

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

Pró-reitoria para Assuntos
de Pesquisa e Pós-graduação

Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas

André Martins Galvão

Privação hídrica está associada ao
aumento da resposta da dor na região
cefálica em ratos

Recife, 2008

André Martins Galvão

Privação hídrica está associada ao aumento da resposta da dor na região cefálica em ratos

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco para obtenção do grau de Mestre na área de concentração de neurociência, fisiologia e química para a saúde orientado pelo Prof. Dr. Marcelo Moraes Valença.

Recife, 2008

Galvão, André Martins

Privação hídrica está associada ao aumento da resposta da dor na região cefálica em ratos. / André Martins Galvão . – Recife: O Autor, 2008.

58 folhas : il., fig.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco.
CCB. Ciências Biológicas, 2008.

Inclui bibliografia.

1. Dor Cefálica 2. Ratos – experiência 3. Comportamento animal I.
Título.

612.884

CDU (2.ed.)

UFPE

616.801

CDD (22.ed.)

CCB – 2008- 198

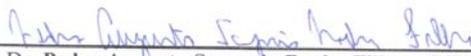
COMISSÃO EXAMINADORA

“Privação hídrica está associada ao aumento da percepção da dor de cefaléia com ratos”

TITULARES


Prof. Dr. **Marcelo Moraes Valença** - (Orientador/UFPE)


Prof. Dr. **João Ricardo Mendes de Oliveira** - (UFPE)


Prof. Dr. **Pedro Augusto Sampaio Rocha Filho** - (UPE)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR

Prof. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DIRETOR

Prof. José Thadeu Pinheiro

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

COORDENADOR

Prof.^a Suely Lins Galdino

SECRETÁRIA

Adenilda Eugênia de Lima

CORPO DOCENTE

Profa. Alzira Maria Paiva de Almeida
Profa Ana Lucia Figueiredo Porto
Profa Ana Maria Benko Iseppon
Profa Galba Maria de Campos-Takaki
Prof. Ivan da Rocha Pitta
Prof. João Ricardo Mendes de Oliveira
Prof. José Luiz de Lima Filho
Profa Laise de Holanda Cavalcanti Andrade
Profa Leonor Costa Maia
Profa Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho
Prof. Luiz Bezerra de Carvalho Junior
Prof. Marcelo dos Santos Guerra Filho
Prof. Marcelo Moraes Valença
Prof. Marcos Antonio de Moraes Junior
Profa Maria José Souza Lopes
Profa Maria Tereza dos Santos Correia
Profa Nereide Stela Santos Magalhães
Prof. Oleg Vladimirovich Krasilnikov
Profa Silene Carneiro do Nascimento
Profa. Suely Lins Galdino
Profa Vera Lúcia de Menezes Lima

Dedicatória

(In memoriam)

À minha **mãe Sônia**. A etimologia de seu nome vem do Grego e significa Sabedoria. De todos os ensinamentos que ela me passou e me inspiram até hoje, foi o exemplo de vida.

Mãe obrigado por eu ser filho.

Agradecimentos

A **DEUS** por esta dádiva maravilhosa que é a vida e pela possibilidade constante de evoluirmos espiritualmente.

Aos **meus familiares** e em especial ao meu pai, **Ivo**, princípio e fundamento de tudo na minha vida.

Àos meus irmãos, **Ivo e Camila**, pelo apoio dado nos momentos de dificuldade, paciência e aceitação, nos momentos em que precisei estar ausente.

À **Prof. Dr. Marcelo Moraes Valença**, orientador, que desde o início abraçou o projeto e me permitiu a execução, com observações e orientações pertinentes e preciosas. Obrigado pelo apoio e pela dedicação desde o período da graduação, incentivando-me na docência e na pesquisa científica.

A **Profa. Dra. Armele de Fátima Dornelas de Andrade**, Obrigado pelo apoio e pela dedicação desde o período da graduação, incentivando-me na docência e na pesquisa científica.

Aos **Professores Dr. Fabiano Ferreira, Dr. João Ricardo, Dr. Pedro Sampaio, Dr. Rubem Guedes, Msc. Joaquim Sérgio, Dra. Carmem Chaves**, os quais contribuíram com o ensino e com as orientações valiosas para a conclusão deste trabalho.

Aos **Colegas de Mestrado**, com os quais tive a honra e a oportunidade de compartilhar as atividades diárias do aprendizado da pós-graduação.

Às secretárias do Programa do Mestrado, **Adenilda e Solange**, pela colaboração constante nesses dois anos.

Aos amigos **Msc. Valdecir Galindo e Weriton Ferreira**, que tanto me têm incentivado e motivado.

À **Dra. Adriana Ferreira** e as alunas **Kamila, Louise e Mariana** pelo incentivo, contribuição com sugestões e pelas horas de trabalho no Núcleo de Cirurgia Experimental da UFPE.

Aos funcionários **Paulo e Lourdes** pelo acolhimento e incentivo durante os experimentos no Núcleo de Cirurgia Experimental.

A todos os amigos e colegas do **Biotério** que colaboraram durante a fase do experimento fornecendo os animais.

Enfim, aos **animais**, sem os quais não seria possível o presente estudo, contribuindo, assim, para a busca de novos conhecimentos na Área de Saúde.

Resumo da Dissertação

Fundamento: Os modelos experimentais para avaliação e mensuração da dor, em animais de laboratório, envolvem preparações cruentas, tais como, a injeção intracisternal de substâncias irritantes ou microinjeções de fármacos nas regiões intracerebrais. No estudo da dor, há a necessidade do animal permanecer consciente, pois é através das alterações no comportamento do animal que a intensidade da dor é avaliada. O modelo desenvolvido por Valença et al.(2005) consiste em um método, cujas vantagens são a simplicidade e a utilização de animais não anestesiados e que se movimentam livremente. Este método permite observar as várias mudanças no comportamento do roedor, de maneira que a intensidade da dor cefálica possa ser mensurada. Esse modelo é uma adaptação do uso da formalina (indutor nociceptivo) na região do segmento cefálico do animal. **Objetivos:** O objetivo deste trabalho foi avaliar a modificação do padrão comportamental do animal após o uso dos testes de injeção de formalina e de retirada da cauda imersa em água aquecida, após permanecer privados de água (desidratados). Um segundo objetivo foi analisar as alterações eletrolíticas e bioquímicas durante o período em que os animais permaneceram desidratados. **Métodos:** Para a primeira fase do experimento, soluções de formalina foram injetadas na região frontal subcutânea dos animais. Em seguida, analisamos as alterações do comportamento do animal, em consequência da presença de dor na região cefálica, tais como: coçar a cabeça, balançar a cabeça, vocalização e agitação. Na segunda fase do experimento, o método escolhido para avaliar o limiar de resposta a dor foi o teste de retirada da cauda após ser aplicado um estímulo térmico nociceptivo. Neste procedimento foi observada a resposta de retirada da cauda do animal quando imersa em um recipiente com água, cuja temperatura era mantida continuamente a 50°C (celcius). **Resultados:** Evidenciamos um aumento da alteração comportamental em resposta a dor (número de vezes que o animal coça a cabeça – CC/minuto) mais acentuada nos animais desidratados em relação ao outro ($CC/min = 73.02 \pm 8.73, n = 12$ vs $27.43 \pm 2.19, n = 12$). Na segunda fase do experimento verificamos que o período de latência da dor tinha sido reduzido no grupo desidratado (Tempo de latência (s) = $1.32 \pm 0.1, n = 12$ vs $3.65 \pm 0.12, n = 12$). Além disso, observamos que no grupo de animais desidratado a hemoconcentração ($Ht = 50,83 \pm 1,31$ vs $32,75 \pm 3,08$, $Hb = 13,53 \pm 0,5$ vs $10,08 \pm 0,9$) e a osmolalidade ($[Na^+] = 172,41 \pm 10,8$ vs $147,91 \pm 8,43$; $[K^+] = 5,77 \pm 0,2$ vs $5,21 \pm 0,55$; $[Ca^{++}] = 11,8 \pm 0,59$ vs $12,1 \pm 0,6$) interferiram no comportamento da dor animal. **Conclusão:** Os nossos resultados sugerem que a privação hídrica (desidratação) em animais de laboratório induzem alterações na hemoconcentração e na osmolalidade plasmática e estas podem estar associadas as alterações comportamentais da resposta da dor cefálica, bem como redução do período de latência da dor.

Palavras-chave: privação hídrica, dor cefálica, modelos experimentais.

Dissertation Abstract

Background: The experimental models for evaluation and to measure pain, in laboratory animals, involve painful preparations, such as, the intracisternal irritating substance injection or microinjections of medicins intracerebral. In the study of pain, has the necessity of the animal to remain consciencious, therefore it is through the alterations in the behavior of the animal that the intensity of pain was evaluated. The model developed by Valença et al., compared with the previous models, consists of a method, whose advantages are the simplicity and the use of animals not anesthiesiate and that they are put into motion freely. This method allows to observe the some changes in the behavior of the rodent, thus the intensity of headache pain can be measure. This model is an adaptation of the use of the formalin test in the region of the head segment of the animal. **Objectives:** The objective of this study was evaluate the modification of the behavior of the animal after the use of the formalin test and withdrawal of the tail after to remain private of water (dehydrated). As an objective one was to analyze the electrolytic alterations and biochemists during the period where the animals had remained dehydrated. **Methods:** For the first phase of the experiment, formalin solutions had been injected in the subcutaneous region frontal of the animals. We analyze the alterations of the behavior of the animal, in consequence of the presence of pain in the head region, such as to beat the head, to balance the head, vocalization and agitation. In the second phase of the experiment, the chosen method to evaluate the reply threshold pain was the test of withdrawal of the tail after to be applied a nociceptive thermal stimulation. In this protocol the reply of withdrawal of the tail of the when immersed animal in a container with water was observed, whose temperature was kept continuously 50°C (celcius) during some hours. **Results:** We evidence an increase of the measure alteration (number of times that the animal beat the head - CC/minute) accented in the animals dehydrated in relation to the other (CC/min = $73.02 \pm 8,73$. n = 12 versus $27.43 \pm 2,19$. n = 12). In the second phase of the experiment of the experiment we verify that the period of latency of pain had been reduced in the dehydrated group (Time of latency (s) = $1.32 \pm 0,1$ n = 12 versus $3.65 \pm 0,12$ n = 12). Moreover, we observe that in the group of animals dehydrated the hemoconcentration (Ht = $50,83 \pm 1,31$ versus $32,75 \pm 3,08$. Hb = $13,53 \pm 0,5$ versus $10,08 \pm 0,9$) and the hiperosmolality ($[Na^+] = 172,41 \pm 10,8$ versus $147,91 \pm 8,43$; $[K^+] = 5,77 \pm 0,2$ versus $5,21 \pm 0,55$; $[Ca^{++}] = 11,8 \pm 0,59$ versus $12,1 \pm 0,6$) they had intervned with the behavior of the one of animal pain. **Conclusion:** Our results evidence that the water deprivation (dehydration) the induced alterations in hemoconcentration and plasmatica osmolality in laboratory animals had provoked measure alterations of the reply of head pain, as well as reduction of the period of latency of pain.

Keywords: water-deprivation, headache, experimental models.

Sumário

Lista de tabelas e figuras.....

Lista de abreviaturas.....

Artigo de Revisão – Evidências científicas entre a relação da oferta hídrica com a resposta da dor

Resumo.....

Abstract.....

Introdução.....

Metodologia.....

Modelo experimental de dor em animais de laboratório.....

Modelo experimental de dor em Humanos.....

Dor cefálica (cefaléia e enxaqueca).....

Alterações da osmolalidade e dor.....

Distribuição anatômica dos osmoreceptores e nociceptores.....

Fatores deflagadores da dor.....

Alteração da ingestão de água e dor.....

Considerações finais.....

Referências bibliográficas.....

Artigo original - Privação hídrica está associada ao aumento da resposta da dor na região cefálica em ratos

Resumo.....

Abstract.....

Introdução.....

Metódos.....

População estudada.....

Desenho do estudo.....

Variáveis estudadas.....

| | |
|-----------------------------------|--|
| <i>Bioquímica sanguínea</i> | |
| <i>Análise estatística</i> | |
| Resultados..... | |
| Discussão..... | |
| Considerações finais..... | |
| Referências Bibliográficas..... | |
| Anexos..... | |

Lista de Tabelas e Figuras

Artigo Original

Tabela

Tabela 1 Valores médios dos eletrólitos e bioquímica plasmática de ratos

Figura

Figura 1 Teste de formalina em ratos (direita e esquerda).

Figura 2 Teste imersão da cauda em ratos e o monitoramento contínuo da temperatura da água (direita e esquerda).

Gráfico 1 Correlação entre a concentração plasmática de sódio e a resposta comportamental da dor apresentada pelo animal desidratado. Valores médios \pm erro padrão.

Gráfico 2 Correlação entre a concentração plasmática de potássio e a resposta comportamental da dor apresentada pelo animal desidratado. Valores médios \pm erro padrão.

Gráfico 3 Comparação do comportamento dor cefálica entre o grupo Normohidratado (NH) e o grupo desidratado (D) após o teste de formalina. Valores médios \pm erro padrão.

Gráfico 4 Comparação da latência da dor cefálica entre o grupo Normohidratado (NH) e o grupo desidratado (D), após a imersão da cauda em água aquecida a 50°C. Valores médios \pm erro padrão.

Lista de Abreviaturas

| | |
|------|--|
| 5HT | 5-hidroxitriptamina |
| AP | área postrema |
| AVP | vasopressina |
| AV3V | região antero-ventral do terceiro ventrículo |
| CGRP | Peptídeo Relacionado ao Gene da Calcitonina |
| CVOs | Órgãos circunventriculares |
| MnPO | núcleo mediano pré-óptico |
| NA | Neurocinia A |
| OVLТ | órgão vascularizado da lâmina terminal |
| OT | ocitocina |
| PET | tomografia de emissão de pósitrons |
| PVN | núcleo paraventricular |
| SI | área somatossensorial primária |
| SFO | órgão subfornicial |
| SNC | Sistema Nervoso Central |
| SON | núcleo supra óptico |
| SP | Substância P |

Artigo de Revisão

Evidência científica entre a relação da oferta hídrica com a resposta da dor.

Scientific evidence between relation water intake and pain

Galvao, AM⁽¹⁾, Ferreira F⁽²⁾, Amorim AF⁽³⁾, Chaves C⁽⁴⁾, Valença, MM⁽⁵⁾

Núcleo de Cirurgia Experimental, Centro de Ciências da Saúde, UFPE, Recife-PE, Brasil

¹Mestrando em Ciências Biológicas, neurofisiologia e química para a saúde, Centro de Ciências de Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, ²Professor Dr. Associado do Departamento de Fisiologia Universidade Federal de Pernambuco, ³Médica Veterinária do Núcleo de Cirurgia Experimental da Universidade Federal de Pernambuco, ⁴Professora Dra. Associado do Departamento de Fisiologia Universidade Federal de Pernambuco, ⁵Professor Dr. Associado do Departamento de Neurologia da Universidade Federal de Pernambuco.

Endereço para correspondência: André Martins Galvão, Rua das Graças, nº 377, apt 204, Graças, Recife/PE, Brasil, CEP 52011-200, e-mail: andremgalvao@yahoo.com.br / andremgalvao@hotmail.com

Palavras-chave: privação hídrica, dor cefálica, modelos experimentais.

Keywords: water-deprivation, headache, experimental models.

* Artigo de Revisão a ser submetido para publicação e formatado de acordo com as normas Revista Dor, Pesquisa, Clínica e Terapêutica.

Resumo

No estudo da dor, o desenvolvimento de instrumentos para avaliar e mensurar a dor percebida ou referida tem desafiado cientistas e clínicos. Nesta tentativa alguns modelos em animais foram desenvolvidos para estudar a dor. Os modelos experimentais para dor na região cefálica, em geral, envolvem preparações cruentas, necessitando que o animal de laboratório seja mantido inconsciente e anestesiado. O uso de um modelo com animal consciente para avaliar a resposta à dor na região cefálica foi realizado pela primeira vez por Valença et al.(2005). Relatos da literatura sugerem a existência de uma relação entre a privação hídrica e as crises de dor cefálica em seres humanos. O objetivo deste artigo foi abordar as alterações comportamentais dos animais de laboratório diante das alterações da oferta hídrica e as suas respostas à dor, bem como o nível de evidência científica disponível até a presente data. Foram utilizados artigos publicados em periódicos científicos nas bases de dados Medline, Lilacs e PubMed. Abordamos a importância da ingestão adicional de água diária, destacando os efeitos fisiológicos e as alterações comportamentais diante da dor. Além disso, evidenciamos que este pode ser um novo campo para intervenções terapêuticas nos estudos sobre a dor.

Palavras-chave: privação hídrica, dor cefálica, modelos experimentais.

Abstract

In the study of pain, the development of instruments to evaluate and to measure perceived or related pain has been challenge scientists and physicians. In this attempt some models in animals had been developed. The experimental models for pain in the head region, in general, involved painful preparations, needing that the laboratory animal was been anesthetized. The use of a model with wake up animal to evaluate the reply to pain in the head region was carried through for the first time by Valença (2005). Stories of literature suggest the existence of a relation between the water privation and the attacks of head pain in human beings. However, it has few studies scientific controlled and randomized in laboratory animals. The objective of this article of revision was to approach the changes behavior of the laboratory animals and of the human beings ahead of the changes of it offers water and its answers pain, as well as the level of available scientific evidence until the present date. Periodic articles had been used published in scientific in the databases Medline, Lilacs and PubMed. We approach the important of the additional daily water ingestion, detaching the physiological effect and the behavior changes ahead of pain. Moreover, we evidence that this can be a new field for therapy interventions in the studies of pain.

Keywords: *water-deprivation, headache, experimental models.*

Introdução

No estudo da dor, o desenvolvimento de instrumentos para avaliar e mensurar a dor percebida tem desafiado cientistas e clínicos (Katz et al, 1999). Embora a dor seja subjetiva, é possível quantificar e entender seus mecanismos fisiopatológicos. Nesta tentativa, alguns estudos em animais estão sendo desenvolvidos. A mensuração refere-se a um número (valor) e está associado à intensidade da dor. A avaliação descreve as informações sobre a dor, seu significado e seus efeitos subjetivos (Sousa et al, 2005). Juntas, a avaliação e a mensuração constituem o processo de coleta das informações sobre a dor.

O livro de Melzack (1973), intitulado “The Puzzle of Pain”, reflete a complexidade das sensações e experiências dolorosas. Atualmente, muitos são os esforços científicos para o estudo do alívio da dor. Ela pode ser descrita como uma resposta fisiológica decorrente de um estímulo mecânico, térmico ou químico, caracterizada por uma resposta sensorial.

Segundo o Instituto Norte-Americano de Saúde, 100 (cem) milhões de pessoas nos Estados Unidos sofrem de dor crônica, custando 80 (oitenta) bilhões de dólares anuais, além de ter um impacto direto nos dias e horas de trabalho. No Brasil há poucos dados a este respeito, porém em São Paulo, em 1990, um mil duzentos e setenta pacientes procuraram a Unidade de Emergência do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto devido ao sintoma de dor de cabeça (Speciali JG et al., 1992). Entre três e seis por cento dos homens e entre treze e dezoito por cento das mulheres apresentaram enxaqueca (um tipo de cefaléia) com certa regularidade. A qualidade de vida do sofredor crônico de cefaléia está comprometida, pois essas pessoas têm maior incidência de dores no corpo e menor saúde mental (Ferri-De-Barros et al,

1996). A enxaqueca tem sido considerada mais incapacitante que a depressão, osteoartrite, diabetes, hipertensão e lombalgia. Além disso, o comprometimento da vida profissional é marcado por maior número de faltas e limitação das atividades no trabalho, devido à dor ou sintomas relacionados (Ferri-De-Barros et al, 1996).

Este estudo tem por objetivo analisar dados disponíveis na literatura acerca da evidência científica entre a relação dos fatores causadores de dor, na região cefálica, em especial atenção, as alterações provocadas pela baixa oferta de água como fator causal.

Metodologia

Para a realização do presente artigo de revisão foram consultadas as bases de dados: Medline, Lilacs e PubMed, nos últimos 10 anos. Além dessas bases, artigos antigos da década de quarenta também foram citados a partir de outros trabalhos adquiridos inicialmente. Foram utilizadas todas as combinações entre as seguintes palavras-chaves: privação hídrica, dor, modelo experimental de dor, cefaléia, enxaqueca e migrânea. Utilizamos também os termos correspondentes na língua inglesa: deprivation water, pain, experimental model of pain, headache e migraine.

Foram analisados os artigos que atendessem aos seguintes critérios: fossem enquadrados dentro dos propósitos desta revisão; estivessem escritos em língua portuguesa ou inglesa e estivessem disponíveis em formato impresso ou em arquivo computadorizado.

Modelos experimentais de dor em animais de laboratório

A avaliação da resposta comportamental do animal após um estímulo doloroso reflete a intensidade da dor provocada. O uso da formalina (formaldeído numa concentração de 2,5%) injetada na pata do animal é um dos modelos mais usados na indução da dor e inflamação (Valença et al, 2005). Rato, camundongo, gato e macacos foram algumas das espécies nas quais o teste da injeção de formalina foi realizada (Dubuisson D et al, 1977, Alreja M et al, 1984, Hunskaar S et al, 1985). O uso de um modelo animal para avaliar a resposta à dor na região cefálica foi realizado pela primeira vez por Valença e colaboradores (2005). Ele adaptou o modelo clássico de formalina utilizando a injeção deste agente no segmento cefálico. A formalina como agente irritante, estimula diretamente receptores nociceptivos do nervo trigêmeo (quinto par craniano) desencadeando um processo inflamatório local (Valença et al, 1999). A modificação do padrão comportamental do animal está diretamente relacionada com a dor sentida na cabeça (Valença et al, 2005). Outro teste também utilizado é o de imersão da cauda do roedor, no qual a cauda é imersa em um recipiente com água aquecida entre 48°C e 50°C (celsius). Este teste determina o período entre a percepção do estímulo térmico pelo animal e o momento em que ele retira a cauda da água. Isto serve para quantificar o grau de analgesia. O tratamento prévio do animal com drogas analgésicas, ou submetê-lo ao estresse de imobilização, aumenta o tempo em que a cauda fica em contato com a água quente, pois estes procedimentos induzem analgesia através do sistema opióide endógeno (Valença et al, 1999).

Os modelos experimentais para dor na região cefálica, em geral, envolvem preparações cruentas, necessitando que o animal esteja inconsciente e anestesiado. Entre os modelos animais estão: a injeção intracisternal de substâncias irritantes, como a capsaicina, e posterior determinação da expressão da proteína C-fos

(marcador da atividade neuronal) em áreas encefálicas envolvidas no mecanismo de dor e analgesia. Isto ocorre em neurônios do núcleo trigeminal caudalis (lâminas I e II), local aonde chegam às fibras finas tipo C não-mielinizadas de origem meningeal (Cutler FM et al, 1996). O outro modelo é o de microinjeções de fármacos intracerebrais desenvolvido por Levy et al (2003).

Modelos experimentais de dor em Humanos

Em seres humanos, a dor originada nas meninges e partes moles da cabeça (cefaléia) pode ser provocada pela ativação nociceptiva do sistema trigeminovascular (Goadsby et al., 1990). Os mecanismos fisiopatogênicos relacionados com as cefaléias continuam a ser elucidados (Sanchez-Del-Rio et al., 2006). Neste sentido, Goadsby e colaboradores (1990) demonstraram que durante as crises de enxaqueca havia liberação de peptídeos neurais vasoativos. Um dos mecanismos propostos determina que a despolarização de neurônios causa liberação perivascular de neurotransmissores, tais como a Neurocinina A (NA), a substância P (SP) e o Peptídeo Relacionado ao Gene da Calcitonina (CGRP) no terminal noceptivo (Moskowitz et al., 1993). Isto provocaria uma inflamação neurogênica estéril, com liberação de histamina e formação de edema local (Buzzi et al, 1992, Limmroth et al, 1996,).

Baseado nas observações de Goadsby e colaboradores. (1990) a dosagem desses neurotransmissores no sangue proveniente da veia jugular tem sido utilizada para comparar a intensidade deste processo inflamatório nos vasos das meninges (Ebersberger et al, 2001). A enxaqueca é um dos tipos mais comuns de dor cefálica encontradas na prática clínica. Muitos fatores podem precipitá-la, dentre eles, estresse,

temperatura extrema, esforço físico, períodos do ciclo menstrual e alterações do sono (Urrila et al, 2006). A classificação atual dos vários tipos de cefaléias é baseada nos fenômenos que conduzem ao seu surgimento (Headache Classification Subcommittee of the International Headache Society, 2004). Relatos da literatura sugerem uma relação entre a privação hídrica e o surgimento da crise de enxaqueca, também conhecida como migrânea (Blau et al, 2004; Blau et al, 2005). Bathia e colaboradores. (2006) apresentaram um exemplo de enxaqueca que não somente era precipitada pela privação hídrica, mas também era amenizada pela ingestão de água. Este estudo enfatiza a importância da homeostase hídrica em indivíduos enxaquecosos.

Dor cefálica (cefaléia e enxaqueca)

O estudo científico da enxaqueca teve início com Graham & Wolf (1938) na década de quarenta, no qual relataram as estruturas sensíveis à dor no segmento cefálico. Foi relatada, também nesse estudo a relação entre a vasodilatação da artéria temporal superficial e a dor. Este estudo elucidou a importância de fatores vascular neste tipo de dor (cefaléia). Sicuteri, em 1959, relatou o efeito benéfico da metisergida, um antagonista da serotonina, nas enxaquecas. A serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) é um neurotransmissor excitatório que também atua no endotélio vascular como vasodilatador (Houssay-A, 2004). O 5HT também participa na regulação do sono, humor, do sexo e da dor (Sicuteri et al., 1959). Kimball e colaboradores (1960), induziram cefaléia pela injeção de reserpina (efeito vasodilatador) em pacientes enxaquecosos. A reserpina diminui a concentração do cálcio intracelular e inibe o acoplamento acto-miosina da musculatura lisa do vaso, potencializando o efeito vasorelaxante (Davies et al, 1995).

Alterações da osmolalidade e dor

Kullmann e colaboradores (2002) evidenciaram que uma possível canalpatia, alteração nos canais iônicos de sódio (Na^+), potássio (K^+), e especialmente no canal de cálcio (Ca^{++}), a nível neuronal, podem estar relacionados com uma maior susceptibilidade para o surgimento da dor em pacientes enxaquecosos.

Os ataques severos de vômitos durante a crise de enxaqueca podem levar a uma perda excessiva de água e eletrólitos, e conseqüentemente a uma desidratação momentânea, criando assim, uma condição de hiperosmolalidade (Blau et al, 2004). A hiperosmolalidade com hipernatremia (aumento da concentração de sódio plasmático) ocorre devido ao decréscimo de água no organismo (desidratação), provocada, por exemplo, pela privação hídrica (Houssay-B, 2004). A regulação do volume hídrico e da tonicidade do organismo depende de ajustes na ingestão e excreção de água e de solutos pelo organismo. O primeiro é controlado pelos centros da sede, localizados nas porções medioventral e anterior do hipotálamo (Houssay-B, 2004). A excreção de água é regulada pela ação da vasopressina (hormônio neurohipofisário, AVP) sobre os túbulos distais e os ductos coletores do néfron. O AVP aumenta a permeabilidade deles a água, permitindo a reabsorção de água ao longo de um gradiente osmótico e, conseqüentemente, originando uma urina hiperosmótica (Nielsen et al., 1995). A água participa da maioria de processos fisiológicos, o que a torna um dos possíveis fatores envolvidos nos mecanismos deflagadores da dor cefálica (Chabriat et al, 1999). As alterações de volume e de pressão do líquido extracelular e perivascular, detectadas pelos mecanorreceptores (distensão dos vasos), também constituem um importante

estímulo para desencadear respostas neuroendócrinas e comportamentais em relação à dor (Houssay-C, 2004).

Na hipovolemia decorrente de uma hemorragia ou diarreia, por exemplo, a redução do volume plasmático ou da pressão arterial, ativa os osmorreceptores e baroreceptores periféricos. Estas células são sensíveis a alterações na tonicidade do líquido extracelular e transmitem informações ao SNC por vias aferente vagais e glossofaríngea para o núcleo do trato solitário (NTS) e outros neurônios da região ventrolateral do bulbo (VLM) no tronco encefálico, que por sua vez, por meio de vias multissinápticas conectam-se às áreas prosencefálicas e a neurônios magnoceulares hipotalâmicos do SON e principalmente do PVN (Ferguson. & Renaud, 1986), promovendo a indução da sede e a liberação de vasopressina (Cunningham et al., 2004). Além disso, há um aumento da atividade simpática, que é observado pelo aumento da atividade do sistema renina-angiotensina (SRA) responsáveis pela reabsorção tubular renal de sódio (Swanson e Mogenson, 1981).

Os principais estímulos que induzem a produção de renina via renal é a redução da pressão de perfusão da artéria renal, a diminuição do conteúdo de sódio que alcança as células da mácula densa dos rins e a estimulação da inervação simpática renal (Cunningham e Sawchenko, 1991). A renina existe na circulação sanguínea na sua forma inativa (pró-renina), e sua transformação em renina é favorecida pela calicreína renal. Na presença do angiotensinogênio, enzima sintetizada principalmente pelo fígado, a renina é convertida em angiotensina-I, e este, por sua vez, ao passar pelos pulmões é convertida à angiotensina-II (ANG-II) pela enzima conversora de angiotensina (ECA) (Fitzsimons et al, 1998). Os níveis aumentados de ANG-II no plasma promovem uma vasoconstrição periférica e estimula a síntese de aldosterona, que juntamente com a própria ANG-II, reduzem a eliminação de sódio na urina, ajudando a restaurar o volume

e a pressão sanguínea (Houssay-C, 2004). A ANG-II circulante pode ser detectada por neurônios de algumas regiões cerebrais, como o SFO, o OVLT e a AP, desencadeando uma potente resposta comportamental, estimulando a ingestão de água e ao apetite para o sódio, como também induzir a secreção de vasopressina e ocitocina (Zagami, et al., 1990, Cunningham et al, 2004).

Distribuição anatômica dos neurônios osmoreceptores e nociceptores

Os osmoreceptores centrais são neurônios altamente especializados e capazes de traduzir variações da pressão osmótica e das concentrações de íons, carboidratos e proteínas no líquido cefalorraquidiano, osmolalidade liquórica (Weiss, M.L. & Hatton G.L, 1990). Esses sinais elétricos ativam áreas específicas do sistema nervoso central (SNC) envolvidas no controle da percepção da dor (Houssay-D, 2004). Os osmoreceptores estão localizados nos órgãos circunventriculares (CVOs), principalmente no órgão vasculoso da lâmina terminal (OVLT), e em menor proporção no órgão subfornicial (SFO) localizado na região antero-ventral do terceiro ventrículo (AV3V) e, também, na área postrema (AP) do tronco cerebral (Houssay-C, 2004).. Essas estruturas são áreas desprovidas de barreira hematoencefálica, e são capazes de detectar substâncias presentes no líquido extracelular (Weiss, M.L. & Hatton G.L, 1990). A lâmina terminal é uma estrutura do prosencéfalo que contém o SFO, o núcleo mediano pré-óptico (MnPO) e o OVLT, e possuem conexões diretas com o núcleo supra óptico (SON) e com o núcleo paraventricular (PVN) no hipotálamo (Cunningham et al, 2004). O hipotálamo também é a região aonde chegam às vias aferentes da dor (Weiss, M.L. & Hatton G.L, 1990).

A dor é um fenômeno complexo que inclui duas vias aferentes nociceptivas (receptores da dor). A via neoespinalâmica conduz informações sensorio-discriminativa da dor, tais como, ardor, queimação, pontada, localização, intensidade e duração. E a via paleoespinalâmica conduz informação nociceptiva de caráter afetivo-emocional, tais como, a percepção desagradável da dor (Houssay, 2004). As aferências nociceptivas terminam em uma região próxima da região ventrobasilar do tálamo. O córtex cerebral possui neurônios que respondem a dor na área somatosensorial primária (SI) (Houssay, 2004).. A lesão localizada na área SI, em primatas, altera a detecção do estímulo nociceptivo, assim como a discriminação da intensidade. Estudos realizados com tomografia de emissão de pósitrons (PET), no ser humano, mostraram que os estímulos dolorosos ativam a área SI contralateral (Kenshalo e Douglas, 1995).

Fatores deflagadores da dor

Ao analisar outros fatores precipitantes notadamente conhecidos da dor de cabeça, muitos afetam a quantidade total de água do corpo, em sua maior parte pela perda de água, mais por outro lado, também pela retenção de água. O estresse exógeno (e endógeno), considerado como o disparador mais comum da cefaléia, induz uma liberação do hormônio adrenocorticotrófico, ACTH (Gaillard RC, 1987), tendo por resultado a hipersecreção de glicocorticóides que conduzem a um desequilíbrio de diversos processos homeostáticos, incluindo o balanço hídrico. O sono normal está associado com uma redução da excreção urinária do sódio devido a um aumento fisiológico da aldosterona no plasma (Rubin et al, 1978). Enquanto que a sua privação pode aumentar a concentração de aminoácidos (n-acetil-aspartato) presentes na água da

região occipital do córtex cerebral (Urrila et al, 2006). Isto sugere um hipohidratação celular relativa (desidratação neuronal) encontrada no córtex cerebral destas pessoas.

Uma grande ingestão de etanol, em pessoas saudáveis, causa diurese álcool-induzido, que é percebido pela diminuição nos níveis plasmáticos de vasopressina (AVP) e na retenção de água (antidiurese), tendo por resultado alterações da osmolalidade plasmática (Taivainen et al., 1995). Baixas doses de ingestão de álcool induzem aumentos no peptídeo atrial natriurético plasmático (Gianoulakis et al, 1997). Outros disparadores comumente citados, tais como, mudanças do clima e exercícios físicos, estão relacionados claramente à perda de água através da transpiração aumentada, e podem freqüentemente resultar em desidratação (Galloway et al, 1999). Durante o ciclo menstrual há mudanças na osmolalidade do plasma, estando a osmolalidade, significativamente, mais baixas na fase luteal do que na fase folicular (Spruce et al, 1985). Concentrações elevadas de b-estradiol, usado para a contracepção oral, aumentam a osmolalidade do plasma que não é compensada pelas respostas fisiológicas (Stachenfeld et al, 1999). Alguns destes fatores precipitantes podem também provocar as cefaléias tipo tensional (Chabriat et al, 1999), podendo ser interpretados como uma causa da cefaléia. Qualquer que seja o estímulo deflagrador da dor, toda a pessoa é suscetível sofrer um ataque de enxaqueca se o estímulo for intenso o bastante (Blau et al, 1992). A manutenção da homeostase hidro-eletrolítica é essencial para a maioria dos sistemas biológicos, porque funcionam dentro de uma escala estreita de osmolalidade plasmática. Isto é relevante para células como os neurônios, cuja atividade é diretamente dependente de um gradiente iônico transmembranoso (Go, 1997).

Alterações da ingestão de água e a dor

Spigt et al. (2005), observaram o possível efeito do aumento da ingestão de água em pacientes portadores de cefaléia. Ele submeteu dezoito pacientes com cefaléia, separados aleatoriamente, ao efeito de uma medicação placebo. Em seguida, ele aconselhou que os pacientes bebessem adicionalmente 1.5 litros de água por o dia, por um período de 12 semanas. As medidas desse efeito consistiram em um diário de cefaléia de duas semanas. O resultado mostrou que houve redução na intensidade e na duração da cefaléia em uma semana, porém não houve alteração no número de crises. Em roedores, Sagar et al. (1988), demonstraram que quando os animais eram submetidos à privação hídrica por 24 horas ou pela injeção intra-cérebro-vascular com salina hipertônica (concentração de 3%), houve um aumento da expressão da proteína c-Fos, sabidamente, conhecida como um marcador da atividade cerebral, após a estimulação dos neurônios do núcleo paraventricular (PVN) e núcleo supraoptico (SON) do hipotálamo, bem como houve um aumento da liberação de vasopressina (AVP) e occitocina (OT) e estimulação da sede. Ficou evidente, que a estimulação osmótica central gera uma série de respostas neurohormonais para restaurar a osmolalidade do meio interno.

Considerações Finais

Os impactos das mudanças da ingestão de água na intensidade da resposta da dor atuam dentro de um limite fisiológico estreito, que inicialmente podem ser assintomáticos, mas posteriormente podem tornar-se sintomáticos em indivíduos mais suscetíveis. Este pode ser um novo campo para intervenções terapêuticas nos estudos sobre a dor. Porém, há necessidade de mais estudos cientificamente controlados e randomizados tanto em humanos, com em animais de laboratório.

Referências Bibliográficas

Katz J, Melzack R. Measurement of Pain. *Surgical Clinics of North America*. 1999, 79:231-252.

Souza, FA; Silva JA. Mensurando dor. *Revista Dor*. 2005 Out/Nov/Dez 6(4):680-687.

Melzack R. *The Puzzle of Pain*. New York: Penguin; 1973.

Speciali JG; Campos DI & Marchiolo M. Cefaléia na Unidade de Emergência do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto. *Arq de Neuropsiquiatr* 50: 49, 1992. Supl.

Ferri-De-Barros JE & Nitrini R. Que pacientes atende um neurologista? Alicerce de um currículo em Neurologia. *Arq Neuropsiquiatr* 54: 637-644, 1996.

Dubuisson D, Dennis SG. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effectes of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain* 1977; 4(2):161-74.

Hunskar S, Fasmer OB, Hole. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. *J Neurosci Methods* 1985; 14(1):69-76

Alreja M, Mutalik P, Nayar U, Manchanda SK. The formalina test: a tonic pain model in the primate. *Pain* 1984;20(1)97-105

Valença MM, Ferreira AV, Betti KC, Andrade-Valença LPA, Da Silva WF, Bordini CA, Speciali JG, Antunes-Rodrigues J. Um novo modelo experimental de dor cefálica em ratos: evidência de ativação do sistema endógeno de analgesia. *Revista Dor* 2005;6(4):688-695

Valença MM, Dias MH, Araújo MB, Lins Filho RL, Valença LPA. Analgesia induced by immobilization and surgical stress: participation of the endogenous opioid system. *An Fac de Med UFPE* 1999;44:97-102.

Cuter FM, Moskowitz MA. The actions of valproate and neurosteroids in a model of trigeminal pain. *Headache* 1996;36(10)579-85.

Levy MJ, Knight YE, O`Shaughnessy CT, Goadsy PJ. Effect of IL-1beta microinjection into the posterior hypothalamic area on trigeminal nociception in the rat. *J Neural Transm* 2003;110(12):1349-58.

Sanchez-Del-Rio M, Reuter U, Moskowitz MA. New insights into migraine pathophysiology. *Current Opin Neurol*; 19:294–8; 2006.

Goadsby PJ, Edvinsson L, Ekman R. Vasoactive peptide release in the extracerebral circulation of humans during migraine headache. *Ann Neurol*. 28(2):183-7, 1990.

Moskowitz MA, Macfarlane R. Neurovascular and molecular mechanisms in migraine headaches. *Cerebrovasc Brain Metab Rev* 5(3):159-77, 1993.

Limmroth V, Cutrer FM, Moskowitz MA. Neurotransmitters And Neuropeptides In Headache. *Curr Opin Neurol*;9:206-210, 1996.

Buzzi MG, Moskowitz MA. The Trigemino-Vascular System And Migraine. *Pathol Biol*;40:313-317, 1992.

Ebersberger A, Schaible Hg, Averbeck B, Richter F. Is there a correlation between spreading depression, neurogenic inflammation, and nociception that might cause migraine headache? *Ann Neurol* 49(1):7-13, 2001.

Urrila AS, Hakkarainen A, Heikkinen S, Huhdankoski O, Kuusi T, Stenberg D et al. Preliminary findings of proton magnetic resonance spectroscopy in occipital cortex during sleep deprivation. *Psychiatry Res* 2006; 147:41–6.

Headache Classification Subcommittee of the International Headache Society. The International Classification of Headache Disorders. *Cephalalgia* 2004; 24 Suppl. 1:1–151.

Blau JN, Kell CA, Sperling JM. Water deprivation headache: a new headache with two variants. *Headache*;44:79–83; 2004.

Blau JN. Water deprivation: a new migraine precipitant. *Headache*; 45:757–9; 2005.

Bhatia, MS, Gupta R, Srivastava, S. Migraine associated with water deprivation and progressive myopia. *Cephalalgia*, 26, 758–760, 2006.

Kullmann DM. The neuronal channelopathies. *Brain*; 125:1177–95; 2002.

Graham JR & Wolff HG. Mechanism of migraine headache and action of ergotamine tartrate. *Arch Neurol Psychiatr* 39: 737-748, 1938.

Sicuteri F. Prophylactic and Therapeutic propeptics of 1-methyllysergic acid butanolamide in migraine Int. *Arch Allergy* 15: 300-307, 1959.

Kimball RW; Friedman AP & Vallejo E. Effect of serotonin in migraine patients. *Neurology* 10: 107-111, 1960.

Davies, PF. Flow-mediated endothelial mechanotransduction. *Physiol. Rev* 75:519-560, 1995.

Houssay, A.B, Cingolani, H.E. Fisiologia Humana. In:___ Função Endotelial, , 7° ed. Porto Alegre: Artemed, 2004, cap. 23 p. 282-289.(Parte-A)

Houssay, A.B, Cingolani, H.E. Fisiologia Humana. In:___ Metabolismo e Endocrinologia, 7° ed. Porto Alegre: Artemed, 2004, cap. 51 p. 656-669.(Parte-B)

Houssay, A.B, Cingolani, H.E. Fisiologia Humana. In:___ Rim e eletrólitos, 7° ed. Porto Alegre: Artemed, 2004, cap. 38 e 39, p. 452-502.(Parte-C)

Houssay, A.B, Cingolani, H.E. Fisiologia Humana. In:___ Fisiologia da dor, 7° ed. Porto Alegre: Artemed, 2004, cap. 63, p. 842-853.(Parte-D)

Ferguson. A.V. & Renaud, L.P. Systemicangiotensin acts at subfornical organ to facilitate activity of neurohypophysial neurons. *Am. J. Physiol.*, 251(4 Pt 2): R712-717, 1986.

Fitzsimons, J.T. Angiotensin, thirst and sodium appetite. *Physiol. Rev.*, 78(3): 583-686, 1998.

Cunningham, J.T.; Penny, M.L. and Murphy, D. Cardiovascular regulation of supraoptic neurons in the rat: synaptic inputs and cellular signals. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 84(2-3): 183-196, 2004.

Zagami, A.S, Goadsby, P.J, Edvinsson L. Stimulation of the sagittal sinus in the cat causes releases of vasoactives peptides. *Neurology*, 16(2):69-75, 1990.

Nielsen, S.; Chou, C.L.; Marples, D.; Christensen, E.I.; Kishore, B.K. and Knepper, M.A. Vasopressin increases water permeability of kidney collecting duct by inducing translocation of aquaporin-CD water channels to plasma membrane. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92: 1013-1017, 1995.

Chabriat H, Danchot J, Michel P, Joire JE, Henry P. Precipitating factors of headache. A prospective study in a national control-matched survey in migraineurs and nonmigraineurs. *Headache*; 39:335–8, 1999.

Weiss, M.L. & Hatton G.L. Collateral input to the paraventricular and supraoptic nuclei in rat: I. Afferents from the subfornical organ and the anteroventral third ventricle region. *Brain Res. Bull.*, 24: 231-238, 1990.

Kenshalo, DR. and Douglas, DK. The role of the cerebral cortex in the experience of pain. In Bromm, B and Desmidt, JE. (eds.): *Pain and the brain: From noiception to cognition*. Raven Press, 1995 pp. 21-34.

Gaillard RC, Al-Damluji S. Stress and the pituitary–adrenal axis. *Baillieres Clin Endocrinol Metab*;1:319–54; 1987

Rubin RT, Poland RE, Gouin PR, Tower BB. Secretion of hormones influencing water balance (antidiuretic hormone, aldosterone, prolactin) during sleep in normal adult men. *Psychosom Med*; 40:44–59; 1978

Taivainen H, Laitinen K, Tähtelä R, Kiianmaa K, Välimäki MJ. Role of plasma vasopressin in changes of water balance accompanying acute alcohol intoxication. *Alcoholism: Clin Exp Res*; 19:759; 1995

Gianoulakis C, Guillaume P, Thavundayil J, Gutkowska J. Increased plasma atrial natriuretic peptide after ingestion of low doses of ethanol in humans. *Alcohol Clin Exp Res*; 21:162–70; 1997

Galloway SD. Dehydration, rehydration and exercise in the heat: rehydration strategies for athletic competition. *Can J Appl Physiol*; 24:188–200, 1999

Spruce BA, Baylis PH, Burd J, Watson MJ. Variation in osmoregulation of arginine vasopressin during the human menstrual cycle. *Clin Endocrinol (Oxf)*; 22:37–42, 1985

Stachenfeld NS, Silva C, Keefe DL, Kokoszka CA, Nadel ER. Effects of oral contraceptives on body fluid regulation. *J Appl Physiol*; 87:1016–25, 1999

Go GK. The normal and pathological physiology of brain water. *Adv Tech Stand Neurosurg* 1997; 23:47–142.

Spigt MG, Kuijper EC, Schayck CP, Troost J, Knipschild PG, Linssen VM, Knottnerus JA. Increasing the daily water intake for the prophylactic treatment of headache: a pilot trial. *Eur J Neurol. Sep*;12(9):715-8, 2005.

Sagar, S.M.; Sharp F.R and Curran T. Expression of c-fos protein in brain: metabolic mapping at the cellular level. *Science*, 240: 1328-1331, 1988.

Swanson, L.W. & Mogenson, G.J. Neural mechanisms for the functional coupling of autonomic, endocrine and somatomotor responses in adaptive behavior. *Brain Res. Rev.*, 3: 1-34, 1981.

Cunningham, J.T.; Penny, M.L. And Murphy, D. Cardiovascular regulation of supraoptic neurons in the rat: synaptic inputs and cellular signals. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 84(2-3): 183-196, 2004.

Cunningham, E.T. & Sawchenko, P.E. Reflex control of magnocellular vasopressin and oxytocin secretion. *Trends Neurosci.* 14(9): 406-411, 1991.

Weiss, M.L. & Hatton G.L. Collateral input to the paraventricular and supraoptic nuclei in rat: I. Afferents from the subfornical organ and the anteroventral third ventricle region. *Brain Res. Bull.*, 24: 231-238, 1990.

Artigo Original - Short Report

Privação hídrica está associada ao aumento da resposta da dor na região cefálica em ratos

Water-deprivation is relate with increase of head pain in rats

Galvao, AM⁽¹⁾, Ferreira F⁽²⁾, Amorim AF⁽³⁾, Chaves C⁽⁴⁾, Valença, MM⁽⁵⁾
Núcleo de Cirurgia Experimental, Centro de Ciências da Saúde, UFPE, Recife-PE,
Brasil

¹Mestrando em Ciências Biológicas, neurofisiologia e química para a saúde, Centro de Ciências de Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, ²Professor Dr. Associado do Departamento de Fisiologia Universidade Federal de Pernambuco, ³Médica Veterinária do Núcleo de Cirurgia Experimental da Universidade Federal de Pernambuco, ⁴Professora Dra. Associado do Departamento de Fisiologia Universidade Federal de Pernambuco, ⁵Professor Dr. Associado do Departamento de Neurologia da Universidade Federal de Pernambuco.

Endereço para correspondência: André Martins Galvão, Rua das Graças, n° 377, apt 204, Graças, Recife/PE, Brasil, CEP 52011-200, e-mail: andremgalvao@yahoo.com.br / andremgalvao@hotmail.com

Palavras-chave: privação hídrica, dor cefálica, modelos experimentais.

Keywords: water-deprivation, headache, experimental models.

* Artigo Original a ser submetido para publicação e formatado de acordo com as normas da Revista Cephalagia.

Resumo

Fundamento: Os modelos experimentais para avaliação e mensuração da dor, em animais de laboratório, envolvem preparações cruentas, tais como, a injeção intracisternal de substâncias irritantes ou microinjeções de fármacos nas regiões intracerebrais. No estudo da dor, há a necessidade do animal permanecer consciente, pois é através das alterações no comportamento do animal que a intensidade da dor é avaliada. O modelo desenvolvido por Valença et al. consiste em um método, cujas vantagens são a simplicidade e a utilização de animais não anestesiados e que se movimentam livremente. Este método permite observar as várias mudanças no comportamento do roedor, de maneira que a intensidade da dor cefálica possa ser mensurada. Esse modelo é uma adaptação do uso da formalina (indutor nociceptivo) na região do segmento cefálico do animal. **Objetivos:** O objetivo deste trabalho foi avaliar a modificação do padrão comportamental do animal após o uso dos testes de injeção de formalina e de retirada da cauda imersa em água aquecida, após permanecerem privados de água (desidratados). Um segundo objetivo foi analisar as alterações eletrolíticas e bioquímicas durante o período em que os animais permaneceram desidratados. **Métodos:** Para a primeira fase do experimento, soluções de formalina foram injetadas na região frontal subcutânea dos animais. Em seguida, analisamos as alterações do comportamento do animal, em consequência da presença de dor na região cefálica, tais como coçar a cabeça, balançar a cabeça, vocalização e agitação. Na segunda fase do experimento, o método escolhido para avaliar o limiar de resposta a dor foi o teste de retirada da cauda após ser aplicado um estímulo térmico nociceptivo. Neste procedimento foi observada a resposta de retirada da cauda do animal quando imersa em um recipiente com água, cuja temperatura era mantida continuamente a 50°C (celcius). **Resultados:** Evidenciamos um aumento da alteração comportamental em resposta a dor (número de vezes que o animal coça a cabeça – CC/minuto) mais acentuada nos animais desidratados em relação ao outro (CC/min = 73.02 ± 8.73 , n = 12 vs 27.43 ± 2.19 , n = 12). Na segunda fase do experimento verificamos que o período de latência da dor tinha sido reduzido no grupo desidratado (Tempo de latência (s) = 1.32 ± 0.1 , n = 12 vs 3.65 ± 0.12 , n = 12). Além disso, observamos que no grupo de animais desidratado a hemoconcentração (Ht = $50,83 \pm 1,31$ vs $32,75 \pm 3,08$, Hb = $13,53 \pm 0,5$ vs $10,08 \pm 0,9$) e a osmolalidade ($[Na^+] = 172,41 \pm 10,8$ vs $147,91 \pm 8,43$; $[K^+] = 5,77 \pm 0,2$ vs $5,21 \pm 0,55$; $[Ca^{++}] = 11,8 \pm 0,59$ vs $12,1 \pm 0,6$) interferiram no comportamento da dor animal. **Conclusão:** Os nossos resultados evidenciam que privação hídrica (desidratação) em animais de laboratório induziram alterações na hemoconcentração e na osmolalidade plasmática e estas podem estar associadas as alterações comportamentais da resposta da dor cefálica, bem como redução do período de latência da dor.

Palavras-chave: privação hídrica, dor cefálica, modelos experimentais.

Abstract

Background: The experimental models for evaluation and to measure pain, in laboratory animals, involve painful preparations, such as, the intracisternal irritating substance injection or microinjections of medicins intracerebral. In the study of pain, has the necessity of the animal to remain consciencious, therefore it is through the alterations in the behavior of the animal that the intensity of pain was evaluated. The model developed by Valença et al., compared with the previous models, consists of a method, whose advantages are the simplicity and the use of animals not anesthiesiate and that they are put into motion freely. This method allows to observe the some changes in the behavior of the rodent, thus the intensity of headache pain can be measure. This model is an adaptation of the use of the formalin test in the region of the head segment of the animal. **Objectives:** The objective of this study was evaluate the modification of the behavior of the animal after the use of the formalin test and withdrawal of the tail after to remain private of water (dehydrated). As an objective one was to analyze the electrolytic alterations and biochemists during the period where the animals had remained dehydrated. **Methods:** For the first phase of the experiment, formalin solutions had been injected in the subcutaneous region frontal of the animals. We analyze the alterations of the behavior of the animal, in consequence of the presence of pain in the head region, such as to beat the head, to balance the head, vocalization and agitation. In the second phase of the experiment, the chosen method to evaluate the reply threshold pain was the test of withdrawal of the tail after to be applied a nociceptive thermal stimulation. In this protocol the reply of withdrawal of the tail of the when immersed animal in a container with water was observed, whose temperature was kept continuously 50°C (celcius) during some hours. **Results:** We evidence an increase of the measure alteration (number of times that the animal beat the head - CC/minute) accented in the animals dehydrated in relation to the other (CC/min = $73.02 \pm 8,73$. n = 12 versus $27.43 \pm 2,19$. n = 12). In the second phase of the experiment of the experiment we verify that the period of latency of pain had been reduced in the dehydrated group (Time of latency (s) = $1.32 \pm 0,1$ n = 12 versus $3.65 \pm 0,12$ n = 12). Moreover, we observe that in the group of animals dehydrated the hemoconcentration (Ht = $50,83 \pm 1,31$ versus $32,75 \pm 3,08$. Hb = $13,53 \pm 0,5$ versus $10,08 \pm 0,9$) and the hiperosmolality ([Na⁺] = $172,41 \pm 10,8$ versus $147,91 \pm 8,43$; [K⁺] = $5,77 \pm 0,2$ versus $5,21 \pm 0,55$; [Ca⁺⁺] = $11,8 \pm 0,59$ versus $12,1 \pm 0,6$) they had intervned with the behavior of the one of animal pain. **Conclusion:** Our results evidence that the induced hemoconcentration and hiperosmolality for the water deprivation (dehydration) in laboratory animals had provoked measure alterations of the reply of head pain (algesy), as well as reduction of the period of latency of pain (endogenous analgesy).

Keywords: water-deprivation, headache, experimental models.

Introdução

Os modelos experimentais para avaliação e mensuração dor, em animais de laboratório, envolvem preparações cruentas, tais como, a injeção intracisternal de substâncias irritantes ou microinjeções de fármacos intracerebrais. ⁽¹⁾ No estudo da dor, há a necessidade do animal permanecer consciente, pois é através das alterações no comportamento do animal que a intensidade da dor é avaliada. Em seres humanos, os estudos têm demonstrado que durante o surgimento da dor, na região cefálica, há alterações do fluxo sanguíneo cerebral. Isso inclui os trabalhos de Woods et al ⁽²⁾ e de Weiller et al ⁽³⁾, nos quais demonstraram, pela primeira vez, a provável existência de uma área responsável pela percepção da dor, no tronco cerebral. Flippen & Welch ⁽⁴⁾, através da ressonância magnética, evidenciaram alterações específicas no cérebro de pessoas que sofriam de enxaqueca. Isto foi confirmado posteriormente com outras técnicas de imagem cerebral. ⁽⁵⁾

Akermam e Goadsby ⁽⁶⁾ através da canulação microscópica, das artérias meningeais de ratos, desenvolveram um modelo para estudar alterações nas pressões arteriais envolvendo os vasos das meninges. Moskowitz et al. ⁽⁷⁾ ao estimularem o nervo trigêmeo (V par craniano) induziram vasodilatação e extravasamento de plasma, com liberação de substâncias vasoativas no cérebro (Neurocinina A, Substância P o Peptídeo Relacionado ao Gene da Calcitonina, CGRP). O CGRP e a SP podem ser considerados “marcadores” da atividade trigeminal e sua detecção indica a ativação do sistema trigemiovascular. ⁽⁸⁾

O modelo desenvolvido por Valença et al. ⁽⁹⁾, comparado com os modelos anteriores, consiste em um método, cujas vantagens são a simplicidade e a utilização de

animais não anestesiados e que se movimentam livremente. Este método permite observar as várias mudanças no comportamento do roedor, de maneira que a intensidade da dor cefálica possa ser mensurada. Esse modelo é uma adaptação do uso da formalina (indutor nociceptivo) na região do segmento cefálico do animal. A formalina, como agente irritante, estimula diretamente receptores nociceptivos do nervo trigêmio, além de desencadear um processo inflamatório local. A modificação do padrão comportamental do animal induzida pela formalina está relacionada com a dor (algesia) sentida na cabeça do roedor. Outro teste utilizado por Valença é o teste de retirada da cauda do animal (tail flick response test). Este por sua vez, diferentemente do teste de formalina é utilizado para quantificar o grau de analgesia, induzida pela liberação de opióides endógenos.⁽¹⁰⁾

Animais privados, durante vinte e quatro horas, de ingerirem água demonstraram um aumento da expressão da proteína c-Fos (marcador da atividade neuronal) nos neurônios do núcleo paraventricular (PVN) e núcleo supraóptico (SON) do hipotálamo.⁽¹¹⁾ Além disso, houve um aumento da liberação de vasopressina (AVP) e ocitocina (OT), neuropeptídeo que também participa na resposta da analgesia endógena. Estes achados evidenciam que a estimulação osmótica central gera uma série de respostas neurohormonais que podem influenciar no comportamento da dor.⁽¹¹⁾ Ao analisar este e outros fatores notadamente conhecidos pela deflagração da dor de cabeça, as alterações da quantidade total de água do corpo, através da perda de água ou pela retenção de água, podem influenciar nas respostas de algesia (percepção da dor) e analgesia (alteração do sistema opióide endógeno).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a modificação do padrão comportamental da dor após o uso dos testes de formalina e de retirada da cauda, em roedores privados de água (desidratados). Um segundo objetivo foi analisar as alterações

eletrolíticas e bioquímicas durante o período em que os animais permaneceram desidratados.

Método

População

Nos experimentos foram usados ratos wistar, adultos, machos, com 350-380 g de peso corporal do Biotério do Núcleo de Cirurgia Experimental da UFPE. O experimento foi conduzido conforme normas do COBEA (Colégio Brasileiro de Ética em Experimentação Animal) e sobre a orientação do Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da UFPE (Protocolo número: 23076.003243/2006-15).

Desenho do estudo

Foram avaliados dois grupos de animais, avaliados em dois momentos:

1. Grupo NH (normohidratado) – no qual foi injetado formalina (concentração de 2,5%, n = 12) na região frontal subcutânea;
2. Grupo D (desidratado por 24 horas) – no qual foi injetado formalina (concentração de 2,5%, n = 12) na região frontal subcutânea.

Para a primeira fase do experimento, soluções de formalina foram injetadas na região frontal subcutânea dos animais. Analisamos as alterações do comportamento do animal em resposta da presença de dor na região cefálica, tais como coçar a cabeça, balançar a cabeça, vocalização e agitação. Esses animais foram acompanhados por uma hora. Após a injeção, os resultados foram quantificados como o número de vezes que o animal coçou a cabeça (CC) / pelo tempo de observação. Pretendíamos analisar a dor

cefálica produzida pela formalina e saber qual o efeito que a privação de água exerceria entre os grupos (**Figura 1**).



Figura 1. Teste de formalina em ratos e da resposta comportamental da dor apresentada pelo animal (direita e esquerda).

Na segunda fase do experimento, o teste de retirada da cauda foi o método escolhido para avaliar o limiar de resposta a dor, após ser aplicado um estímulo térmico nociceptivo na cauda do rato. Neste procedimento foi observada a resposta de retirada da cauda do animal quando imersa em um recipiente com água, cuja temperatura era mantida continuamente a 50°C (celcius). A técnica consistia na imersão da cauda do rato e cronometrar o tempo de permanência dentro da água até ser observada a elevação da cauda fora da água. Por motivo de segurança do animal, o teste da cauda era interrompido no caso do tempo ultrapassar mais de 20 segundos. Comparamos nessa segunda fase o tempo de latência da retirada da cauda imergida em água aquecida a 50°C, no grupo que recebeu permaneceu privado de água e no grupo que recebeu água livre (**Figura 2**). Durante os testes seguimos as recomendações da International Association for the Study of Pain.⁽¹²⁾

Variáveis analisadas

Avaliação da algesia e analgesia endógena

1. Número de vezes que o animal coça a região frontal da cabeça no intervalo de tempo (CC/minutos)
2. Tempo de retirada da cauda após imersão em água aquecida (Tempo de latência – segundos).

Avaliação das alterações da osmolalidade plasmática induzidos pela privação hídrica

1. Concentração plasmática de sódio (mmMol/L), potássio (mmMol/L), cálcio (mmMol/L), bicarbonato (HCO_3^- mmMol/L), Hematócrito (Ht %), e Hemoglobina (Hb).



Figura 2. Teste imersão da cauda em ratos e o monitoramento contínuo da temperatura da água (direita e esquerda).

Bioquímica sanguínea

Os ratos foram submetidos à coleta de amostras de 0.5 mL de sangue venoso na região periorbital do globo ocular e pericárdica. Em seguida, o material foi levado ao gasometro e todos os valores dos eletrólitos e bioquímicos foram processados. Os animais foram submetidos à eutanásia com uma mistura de 50% de Cloridrato de Xelasina (50mg/100mL) e 50% de Cloridrato de Ketamina (2g/100mL), além de uma overdose de Pentobarbital intraperitoneal.

Análise estatística

Os dados são apresentados como média \pm erro padrão. Na avaliação das diferenças estatísticas utilizou-se o teste *t* não pareado, para as amostras homogêneas, e o teste de Mann-Whitney, para as amostras não homogêneas. Foi considerada uma diferença significativa do ponto de vista estatístico quando o $p < 0.05$.

Resultados

Análise do nível de desidratação e as alterações eletrolíticas induzidas pela privação hídrica durante o período de 24 horas

A desidratação induzida pela restrição da oferta hídrica foi avaliada pelas alterações nos níveis do hematócrito e hemoglobina (hemoconcentração). As alterações da osmolalidade plasmática (hiperosmolalidade) foram avaliadas através das concentrações plasmáticas de sódio, potássio, cálcio (Ca^{++}), bicarbonato (HCO_3^-), Glicose e Lactato. Os níveis de Cloreto (Cl^-), proteínas e outros solutos encontrados no plasma não foram aferidos. Ao correlacionarmos os valores das concentrações plasmáticas dos íons sódio e potássio com a resposta comportamental da dor (CCP/min)

encontrada nos animais desidratados, evidenciamos uma tendência positiva, ou seja, quanto maior foi a concentração dos íons sódio ($R_{\text{pearson}} > 0,3$) e potássio ($R_{\text{pearson}} > 0,4$) no plasma, maior era a resposta comportamental da dor apresentada pelo animal (**Gráficos 1 e 2**). Essa correlação não foi evidenciada nos outros íons e solutos aferidos.

A **tabela 1** ilustra os valores referenciais e os valores médios dos eletrólitos ($[\text{Na}^+] = 172,41 \pm 10,8$ vs $147,91 \pm 8,43$; $[\text{K}^+] = 5,77 \pm 0,2$ vs $5,21 \pm 0,55$; $[\text{Ca}^{++}] = 11,8 \pm 0,59$ vs $12,1 \pm 0,6$) e bioquímicos (Ht = $50,83 \pm 1,31$ vs $32,75 \pm 3,08$, Hb = $13,53 \pm 0,5$ vs $10,08 \pm 0,9$) encontrados nos grupos. Nos ratos desidratados os valores médios da concentração plasmática de sódio, potássio, hematócrito e hemoglobina foram significativamente maiores que no grupo que recebeu água livre. Estes resultados mostraram que no grupo privado, durante o período de vinte e quatro horas, houve hemoconcentração, com um aumento relativo de cinquenta e cinco por cento, 55% do hematócrito, e aumento da osmolalidade de aproximadamente de dezesseis por cento, 16%, porém não houve diferenças significativas na glicemia e não houve alterações significativas no PH sanguíneo (acidose ou alcalose).

Avaliação da resposta da dor (algesia)

Na primeira fase do experimento comparamos o comportamento dos ratos que receberam formilina estando privados de água (desidratado) com os que receberam água livre. Evidenciamos um aumento da resposta comportamental da dor (número de vezes que o animal coça a cabeça – CCP/minuto) nos animais desidratados em relação ao grupo normohidratado de aproximadamente cento e sessenta e seis por cento, 166% (CCP/min = 73.02 ± 8.73 , n = 12 vs 27.43 ± 2.19 , n = 12).(**Gráfico 3**)

Avaliação da resposta da latência da dor (analgesia)

Na segunda fase do experimento verificamos que o período de latência da dor tinha sido reduzida no grupo desidratado (Tempo de latência (s) = 1.32 ± 0.1 , n = 12 vs 3.65 ± 0.12 , n = 12). (**Gráfico 4**)

Discussão

O presente estudo evidencia que a desidratação induziu uma hemoconcentração (aumento do hematócrito e da hemoglobina) e uma hiperosmolalidade plasmática (aumento das concentrações de sódio e potássio), ver tabela-1, sendo responsável pelas alterações comportamentais da resposta da dor. Comparativamente, estas alterações, também, poderiam estar envolvidas com surgimento de dor de cabeça ou enxaqueca em pessoas mais susceptíveis.^(47, 48, 49) Os osmorreceptores centrais são neurônios altamente especializados e capazes de traduzir variações da pressão osmótica e das concentrações de íons, carboidratos e proteínas no líquido cefalorraquidiano (osmolalidade líquórica). Essas estruturas são áreas desprovidas de barreira hematoencefálica, e são capazes de detectar substâncias presentes no líquido extracelular. Além disso, as conexões neuronais dos osmorreceptores convergem para áreas hipotalâmicas próximas das regiões na qual também convergem as vias aferentes da dor.⁽¹⁶⁾

Nossos resultados sugerem que a privação hídrica por um período de vinte quatro horas está relacionada com o aumento da resposta dolorosa refletida no comportamento de ratos. Valença et al. comparam o efeito de solução salina (controle) com o efeito da formalina na região cefálica de ratos. Os seus resultados evidenciaram que a dor apresentava manifestações distintas: (a) um pico de atividade nos primeiros dez minutos (período fásico da dor) e outro pico de atividade entre o décimo primeiro (11) e o quinquagésimo (50) minuto (período tônico da dor). Essa mesma resposta foi

analisada após as injeções intraperitoneais de ácido acetil salicílico, AAS, e os resultados demonstraram que injeções, no mesmo local, de solução salina não alteram o comportamento da dor. ⁽⁹⁾ Nossos resultados corroboram, com os achados de Valença et al. ⁽⁹⁾, sugerindo que a presença de dor na cabeça alteraria áreas do sistema nervoso central (SNC) relacionados com a indução de mecanismos de algesia e analgesia endógenos. ⁽⁵¹⁾ Além disso, nossos resultados sugerem que estes mecanismos podem sofrer influência direta dos níveis de osmolalidade e hemoconcentração. ^(52, 53, 54)

A resposta potencializadora da dor provocada pela desidratação pode ser responsável pela alteração do padrão de analgesia encontrado. Vários são os mecanismos envolvidos na analgesia, entre eles encontramos a ocitocina, os opióides endógenos e a melatonina. ⁽¹⁰⁾ A beta-endorfina parece ser o principal neuropeptídeo envolvido com atividade analgésica, sendo 48 vezes mais potente do que a própria morfina, quando injetada intracerebralmente. ⁽⁵⁵⁾ Os neurônios produtores de beta-endorfina, localizadas no núcleo arqueado ou infundibular, projetam seus axônios rostralmente para a região periventricular e núcleos paraventriculares. ^(56, 57) A região da substância cinzenta periaquedutal apresenta uma concentração de beta-endorfina consideravelmente elevada (maior que 4 ng/mg de proteína) quando comparada com o das outras regiões extra-hipotalâmicas, as quais foram sempre inferiores a 1 ng/mg de proteína. ⁽¹⁰⁾

Na década de 70, foi descrito que diferentes estímulos poderiam levar a uma analgesia importante, tais como choques elétricos nas patas dos animais, rotação centrífuga e injeção intraperitoneal de salina hipertônica. ⁽¹³⁾ Por outro lado, algumas condições estressantes clássicas, como o vapor de éter e a oscilação horizontal, não produzem analgesia. Indicando que a exposição a uma situação de estresse por si só não seria suficiente para se desenvolver uma condição de analgesia. ⁽⁹⁾ Além disso, foi

também observado que muitos destes estresses que provocavam analgesia não eram influenciados pelo tratamento com o antagonista opiáceo naloxona, sugerindo a participação de sistemas não-opioides. Tem sido demonstrado que estimulação elétrica de áreas específicas do cérebro resulta em analgesia.⁽¹⁴⁾ Como também microinjeções de morfina em muitas áreas do SNC, particularmente na área da substância cinzenta pariaquedutal, levam a profunda analgesia. A analgesia decorrente de estimulação elétrica produz aumentos nos níveis de encefalina e beta-endorfina no líquido cerebrospinal (LCR).⁽¹⁵⁾ Estes opioides endógenos encontram-se elevados em portadores de câncer, situação de sofrimento e estresse.⁽¹⁰⁾ O sistema neural endógeno também pode ser recrutado inconscientemente, isto ocorre nos casos de analgesia de pacientes submetidos ao uso de placebo.⁽¹⁵⁾

O papel do occitocina no controle endógeno da dor não está completamente elucidado.^(24, 25) Alguns estudos avaliaram os efeitos da occitocina e dos seus antagonistas na resposta nociceptiva, usando modelos animais distintos, tais como rato e cão.⁽¹²⁾ Em seres humanos, há alguns estudos que sugerem que a occitocina possui propriedades analgésicas^(26, 27, 28, 29), visto que outros não demonstraram a analgesia induzida por este nonapeptídeo.^(30, 31, 32) Se o occitocina aumenta o ponto inicial da dor durante toda a ativação dos neurônios do sistema opióide endógeno é também uma controvérsia.

Lins et al.⁽³³⁾ demonstraram que a occitocina causa analgesia nos ratos, e este efeito foi abolido com naloxone, que é um bloqueador do receptor opióide. A analgesia foi avaliada usando o teste da imersão da cauda (tail flick response test) e a duração média do tempo (s) de latência observada em animais do grupo controle (n = 80) foi de $4,8 \pm 0,2$ segundos (100%, variando de 2 a 12 segundos). Após a administração intraperitoneal de occitocina (1 mg.kg⁻¹; 0.2 ml) era evidente que 10 minutos após a

administração o tempo de latência tinha ultrapassado os 20 segundos ($p < 0,05$). Nenhuma diferença significativa foi detectada após 75 minutos da injeção de occitocina na analgesia. Por outro lado, o bloqueio dos receptores opióides realizado pelo naloxone cancelou completamente a resposta induzida pela occitocina no tempo de latência da dor, observada durante o teste de retirada da cauda. Isto indica que a occitocina causa analgesia com a participação de opióides endógenos. ⁽³³⁾

Além dessa evidência, outro estudo mostra que submetendo roedores ao estresse de imobilização era possível avaliar os efeitos sobre a analgesia após a administração da occitocina e do naloxone. ⁽³²⁾ A analgesia induzida pela imobilização foi amplificada pela administração da occitocina, que se tornou estatisticamente significativa em quarenta minutos. ⁽¹⁰⁾ Nos seres humanos, a dor lombar, aguda e crônica, causa um aumento significativo da concentração da occitocina dentro do líquido cerebrospinal e do plasma. ⁽²⁵⁾ A occitocina administrada sistemicamente não penetra no líquido cerebrospinal ou no cérebro. Em porcos, somente dois a três por cento da occitocina administrada intraperitonealmente foram detectados no cérebro. ⁽³⁴⁾ Porém, sob uma condição de estresse ou após a injeção de epinefrina há uma permeabilidade aumentada da barreira hematoencefálica aos peptídeos. ⁽³⁵⁾

O possível papel do AVP na patogênese da dor cefálica durante a crise de enxaqueca foi questionado por vários autores. ^(36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44) Os resultados sugerem que o AVP não tem um papel na etiologia da dor da enxaqueca. Porém, há a possibilidade de que durante ataques severos de náusea haja a liberação do AVP, que pode ser responsável pela a antidiurese e as anormalidades da coagulação (hemoconcentração e predisposição a formação de trombos) observada ocasionalmente na enxaqueca. ⁽⁴⁵⁾

Todavia, em 153 pacientes com diferentes em crise de enxaqueca, a dor foi reduzida em intensidade e duração em 87% dos casos e também o estado do psicoemocional e capacidade de funcional melhorou, após a administração de vasopressina. ⁽³⁸⁾ A eficácia terapêutica do vasopressina, e a simplicidade de sua administração sem efeitos colaterais e complicações permitiram que se recomendassem as drogas nos pacientes enxaquecosos, especialmente durante os ataques.⁽³⁸⁾

Spigt et al. ⁽⁴⁶⁾, observaram o possível efeito do aumento da ingestão de água em pacientes portadores de cefaléia. Ele submeteu dezoito pacientes com cefaléia, separados aleatoriamente, ao efeito de uma medicação placebo. Em seguida, ele aconselhou que os pacientes bebessem adicionalmente 1.5 litros de água por o dia, por um período de 12 semanas. As medidas desse efeito consistiram em um diário de cefaléia de duas semanas. O resultado mostrou que houve redução na intensidade e na duração da cefaléia em uma semana, porém não houve alteração no número de crises. Em roedores, Sagar et al. (1988), demonstraram que quando os animais eram submetidos à privação hídrica por 24 horas ou pela injeção intra-cérebro-vascular com salina hipertônica (concentração de 3%), houve um aumento da expressão da proteína c-Fos, sabidamente, conhecida como um marcador da atividade cerebral, após a estimulação dos neurônios do núcleo paraventricular (PVN) e núcleo supraoptico (SON) do hipotálamo, bem como houve um aumento da liberação de vasopressina (AVP) e occitocina (OT) e estimulação da sede. Ficou evidente, que a estimulação osmótica central gera uma série de respostas neurohormonais para restaurar a osmolalidade do meio interno.

Guedes et al., analisaram os efeitos das alterações na composição iônica no meio interno sobre a depressão alastrante de Leão.⁽¹⁷⁾ A depressão alastrante da atividade elétrica cortical também é um modelo experimental utilizado para avaliar o

comportamento da dor em animais e foi definida pela primeira vez por Aristide Leão em 1944.⁽¹⁸⁾ Em suas observações, em coelhos anestesiados, constatou que estímulos elétricos e mecânicos, aplicados diretamente, à superfície cortical exposta, eram logo seguidos por uma depressão, intensa e duradoura, da atividade do eletrograma no local estimulado. A depressão permanecia por 1 a 2 minutos ao fim dos quais os primeiros sinais de recuperação começam a aparecer. Decorridos vinte minutos, a atividade elétrica inicial era estabelecida.

Outras manifestações concomitantes a depressão da atividade elétrica é a reação que ocorre nos vasos da pia-mater.⁽¹⁹⁾ Em coelhos, há vasodilatação arterial que pode ser observada mesmo sem o auxílio de lentes. Nas veias, examinadas ao microscópio, vê-se que há aumento da circulação sanguínea e o aumento da oxigenação local torna o sangue com coloração semelhante ao do sangue arterial. Em outra espécie, como a cobaia, a vasodilatação arterial pode ser seguida por um breve período de vasoconstricção, ao longo da experiência. A diminuição da pressão parcial de oxigênio foi observada durante a depressão alastrante.⁽²⁰⁾ Essa diminuição tem sido interpretada como decorrente do maior consumo de oxigênio e é coerente com os resultados experimentais que revelaram aumento de ácido láctico e diminuição de glicose e fosfocreatina no tecido cortical.⁽²¹⁾ Burns & Grafstein baseados no fato de que a aplicação tópica de cloreto de potássio também deflagrava a depressão alastrante, postularam a hipótese de que o íon seria o responsável pela propagação.^(22, 23) Em síntese, o potássio inicialmente liberado no espaço interneuronal durante intensa atividade neuronal, despolariza neurônios adjacentes; estes por sua vez, liberando potássio, acarretariam excitação de neurônios contíguos e assim sucessivamente, promovendo o alastramento da reação em regiões cada vez mais distante do local de origem.

Resultados de experiências de outros autores, entretanto, mostraram que o ácido glutâmico, e outras substâncias, topicamente aplicadas à superfície cortical, não deflagram por si só a depressão alastrante.⁽¹⁷⁾ Os diversos mamíferos utilizados para o estudo da depressão alastrante não são igualmente vulneráveis a reação, como ocorre em ratos e coelhos que são animais lisencéfalos. Ocasionalmente, há animais girencéfalos (gato e macaco reso) em que o fenômeno se apresenta imediatamente após a exposição do tecido cortical. Ao analisar as alterações iônicas sobre o fenômeno da depressão alastrante, Guedes et al. submeteram um grupo de coelhos a diálise peritoneal durante intervalos de duas horas, induzindo alterações nos íons sódio, potássio e cloro. Nos animais não-dialisados, eles observaram que a concentração do íon potássio no soro sanguíneo aumentou bastante, porém permaneceu inalterado no líquido. As concentrações dos demais íons não variaram consideravelmente.⁽¹⁷⁾

Nos animais que foram dialisados, eles observaram que houve um maior aumento da atividade elétrica cortical e que existia uma correlação entre a velocidade de propagação e as concentrações dos íons cloreto e sódio no líquido ($p < 0.005$). Quanto ao potássio, não foi encontrada correlação no líquido ($p > 0.10$). Em seguida, os animais foram submetidos à reposição iônica de cloreto de sódio, via venosa. Após a estimulação dos hemisférios cerebrais, observou-se que a depressão alastrante foi abolida. A reversão total, em alguns animais, foi se estabelecendo gradualmente nos primeiros trinta minutos, em média, após a injeção de cloreto de sódio. A análise dos resultados obtidos neste trabalho revelou que as alterações do meio interno produzidas pela diálise peritoneal favorecem a incidência e a propagação da depressão alastrante.⁽¹⁷⁾ A privação hídrica, ou a baixa ingestão diária de água pode estar envolvida com os mesmos mecanismos anteriormente apresentados. Inibindo o efeito analgésico e potencializando as alterações comportamentais da dor percebida.

Considerações Finais

Os nossos resultados evidenciam uma possível relação entre a privação hídrica (desidratação) e alterações na hemoconcentração, osmolalidade plasmática, alterações comportamentais da resposta da dor cefálica e no período de latência da dor.

Referências

1. Levy MJ, Knight YE, O'Shaughnessy CT, Goadsy PJ. Effect of IL-1beta microinjection into the posterior hypothalamic area on trigeminal nociception in the rat. *J Neural Transm* 2003;110(12):1349-58.
2. Woods RP; Iacoboni M & Mazziotta JC. Bilateral spreading cerebral hypoperfusion during spontaneous migraine headache. *N Engl J Med* 331: 1689-1692, 1994.
3. Weiller C et al. Brain stem activation in human migraine attacks. *Nature Med* 1: 658-660, 1995.
4. Flippen C & Welch KMA. Imaging the brain of migraine sufferers. *Curr Opin Neurol* 10: 226-230, 1997.
5. Barkley GL et al. Magnetoencephalographic studies of migraine. *Headache* 30: 428-434, 1990.
6. Akerman S, Williamson DJ., Hill RG., Goadsby PJ. The effect of adrenergic compounds on neurogenic dural vasodilatation. *European Journal of Pharmacology* .53-58, 2001.
7. Moskowitz MA et al. Neurotransmitters and the fifth cranial nerve: is there a relation to the headache phase of migraine? *Lancet* 2: 883-884, 1979.
8. Goadsby PJ & Edvinsson L. Evidence of trigeminovascular activation in man during acute cluster headache. *Cephalalgia* 13: 30, 1993. (Abstract) Suppl 13.

9. Valença MM, Ferreira AV, Betti KC, Andrade-Valença LPA, Da Silva WF, Bordini CA, Speciali JG, Antunes-Rodrigues J. Um novo modelo experimental de dor cefálica em ratos: evidência de ativação do sistema endógeno de analgesia. *Revista Dor* 2005;6(4):688-695.
10. Valença MM, Dias MH, Araújo MB, Lins Filho RL, Valença LPA. Analgesia induced by immobilization and surgical stress: participation of the endogenous opioid system. *An Fac de Med UFPE* 1999;44:97-102.
11. Sagar, S.M.; Sharp F.R and Curran T. Expression of c-fos protein in brain: metabolic mapping at the cellular level. *Science*, 240: 1328-1331, 1988.
12. Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 1983;16(2): 109-10.
13. Amit Z, Galina ZH. Stress-induced analgesia: adaptive pain suppression. *Physiol Rev* 1986; 66:1091.
14. Gebhart GF. Descending modulation of pain. *Neurosci Biohav Rev* 2004;27(8):729-37.
15. Taylor BK, Basbaum AI. Systemic Morphine-induced release of serotonin in the rostroventral medulla is not mimicked by morphine microinjection into the periaqueductal gray. *J Neurochem* 2003;86(5):1129-41.
16. Weiss, M.L. & Hatton G.L. Collateral input to the paraventricular and supraoptic nuclei in rat: I. Afferents from the subfornical organ and the anteroventral third ventricle region. *Brain Res. Bull.*, 24: 231-238, 1990.
- 17- Guedes, RCA. Efeitos das alterações experimentais da composição iônica do meio interno sobre a depressão alastrante de Leão. *Dissertação de Mestrado, Instituto de Biofísica, UFRJ, 1975.*
- 18- Leão, AAP. Spreading depression of activity in the cerebral cortex. *J. Neurophysiol.* 7, 359-390, 1944.
- 19- Leão, AAP. Pial circulation and spreading depression of activity in the cerebral cortex. *J. Neurophysiol.* 7, 391-396, 1944.
- 20- Van Harreveld, A & Stamm, J.S. Vascular concomitants of spreading cortical depression. *J. Neurophysiol.* 15, 487-496, 1952.
- 21- Kriváneck, J. Some metabolic changes accompanying Leão's spreading cortical depression in the rat. *J. Neurophysiol.* 6: 183-189, 1961.

- 22- Burns, B.D & Grafstein, B. Spreading depression in isolated cerebral cortex. In XIX International Physiology Congress (abstract of communications), Montreal, 251-252. 1953.
- 23- Grafstein, B. Mechanism of spreading cortical depression. *J. Neurophysiol.* 19: 157-171, 1956.
- 24- Madrazo I, Franco-Bourland RE, Leon-Meza VM, Mena I. 1987. Intraventricular somatostatin-14, arginine vasopressin, and oxytocin: analgesic effect in a patient with intractable cancer pain. *Appl Neurophysiol* 50:427-431.
- 25- Yang J. 1994. Intrathecal administration of oxytocin induces analgesia in low back pain involving the endogenous opiate peptide system. *Spine* 19:867-871.
- 26- Lundeberg T, Meister B, Bjorkstrand E, Uvnas-Moberg K. 1993. Oxytocin modulates the effects of galanin in carrageenan-induced hyperalgesia in rats. *Brain Res* 608:181-185.
- 27- Lundeberg T, Uvnas-Moberg K, Agren G, Bruzelius G. 1994. Anti-nociceptive effects of oxytocin in rats and mice. *Neurosci Lett* 170:153-157.
- 28- Uvnas-Moberg K, Bruzelius G, Alster P, Lundeberg T. 1993a. The antinociceptive effect of non-noxious sensory stimulation is mediated partly through oxytocinergic mechanisms. *Acta Physiol Scand* 149:199-204.
- 29- Uvnas-Moberg K, Lundeberg T, Bruzelius G, Alster P. 1993b. Low doses of ethanol may induce anti-nociceptive effects via an oxytocinergic mechanism. *Acta Physiol Scand* 149:117-118.
- 30- Berkowitz BA, Sherman S. 1982. Characterization of vasopressin analgesia. *J Pharmacol Exp Ther* 220:329-334.
- 31- Witt DM, Winslow JT, Insel TR. 1992. Enhanced social interactions in rats following chronic, centrally infused oxytocin. *Pharmacol Biochem Behav* 43:855-861.
- 32- Xu XJ, Wiesenfeld-Hallin Z. 1994. Is systemically administered oxytocin an analgesic in rats? *Pain* 57:193-196.
- 33- Lins Filho R. 2000. [Analgesic actions of oxytocin]. In: *Physiology*. Recife, Brazil: Federal University of Pernambuco. p 56.
- 34- Annat G, Guell A, Gauquelin G, Vincent M, Mayet MH, Bizollon CA, Legros JJ, Pottier JM, Gharib C. 1986. Plasma vasopressin, neurophysin, renin and aldosterone during a 4-day head-down bed rest with and without exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 55:59-63.
- 35- Banks WA. 2001. Enhanced leptin transport across the blood-brain barrier by alpha 1-adrenergic agents. *Brain Res* 899:209-217.

- 36 - Lundberg JM. Pharmacology of cotransmission in the autonomic nervous system: integrative aspects on amines, neuropeptides, adenosine triphosphate, aminoacids and nitric oxide. *Pharmacol Rev*;48:113-178 , 1996.
- 37 - Buschmann J, Leppla-Wollsiffer G, Nemeth N, Nelson K, Kirsten R. Migraine patients show increased platelet vasopressin receptors. *Headache*. Nov-Dec;36(10):586-8, 1996.
- 38 – Lobzin VS, vasil'ev NS. Treatment of migraine with vasopressin. *Zh Nevropatol Psikiatr Im S S Korsakova*. 1989;89(1):54-8
- 39 – Hampton KK, Esack A, Peatfield RC, Grant PJ. Elevation of plasma vasopressin in spontaneous migraine. *Cephalalgia*. 1991 Dec;11(6):249-50.
- 40 - Zemo DA, McCabe JT. Salt-loading increases vasopressin and vasopressin 1b receptor mRNA in the hypothalamus and choroid plexus. *Neuropeptides*. 2001 Jun-Aug;35(3-4):181-8.
- 41 - Limmroth V, Cutrer FM, Moskowitz MA. Neurotransmitters and neuropeptides in headache. *Curr Opin Neurol* 1996;9:206-210
- 42 – Buzzi MG, Moskowitz MA. The trigemino-vascular system and migraine. *Pathol Biol* 1992;40:313-317
- 43 – Coccaro EF, Kavoussi RJ, Hauger RL, Cooper TB, Ferris CF. Cerebrospinal fluid vasopressin levels: correlates with aggression and serotonin function in personality-disordered subjects. *Arch Gen Psychiatry*. 1998 Aug;55(8):708-14.
- 44 – Färkkilä M, Palo J, Saijonmaa O, Fyhrquist F. Raised plasma endothelin during acute migraine attack. *Cephalalgia* 1992;12:383-384.
- 45 – Peatfield RC, Hampton KK, Grant PJ. Plasma vasopressin levels in induced migraine attacks. *Cephalalgia*. 1988 Mar;8(1):55-7.
- 46- Spigt MG, Kuijper EC, Schayck CP, Troost J, Knipschild PG, Linssen VM, Knotterus JA. Increasing the daily water intake for the prophylactic treatment of headache: a pilot trial. *European Journal of Neurology* 2005;12:715-718
- 47- Blau JN, Kell CA, Sperlin JM. Water-deprivation headache: a new headache with two variants. *Headache*. 2004; 44: 79- 83.
- 48- Blau JN, Thavapalan M. Preventing migraine. A study of precipitating factors. *Headache*. 1988; 28: 481- 483.
- 49- Bayliss PH. Water and sodium homeostasis. *Headache*. 2003; 3: 202- 212.
- 50- Hampton KK, Esack A, Peatfield RC, Grant PJ. Elevation of plasma vasopressin in spontaneous migraine. *Cephalalgia*. 1991; 11: 249- 250.

51- Poole CJM, Lightman SL. Inhibition of vasopressin secretion during migraine. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1988; 51: 1441- 1444.

52- Peatfield RC, Hampton KK, Grant PJ. Plasma vasopressin levels in induced migraine attacks. *Cephalalgia*. 1988; 8: 55- 57.

53- Blau JN. Resolution of migraine attacks: sleep and the recovery phase. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1982; 45: 223- 226.

54- Kleiner SM. Water: An essential but overlooked nutrient. *Journal of the American Dietetic Association*. 1999;99:200-206

55- Shah SI, Aurangzeb, Khan I, Bhatti AM, Khan AA. Dehydration related abdominal pain (DRAP). *Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan*. 2004;14: 14-17

56- Szinnai G, Schachinger H, Arnaud MJ, Linder L, Keller U. Effect of water deprivation on cognitive-motor performance in healthy men and women. *American Journal of Physiology – Regulatory Integrative & Comparative Physiology* 2005;289:R275-280

57- Rogers PJ, Kainth A, Smit HJ. A drink of water can improve or impair mental performance depending on small differences in thirst. *Appetite* 2001;36:57-58

Tabela 1. Valores médios dos eletrólitos e bioquímica plasmática de ratos

| | Valores Referenciais # | Valores encontrados | |
|---------------------|------------------------|-----------------------|--------------------|
| | | Animal normohidratado | Animal desidratado |
| Sódio (mEq/L) | 135 – 155 | 147,91 ± 8,43 | 172,41 ± 10,8* |
| Potássio (mEq/L) | 4 – 8 | 5,21 ± 0,55 | 5,77 ± 0,2* |
| Cálcio (mg/dL) | 5.3 – 13 | 12,1 ± 0,6 | 11,8 ± 0,59 |
| Glicose (mg/dL) | 50 – 138 | 136,25 ± 13,6 | 129,75 ± 22 |
| Bicarbonato (mEq/L) | NE | 21,56 ± 1,08 | 22,75 ± 0,5* |
| Lactato | NE | 1,1 ± 0,14 | 1,22 ± 0,23 |
| Hematócrito (%) | 35 – 49 | 32,75 ± 3,08 | 50,83 ± 1,31* |
| Hemoglobina (g/dL) | 11 – 18 | 10,08 ± 0,9 | 13,53 ± 0,5I* |

Fonte: Hillyer, EV. Quesenberry, KE. Ferrets, Rabbits, and Rodents, Clinical Medicine and surgery. Ed. Saunders, Philadelphia, Cap. 4, p.289-291; 1997

* p-valor <0,05.

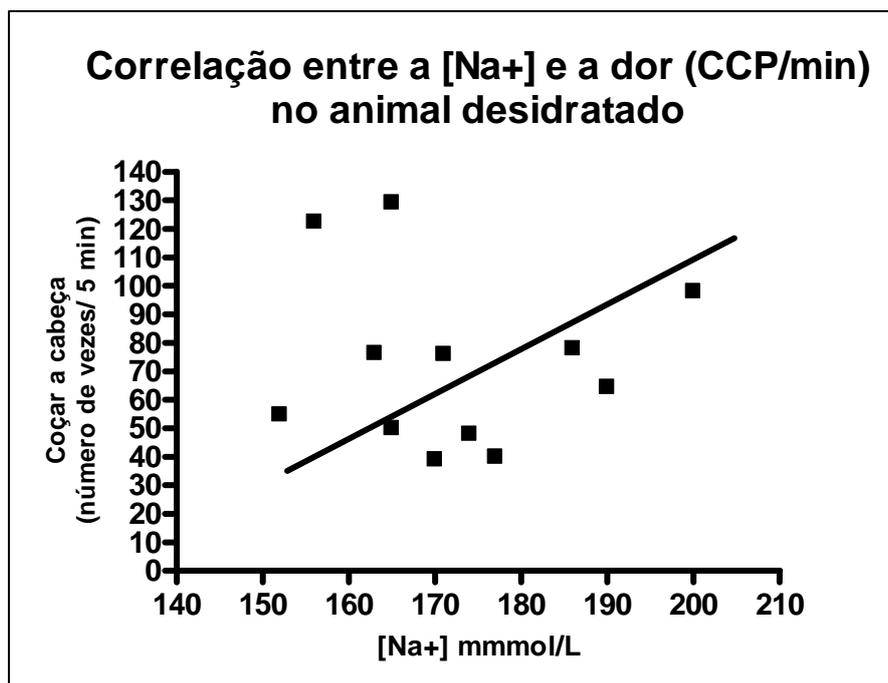


Gráfico 1. Correlação entre a concentração plasmática de sódio e a resposta comportamental da dor apresentada pelo animal desidratado. Valores médios \pm erro padrão. ($R_{\text{pearson}} > 0,4$).

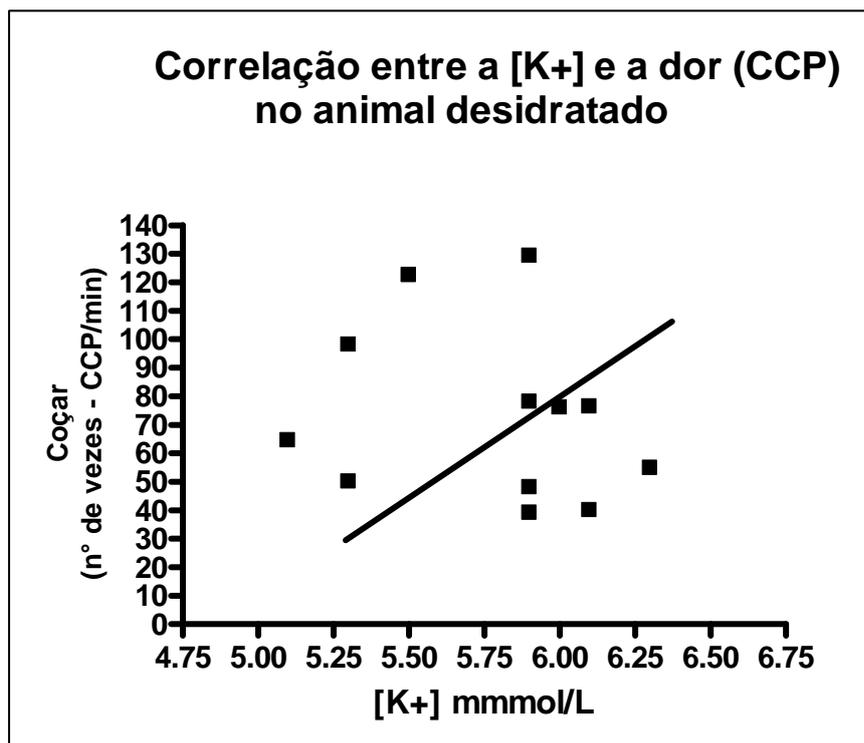


Gráfico 2. Correlação entre a concentração plasmática de potássio e a resposta comportamental da dor apresentada pelo animal desidratado. Valores médios \pm erro padrão. ($R_{\text{pearson}} > 0,3$).

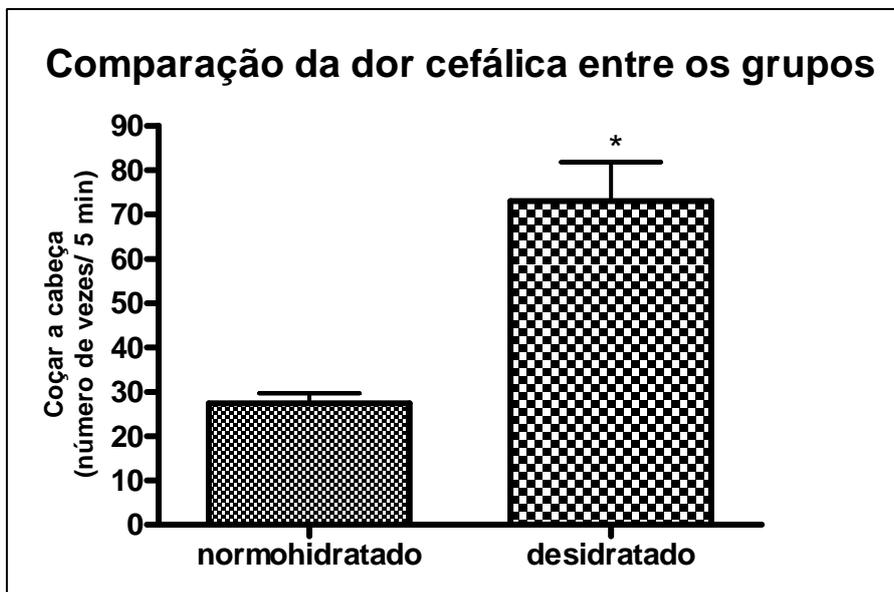


Gráfico 3. Comparação do comportamento dor cefálica entre o grupo Normohidratado (NH) e o grupo desidratado (D) após o teste de formalina. Valores médios \pm erro padrão. ($p < 0,05$).

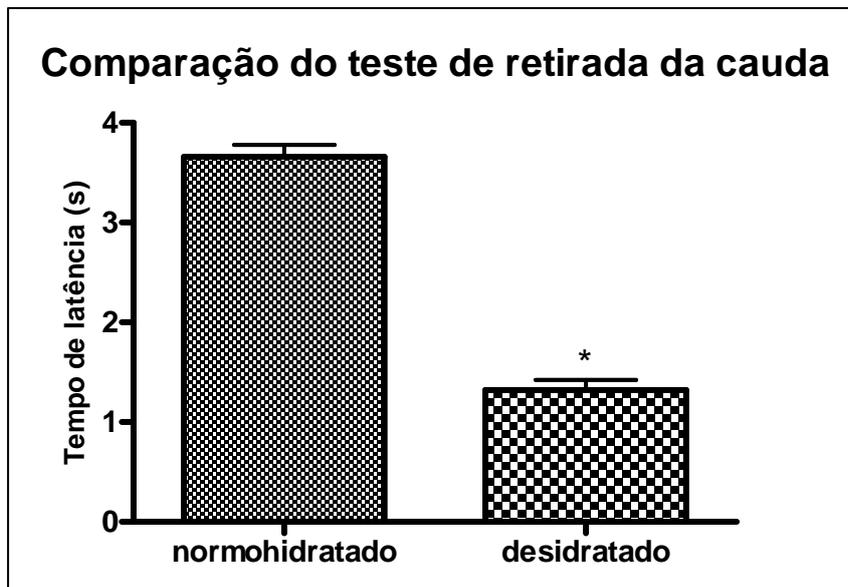


Gráfico 4. Comparação da latência da dor cefálica entre o grupo Normohidratado (NH) e o grupo desidratado (D), após a imersão da cauda em água aquecida a 50°C. Valores médios \pm erro padrão. ($p < 0,05$).