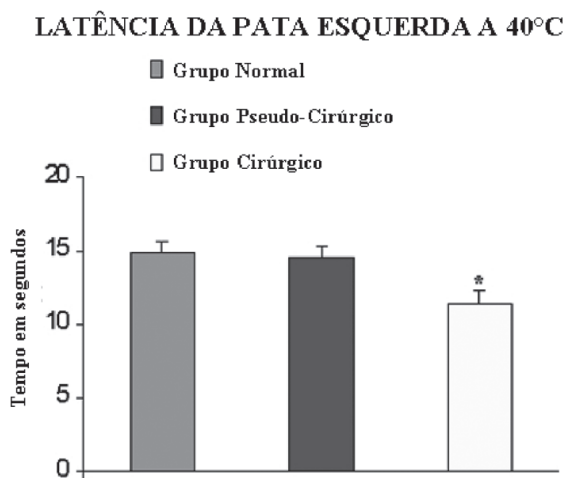
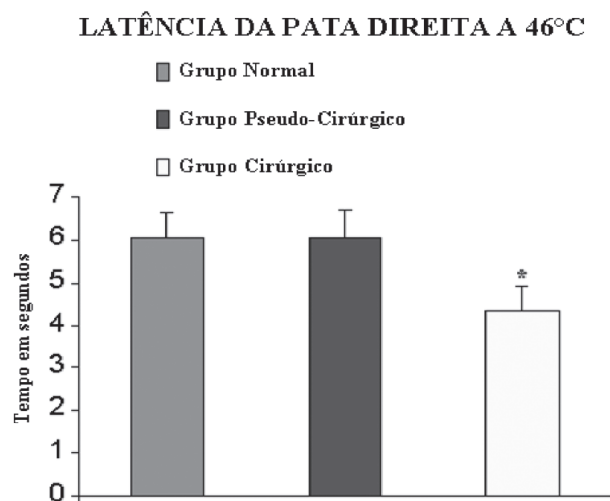
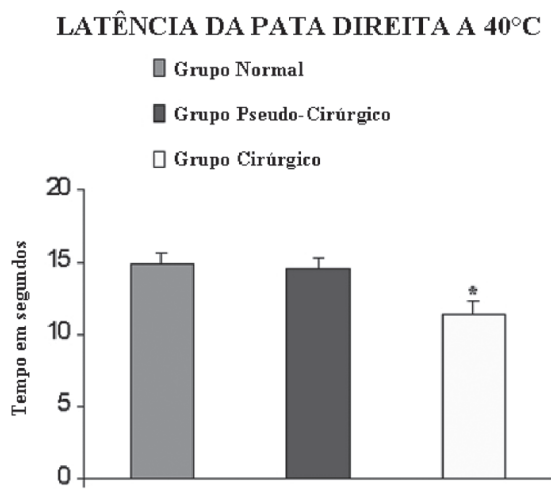


Gráfico 3 – Tempo de latência de retirada dos membros direito e esquerdo a 40°C observado nos grupos normal (n = 7), pseudo-cirúrgico (n = 7) e cirúrgico (n = 8). Os valores estão expressos em média ± EPM. As barras verticais representam o erro padrão da média. \* Representa a significância estatística ( $p < 0,05$ ) entre os grupos (teste de Bonferroni) em relação aos valores obtidos no grupo normal.

Gráfico 4 – Tempo de latência de retirada dos membros direito e esquerdo a 46° C observado nos grupos normal (n = 7), pseudo-cirúrgico (n = 7) e cirúrgico (n = 8). Os valores estão expressos em média ± EPM. As barras verticais representam o erro padrão da média. \* Representa a significância estatística ( $p < 0,05$ ) entre os grupos (teste de Student-Newman-Keuls) em relação aos valores obtidos no grupo normal.



## DISCUSSÃO

Procurou-se no presente estudo reproduzir o modelo de dor neuropática crônica experimental mononeuropática ciática constritiva, desenvolvido por Bennett e Xie (1988)<sup>6</sup> e modificado por Seltzer, Dubner e Shir<sup>4</sup>. Esse modelo foi reproduzido por Moura<sup>12</sup> objetivando estudar o comportamento de coçar-se, considerado um dos comportamentos de dor neuropática crônica. Esse mesmo comportamento foi observado no modelo da artrite adjuvante crônica<sup>3,8</sup>.

O grupo normal e o grupo pseudo-cirúrgico não apresentaram diferenças estatísticas em relação aos comportamentos analisados (Gráficos 1 a 4), levando a acreditar que o processo cirúrgico a qual esses animais se submeteram não induz a interferências nos comportamentos e, portanto, não leva a dor neuropática crônica. Isso consubstancia a ideia de que para o desenvolvimento da síndrome neuropática é necessário que ocorra lesão do nervo<sup>12-14</sup>.

O comportamento de autotomia não foi observado em nenhum dos animais operados, indicando que esse não está presente em todos os casos de dor neuropática crônica. Nossos resultados discordam de alguns autores que verificaram que animais que sofreram constrição do nervo ciático apresentam comportamento de autotomia<sup>9,15</sup>.

Algumas mudanças comportamentais observadas nos animais com mononeuropatias desses experimentos são sugestivas de dor crônica, tais como o coçar-se. Observou-se um aumento desse comportamento nos membros direito e esquerdo. Verificou-se também que os animais com mononeuropatia ciática apresentaram aumento do comportamento de morder-se à direita e à esquerda. Esses achados corroboram com alguns autores que encontraram que este modelo conduz a sinais espontâneos de dor, tais como hiperalgesia e alodínia<sup>4</sup> e o aumento do comportamento de coçar-se<sup>7,8,12-14</sup>.

Alguns autores estudaram aumento do comportamento de coçar-se como sinal de dor crônica em outros modelos. No modelo de artrite adjuvante crônica os ratos apresentaram aumento deste comportamento<sup>3,8</sup> que foi revertido com a administração de morfina. Além disso, Wiesenfeld e Lindbloom<sup>17</sup> observaram que lesões neurais no sistema nervoso provocaram o aumento do comportamento de coçar-se e Sweet<sup>18</sup> mostrou que nos modelos de deafferentação no sistema nervoso central e periférico ocorreu aumento desse comportamento.

Observou-se que aumento do comportamento de coçar-se foi maior no membro posterior direito (membro lesionado), porém houve um aumento relativo desse comportamento também no membro esquerdo, membro contralateral. Acredita-se que ocorra o fenômeno da dor em espelho, que tem sido relatada no membro contralateral em animais

que sofreram injeção de formalina no membro direito<sup>19</sup>. Os resultados do presente estudo corroboram com os de Moura<sup>12</sup>, Santos e col.<sup>13</sup> e Alves e col.<sup>14</sup>, que relatam o aumento do comportamento de coçar-se no membro contralateral e é provável que isso ocorra por envolvimento de interneurônios contralaterais à lesão.

Os comportamentos relacionados à dor devido a lesão de nervo periférico resultam parcialmente do aumento na transdução sensitiva de aferentes primários e da sensibilização central com aumento da atividade dentro do SNC<sup>20</sup>. O resultado da lesão do nervo periférico são descargas ectópicas anormais do local da lesão ou da raiz do gânglio dorsal, causando manifestações de comportamentos de dor neuropática<sup>21</sup>.

Para medir a presença de alodínia e/ou hiperalgesia, realizaram-se os testes térmicos descritos por Attal e col.<sup>22</sup>, onde recomendam que os membros posteriores devem ser mergulhados nas temperaturas de 40° C e 46° C.

Os animais do presente estudo com mononeuropatia ciática constritiva apresentaram alodínia e hiperalgesia. Nossos achados corroboram com a literatura que cita que a dor neuropática é circundada por um número variado de síndromes de dor, com etiologias variadas, no entanto, tem em comum a presença de hiperalgesia e alodínia, dor espontânea e parestesia, sugerindo que existem mecanismos fundamentais que são comuns nas diferentes síndromes<sup>23</sup>. Estudos relatam que a presença de alodínia é um sintoma de dor neuropática crônica<sup>12-14</sup>.

Frost e col.<sup>24</sup> citaram em seus estudos que alodínia ao frio é um sintoma característico de dor neuropática, sendo particularmente resistente às intervenções farmacológicas<sup>25</sup>.

Kayser e Christensen<sup>25</sup> verificaram que os ratos com lesão por constrição unilateral do nervo ciático exibiram claramente sensibilidade anormal para a dor, com diminuição do limiar para a vocalização para o estímulo mecânico e redução da latência para a luta em resposta ao estímulo térmico pelo frio (a uma temperatura de 10° C).

Em concordância com observações prévias, o limiar da vocalização pela pressão do membro foi marcadamente reduzido duas semanas após a ligação do nervo ciático<sup>26</sup>. O limiar da vocalização para a pressão do membro contralateral foi também reduzido, mas com menor extensão. Em contraste, o limiar de vocalização de ratos pseudo-operados não foi diferente daquele mensurado em animais intactos<sup>26</sup>.

Alguns modelos, tais como ligação do nervo ciático e de nervos espinhais e indução de neuropatia diabética conduzem ao desenvolvimento longo e durável de hiperalgesia e alodínia térmica e mecânica<sup>6,4,11</sup>.

No presente experimento observou-se que os animais apresentaram hiperalgesia e alodínia no membro con-



tralateral, o que também foi observado por Fox e col.<sup>27</sup> quando relataram que animais com ligação parcial do nervo ciático exibiram pronunciada hiperalgia mecânica no membro ipsilateral. Esses mesmos autores determinaram que cobaias com ligação do nervo ciático desenvolveram hiperalgesia similar a de ratos em ambos os membros lateral e contralateral.

## CONCLUSÃO

Os dados obtidos permitiram concluir que a observação comportamental quantificada evidenciou uma modificação significativa dos comportamentos, mais especificamente redução de empinar-se e exploratórios como correr, andar, farejar e um aumento de descansar/dormir, congelar-se, coçar-se à direita e à esquerda e morder-se à direita e à esquerda e os testes térmicos revelaram uma redução da latência a 40°C e 46°C sugerindo presença de alodínia e hiperalgesia.

## REFERÊNCIAS

1. Koltzenburg M, Scadding J. Neuropathic pain. *Curr Opin Neurol*, 2001;14:641-647.
2. Colpaert FC, De Witte P, Maroli AN, et al. Self-administration of the analgesic suprofen in arthritic rats: evidence of *Mycobacterium butyricum*-induced arthritis as an experimental model of chronic pain. *Life Sci*, 1980;27:921-928.
3. De Castro Costa M, De Sutter P, Gybels J, et al. Adjuvant-induced arthritis in rats: a possible animal model of chronic pain. *Pain*, 1981;10:173-185.
4. Seltzer Z, Dubner R, Shir Y. A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. *Pain*, 1990;43:205-218.
5. Decosterd I, Woolf CJ. Spared nerve injury: an animal model of persistent peripheral neuropathic pain. *Pain*, 2000;87:149-158.
6. Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain*, 1988;33:87-107.
7. Kupers RC, Nuytten D, De Castro-Costa M, et al. A time course analysis of the changes in spontaneous and evoked behaviour in a rat model of neuropathic pain. *Pain*, 1992;50:101-111.
8. De Castro-Costa M, Gybels J, Kupers R, et al. Scratching behaviour in arthritic rats: a sign of chronic pain or itch?. *Pain*, 1987;29:123-131.
9. Wall PD, Devor M, Inbal R, et al. Autonomy following peripheral nerve lesions: experimental anaesthesia dolorosa. *Pain*, 1979;7:103-111.
10. Lombard MC, Nashold BS Jr, Albe-Fessard D, et al. Deafferentation hypersensitivity in the rat after dorsal rhizotomy: a possible animal model of chronic pain. *Pain*, 1979;6:163-174.
11. Kim SH, Chung JM. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain*, 1992;50:355-363.
12. Moura FEA. Estudo comportamental farmacológico de ratos portadores de mononeuropatia ciática. Fortaleza. Tese (Mestrado em Farmacologia) Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará. 1995;119.
13. Santos Tde J, de Castro-Costa CM, Giffoni SD, et al. The effect of baclofen on spontaneous and evoked behavioural expression of experimental neuropathic chronic pain. *Arq Neuropsiquiatr*, 1999;57(3B):753-760.
14. Alves ND, de Castro-Costa CM, de Carvalho AM, et al. Possible analgesic effect of vigabatrin in animal experimental chronic neuropathic pain. *Arq Neuropsiquiatr*, 1999;57:916-920.
- 15.Coderre TJ, Grimes RW, Melzack R. Deafferentation and chronic pain in animals: an evaluation of evidence suggesting autotomy is related to pain. *Pain*, 1986;26:61-84.
16. Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain*, 1983;16:109-110.
17. Wiesenfeld Z, Lindblom U. Behavioral and electrophysiological effects of various types of peripheral nerve lesions in the rat: a comparison of possible models for chronic pain. *Pain*, 1980;8:285-298.
18. Sweet WH. Animal models of chronic pain: their possible validation from human experience with posterior rhizotomy a congenital analgesia. *Pain*, 1981;10:275-295.
19. Aloisi AM, Porro CA, Cavazzuti M, et al. "Mirror pain" in the formalin test: behavioral and 2-deoxyglucose studies. *Pain*, 1993;55:267-273.
20. Coderre TJ, Katz J, Vaccarino AL, et al. Contribution of central neuroplasticity to pathological pain: review of clinical and experimental evidence. *Pain*, 1993;52:259-285.
21. Gracely RH, Lynch SA, Bennett GJ. Painful neuropathy: altered central processing maintained dynamically by peripheral input. *Pain*, 1992;51:175-194.
22. Attal N, Jazat F, Kayser V, et al. Further evidence for 'pain-related' behaviours in a model of unilateral peripheral mononeuropathy. *Pain*, 1990;41:235-251.
23. Woolf CJ, Mannion RJ. Neuropathic pain: aetiology, symptoms, mechanism, and management. *Lancet*, 1999; 353:1959-1964.
24. Frost SA, Raja SN, Campbell JN, et al. Does hyperalgesia to cooling stimuli characterize patients with sympathetically maintained pain (reflex sympathetic dystrophy)? In: Dubner R, Gebhart GF, Bond MR. *Pain Research and Clinical Management*. Amsterdam, Elsevier, 1988:151-156.
25. Kayser V, Christensen D. Antinociceptive effect of systemic gabapentin in mononeuropathic rats depends on stimulus characteristics and level of test integration. *Pain*, 2000;88:53-60.
26. Kayser V, Farré A, Hamon M, et al. Effects of the novel analgesic, cizolirtine, in a rat model of neuropathic pain. *Pain*, 2003;104:169-177.
27. Fox A, Gentry C, Sadhana P, et al. Comparative activity of the anti-convulsants oxcarbazepine, carbamazepine, lamotrigine and gabapentine in a model of neuropathic pain the rat and guinea pig. *Pain*, 2003;105:355-362.

Apresentado em 02 de outubro de 2009.

Aceito para publicação em 16 de dezembro de 2009.