

DÁRCIO GOMES PEREIRA

**"ESTUDO DOS EFEITOS DO LÍTIO SOBRE O DÉFICIT DE FUGA E A
HIPOALGESIA INDUZIDA POR ESTRESSE"**

**Tese de Mestrado, apresentada à
Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas-
UNICAMP, para a obtenção do
título de Mestre em Farmacologia.**

Orientadora: Prof^a Dr^a Nancy Airoidi Teixeira

Campinas

1995

P414e

25488/BC

**UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL**

Banca examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador:

Prof. Dra Nancy Aparecida Teixeira

Membros:

- | | |
|---|--------------------------------|
| 1. Prof Nancy Aparecida Teixeira | Nancy Aparecida Teixeira |
| 2. Prof Dr. José Alberto Del Porto | José Alberto Del Porto |
| 3. Prof. Dra Regina Célia Spadari Bratfisch | Regina Célia Spadari Bratfisch |

Curso de pós-graduação em Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data:

02/06/95

Este exemplar corresponde à versão final da tese de Mestrado, apresentada a Faculdade de Ciências Médicas - UNICAMP, para obtenção do título de Mestre em Farmacologia do Farmacêutico Dárcio Gomes Pereira.

Campinas, 02 de junho de 1995

Nancy Airoidi Teixeira
Profa. Dra. Nancy Airoidi Teixeira
- Orientadora -

Para

**Daniella, por constante incentivo,
apoio e carinho;**

**e Breno, meu filho, cuja ternura
trouxe conforto em momentos
difíceis.**

AGRADECIMENTOS

- A Prof^a Dr^a Nancy Airoidi Teixeira pelo projeto de pesquisa, pela elaboração do plano de trabalho, e pela dedicação dispensada com a minha pessoa e com este trabalho;
- Ao Sr. Adilson José Thomaz pela amizade, colaboração, excelente assessoria técnica e zelo para com os experimentos;
- A Sra. Conceição Aparecida da Silva do Lab. de Investigação Clínica e Semiologia - HC/UNICAMP pelo auxílio na execução das dosagens séricas de metais;
- A amiga Luciene Borges Silva pelo fornecimento do programa gráfico;
- A Prof^a Mirtes Costa do CPQBA-UNICAMP pela ajuda simpática e sobretudo crucial, em fornecer o programa de análise estatística;
- A gentileza do Prof. Dr. Arício Xavier Linhares do Departamento de Parasitologia - IB/UNICAMP pelo apoio e execução das análises de variância;
- Ao Prof. Dr. Stephen Hyslop deste Departamento, pela gentileza e cuidado nas correções de inglês;
- Enfim, a todos os amigos deste Departamento, funcionários, alunos e professores que me acolheram e me apoiaram durante estes anos;
- Ao auxílio financeiro da FAPESP (processo n^o 92/3816-3), CAPES e FAEP.
- Meras palavras jamais agradecerão aos animais pelo valioso auxílio; a eles ficam aqui minha eterna gratidão

Ainda é tempo...

**Se raspas o fundo do poço antigo
de sua esperança
acharás restos de água que apodrece.
É preciso fazer alguma coisa,
livrá-lo dessa sedução voraz
da engrenagem organizada e fria
que nos devora a todos a ternura,
a alegria de dar e receber,
o gosto de ser gente e de viver.**

Thiago de Mello

poeta amazonense

SUMÁRIO

1 - RESUMO	1
1.1 - ABSTRACT	3
2 - INTRODUÇÃO	5
2.1 - O modelo para indução de desamparo aprendido.....	5
2.2 - A variável controlabilidade	8
2.3 - Analgesia induzida por estresse.....	9
2.4 - Controlabilidade e analgesia induzida por estresse.....	17
2.5 - Peptídeos opióides e distúrbios psiquiátricos.....	24
2.6 - Lítio.....	26
3 - OBJETIVOS DO TRABALHO	33
4 - MATERIAL E MÉTODOS	34
4.1 - Animais.....	34
4.2 - Drogas.....	34
4.3 - Caixa de choques incontroláveis.....	35
4.4 - Caixa de choques controláveis e de teste de fuga.....	35
4.5 - Indução do desamparo aprendido.....	36
4.5.1 - Procedimento.....	36
4.6 - Programa controlador de choques.....	37
4.7 - Tratamentos.....	38
4.8 - Testes.....	39
4.8.1 - Teste de retração da cauda.....	39
4.8.2 - Teste de lembrete.....	40
4.9 - Dosagem sérica de metais.....	41
4.10 - Análise estatística.....	42

5 - RESULTADOS	43
5.1 - Medidas comportamentais.....	43
5.2 - Medidas analgesimétricas.....	49
5.3 - Dosagens bioquímicas.....	53
6 - DISCUSSÃO	56
7 - CONCLUSÃO	69
8 - TABELAS	71
9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76

1 - RESUMO

Este trabalho descreve os efeitos do tratamento agudo e crônico com lítio sobre o déficit de fuga na caixa de alternância e nos níveis séricos de metais no modelo do desamparo aprendido, em ratos; estuda, também, os efeitos do tratamento crônico de lítio sobre a hipoalgesia induzida por choques. Através de manipulações farmacológicas, investiga a participação do sistema opióide-hormonal no déficit de fuga.

A administração aguda de lítio, em doses que forneceram níveis séricos deste metal de $0,42 \pm 0,08$ mEq/l, dentro da faixa profilática usada na clínica, não preveniu o desamparo aprendido. Por outro lado, o tratamento crônico forneceu concentrações séricas similares de lítio, e foi capaz de preveni-lo; este tratamento elevou ainda os níveis de potássio no soro, alterando sua homeostase. As concentrações séricas de sódio mantiveram-se estáveis sob qualquer tratamento. Choques inescapáveis ou escapáveis aumentaram os níveis de lítio no soro.

Não constatamos envolvimento opióide-hormonal na indução do efeito de desamparo aprendido. A administração do antagonista opióide naltrexona ou a administração de dexametasona antes do treino não preveniram o déficit de fuga que normalmente se segue aos choques inescapáveis. Por outro lado, a administração de naltrexona antes da sessão de teste bloqueou completamente a expressão desse efeito comportamental.

O tratamento crônico com lítio produziu uma marcante e prolongada reação analgésica, a qual persistiu até 72 horas no grupo inescapável. Esta reação foi independente da reexposição aos 5 choques breves de 0,6 mA nas patas.

Concluimos, finalmente, que o lítio exerce um efeito modulatório sobre o déficit de fuga na caixa de alternância e sobre a resposta hipoalgésica produzida por choques inescapáveis.

1.1 - ABSTRACT

This thesis describes the effects of acute and chronic lithium treatment on the shuttlebox escape deficit and on the serum metal levels in a learned helplessness model, as well as the effects of chronic lithium treatment upon the hypoalgesia induced by shocks. In addition, the involvement of the opioid-hormonal system in the shuttlebox escape deficit was investigated.

Acute lithium administration which resulted in serum lithium levels of 0.42 ± 0.08 mEq/l (within the prophylactic range) did not prevent the induction of learned helplessness. On the other hand, chronic lithium administration provided similar serum lithium concentrations and was able to prevent this phenomenon; this treatment also increased the serum potassium levels with a consequent change in potassium homeostasis. Serum sodium concentrations were stable under all treatment schedules. Inescapable or escapable shocks increased the serum lithium levels.

Our results suggest that the opioid-hormonal system is not involved in the induction of learned helplessness. The administration of naltrexone (an opioid antagonist) or dexamethasone before the training session did not prevent the learned helplessness. However, naltrexone given before the escape test completely blocked the expression of this behavioral response.

Chronic lithium treatment produced a marked and prolonged hypoalgesic reaction which persisted for up to 72 hr in the inescapable group. This reaction was independent of reexposure to the shocks.

We conclude that lithium exerts a modulatory effect on the shuttlebox escape deficit and on the hypoalgesic response produced by exposure to inescapable shocks.

2 - INTRODUÇÃO

2.1 - O modelo para a indução de desamparo aprendido

Os modelos animais de depressão são ferramentas de valor à medida que expandem nosso entendimento da natureza da depressão, auxiliando-nos a emitir seu tratamento ou pela sua capacidade em fornecer suposições clinicamente produtivas (Willner, 1990).

O modelo desamparo aprendido é um modelo animal de estudo experimental da depressão desenvolvido a partir de uma série de experimentos conduzidos entre meados e final da década de 60. Foi originalmente descrito por Seligman e colaboradores (Overmier & Seligman, 1967; Seligman & Maier, 1967) em cães e, subsequentemente, estendido a um vasto número de outras espécies, incluindo humanos (Abramson *et al.*, 1978).

Com o objetivo de se entender melhor os processos envolvidos no desempenho de fuga e esquiva, estudos iniciais (Overmier & Leaf, 1965) revelaram que animais submetidos ao estresse incontrolável (choques elétricos nas patas), mais tarde falhavam em emitir a resposta de escapar dos choques quando a alternativa de fuga era apresentada.

A interpretação desta deficiência no desempenho de fuga foi dificultada pois o protocolo experimental não utilizava, até então, um grupo de animais capaz de controlar a emissão do estímulo aversivo, através de qualquer resposta instrumental. O protocolo utilizava apenas animais submetidos ao estresse

incontrolável ou ao confinamento, enquanto que o grupo escapável estava ausente. Portanto, não se podia concluir se a ocorrência desse fenômeno era consequência da mera exposição aos choques da sessão de treino, ou se consequência da situação da incontrolabilidade dos mesmos.

Para contornar esta dificuldade, uma série de estudos (Overmier & Seligman, 1967; Maier & Seligman, 1967) foram realizados, nos quais a possibilidade de escapar dos choques iniciais foi manipulada. Estes pesquisadores introduziram o sistema pareado, constituído de três grupos experimentais, quais sejam: (a) um grupo de animais recebia choques num determinado ambiente, podendo terminar cada choque através da emissão de uma determinada resposta (no caso, pressionando um painel ou girando uma roda), denominado de **grupo escapável**; (b) um segundo grupo foi pareado com o grupo que podia escapar, de modo a receber uma série de choques inescapáveis de parâmetros idênticos àqueles do grupo escapável (quantidade, intensidade, duração e intervalo), dito portanto **pareado** ou **inescapável**; e (c) um terceiro grupo de animais não recebia choque algum, permanecendo apenas confinado no mesmo ambiente, durante o mesmo período de tempo dos demais, denominado assim **grupo não-chocado** ou **confinado**. Dessa forma, foi possível isolar os efeitos da exposição aos choques *per se* e o impacto do controle versus a falta de controle.

Todos os sujeitos experimentais foram testados posteriormente quanto ao desempenho de fuga numa caixa de alternância (**Shuttlebox**).

O desamparo aprendido foi originalmente avançado como um modelo de depressão reativa (Seligman & Beagley, 1975). Entretanto, os aspectos clínicos de

animais desamparados, incluindo o retardamento psicomotor, perda do apetite, ausência de agressão, distúrbios do sono e elevação de corticosteróides, são sintomas mais similares aos da depressão endógena (Nelson & Charney, 1981), talvez aos sintomas da fase depressiva da desordem bipolar (Depue & Monroe, 1978).

O principal problema com esta formulação está no fato de que as depressões endógenas falham em responder à intervenção psicossocial (Depue & Monroe, 1978). O desamparo responde à intervenção psicossocial, de modo que o deficiente desempenho pode ser superado demonstrando-se ao animal que sua resposta é capaz de produzir a terminação do choque (Seligman *et al.*, 1975).

O termo "efeito de desamparo aprendido" que inicialmente se referia à deficiência em emitir a resposta de fuga após a exposição a choques inescapáveis, passou a ter uma definição mais genérica, referindo-se a qualquer resultado experimental, comportamental ou fisiológico, que é demonstrado resultar de eventos incontroláveis (Maier, 1993).

Embora o déficit de fuga na caixa de alternância seja uma das consequências mais extensamente estudadas da exposição ao estresse incontrolável, este está distante de ser a única alteração comportamental apresentada por animais expostos a esta situação. Pelo contrário, uma multiplicidade de consequências comportamentais e fisiológicas são resultantes da exposição ao regime incontrolável (Maier, 1993) como, por exemplo, a supressão da dor (Amit & Galina, 1986), redução da atividade locomotora (Anisman *et al.*, 1978), perda de apetite e peso (Weiss, 1968).

2.2 - A variável controlabilidade

O modelo desamparo aprendido tem revelado que a controlabilidade exerce importante efeito modulatório sobre as alterações, comportamentais e fisiológicas, produzidas por estímulos aversivos (Maier, 1986). Isto significa que muitas dessas alterações são demonstradas somente se o estímulo aversivo for incontrolável (Maier, 1993). Por exemplo, ratos expostos a uma série de 80 choques incontroláveis de intensidade moderada, mais tarde (1) são deficientes em emitir a resposta de escapar ou esquivar-se do choque ou outros agentes que produzem estresse em diferentes situações, na qual escapar ou esquivar-se é possível (Overmier & Seligman, 1967); (2) são inativos na presença de eventos aversivos (Drugan & Maier, 1982); e (3) apresentam agressão e dominância social reduzidas (Rapaport & Maier, 1978; Williams, 1982). Nenhuma dessas alterações comportamentais são observadas seguindo a experiência a choques escapáveis de parâmetros idênticos, e portanto dependem da incontrolabilidade dos choques, antes que da mera exposição a estes (Maier, 1986).

Aprender que um evento aversivo é incontrolável, poderia produzir prejuízos posteriores no desempenho de fuga devido a possível: (a) redução da motivação do organismo em persistir nas tentativas de fuga, um déficit motivacional ou de iniciação de resposta, e (b) interferência com os próprios processos associativos, um déficit cognitivo (Maier, 1993).

2.3 - Analgesia induzida por estresse

Dentre as alterações produzidas pela exposição a estímulos aversivos, o fenômeno de supressão da dor tem sido amplamente estudado nesses últimos vinte anos. Eventos aversivos produzem analgesia, uma redução da sensibilidade/reactividade à dor.

A partir de sua divulgação, este fenômeno passou a ser denominado de "analgesia induzida por estresse" (do inglês "Stress-Induced Analgesia, SIA).

SIA assume um importante papel nos comportamentos caracterizados por situações injuriantes ou aversivas (Amit & Galina, 1986). Por exemplo, a introdução de um camundongo dentro de um grupo já formado de camundongos, provoca analgesia tanto no intruso, como nos residentes (Amit & Galina, 1986).

Os testes mais comuns usados na medida de analgesia são testes reflexos. O teste de retração da cauda (mais comumente chamado de *tail-flick*) foi originalmente descrito por D'Amour & Smith (1941) e consiste em reter o animal numa determinada superfície, e em seguida aplicar calor radiante na cauda. A latência de retração da cauda em resposta ao calor é tomada como medida de analgesia.

As vantagens do teste de *tail-flick* são as seguintes (D'Amour, 1941; Amit & Galina, 1986): (a) a temperatura limiar na qual a dor é sentida em humanos é similar àquela que induz a resposta no rato; (b) quando analgésicos opióides são avaliados em termos de potência, uma alta correlação entre a inibição da resposta de retração da cauda no rato e a inibição da dor em humanos é observada; e (c) o aparelho é de fácil fabricação e uso, e os registros são confiáveis dentre e entre

experimentos (Amit & Galina, 1986).

Considerando-se que a analgesia pode ser parte integrante do estresse, ela poderia tomar parte da experiência do animal após a confrontação com o estresse (Amit & Galina, 1986). Segundo alguns autores (Fanselow & Helmstetter, 1988; Maier, 1986; Chance *et al.*, 1978; Jackson *et al.*, 1979; Grau *et al.*, 1981), a analgesia pode ser condicionada ao ambiente no qual o animal recebeu choques nas patas e onde a medida de analgesia foi realizada, devido ao pareamento entre as pistas do ambiente e o estímulo aversivo. Apenas a exposição a um ambiente previamente associado a uma situação estressante, seria suficiente para eliciar uma analgesia condicionada, a qual poderia maximizar a eficiência da resposta defensiva do animal (Amit & Galina, 1986).

Discute-se que a analgesia condicionada é um componente do sistema comportamental defensivo do rato (Fanselow & Helmstetter, 1988). Fanselow (1986) coloca que a analgesia não resulta da exposição aos choques propriamente, mas sim do estímulo ambiental que tem sido temporariamente pareado com o choque e que, por conseguinte, ativa o sistema motivacional defensivo. Assim, o contexto ambiental produziria medo como uma resposta condicionada (medo condicionado), o qual ativaria então o sistema motivacional defensivo e, por consequência, inibiria a sensibilidade/reactividade à dor (Fanselow, 1986).

O padrão das respostas analgésicas, em consequência de estresse em ratos, pode sofrer influência de fatores endógenos e exógenos, os quais podem produzir alterações comportamentais e fisiológicas e assim alterar os níveis basais de resposta à dor, tais como o estresse pré-natal (Szuran *et al.*, 1991), a imobilização

e a restrição física (Porro & Carli, 1988; Calcagnetti & Holtzman, 1990), a hiperemocionalidade e o medo induzidos por lesão da área septal (Chance *et al.*, 1978), o congelamento induzido pela ansiedade (Fanselow & Helmstetter, 1988; Panerai *et al.*, 1987; Maier, 1990), o ciclo hormonal ovariano (Ryan & Maier, 1988), a cepa de ratos (Urca *et al.*, 1985) e a emoção (Jensen & Smith, 1982).

O estresse de restrição física, por exemplo, constitui-se um potente estímulo aversivo (Porro & Carli, 1988; d'Amore *et al.*, 1992), e pode alterar latências basais de analgesia e aumentar as repostas a opióides (d'Amore *et al.*, 1992; Calcagnetti & Holtzman, 1990). Durante o período de restrição aguda, observa-se em ratos comportamentos relacionados com a emocionalidade, isto é, vocalização e defecação, entre outros (Porro & Carli, 1988). Esta situação, sob certo aspecto, constitui-se por si só um evento inescapável, uma vez que os movimentos do corpo e dos membros estão restritos (Porro & Carli, 1988).

Panerai *et al.* (1987) verificaram que as características de receptores opióides poderiam estar alteradas em consequência de estresse e que a resposta analgésica opióide poderia ser modulada por agonistas e antagonistas benzodiazepínicos. Seus resultados sugerem que a ansiedade possui uma importante função nas respostas ao estresse.

Os substratos neuroquímicos que participam das reações analgésicas em resposta ao estresse podem ser divididos em duas classes: neuropeptídeos e neurotransmissores (Amit & Galina, 1986).

Os neurotransmissores descritos como implicados em SIA são: a serotonina [5-hidroxitriptamina (5-HT)], a dopamina, a acetilcolina, a noradrenalina e o ácido

γ -aminobutírico (GABA).

Os neuropeptídeos opióides relacionados à SIA têm sido objeto de estudo de um amplo número de pesquisadores desde a divulgação de SIA. A hipótese da mediação dos mecanismos fisiológicos de SIA, via liberação de opióides endógenos, que em circulação interagem com receptores no sistema nervoso central (SNC), tem sido considerada a mais plausível (Amit & Galina, 1986). As glândulas pituitária e adrenais, ambas as maiores fontes de opióides endógenos periféricos, também têm sido implicadas em SIA (Amit & Galina, 1986).

Até o presente momento, três famílias distintas de peptídeos opióides foram identificadas: as encefalinas, as endorfinas e as dinorfinas. Cada família possui um precursor distinto e tem distribuição anatômica característica. Esses precursores são agora designados como pró-encefalina (também pró-encefalina A), pró-opiomelanocortina (POMC) e pró-dinorfina (também pró-encefalina B) (Jaffe & Martin, 1991).

O peptídeo opióide β -endorfina é derivado da metabolização da POMC e embora contenha a sequência da metencefalina em sua extremidade amínica, ela não é convertida neste peptídeo. Em vez disso, a metencefalina é derivada da metabolização da pró-encefalina. A pró-dinorfina origina mais de sete peptídeos que contêm a leuencefalina A, que pode ser clivada posteriormente em dinorfina A, dinorfina B e α e β -neoendorfina, que diferem entre si por apenas um aminoácido (Jaffe & Martin, 1991).

Os peptídeos originários da pró-dinorfina e da pró-encefalina são distribuídos amplamente em todo o SNC, onde, frequentemente, são encontrados

juntos numa mesma região, enquanto a distribuição dos peptídeos originados da POMC é relativamente limitada (Jaffe & Martin, 1991).

De particular importância, os peptídeos da pró-encefalina estão presentes em áreas do SNC que estão presumivelmente relacionadas com a dor (por exemplo, as lâminas I e II da medula espinhal, o núcleo trigêmeo espinhal e a substância cinzenta periaquedutal), com a modulação do comportamento afetivo (por exemplo, a amígdala, o hipocampo, *locus ceruleus* e o córtex cerebral) e com a regulação do sistema nervoso autônomo (bulbo) e das funções neuroendócrinas (eminência média) (Jaffe & Martin, 1991).

Foram descritos vários tipos distintos de receptores específicos os quais podem interagir as drogas opióides ou os peptídeos endógenos. Há evidências bastante razoáveis para três categorias principais de receptores opióides no SNC, chamados μ (mu), κ (kappa) e δ (delta); ademais foram identificados, experimentalmente, dois subtipos de cada grupo (Jaffe & Martin, 1991; Pasternak, 1987).

Os efeitos farmacológicos das drogas opióides relacionados às interações com esta multiplicidade de receptores são de tal forma complexos que, uma determinada droga opióide pode interagir, em grau variável, com todos os três tipos de receptores atuando como um agonista pleno, agonista parcial ou antagonista em cada um deles (Jaffe & Martin, 1991).

Watkins e Mayer (1982b) classificaram os sistemas endógenos controladores da dor como opióide ou não-opióide.

Os mecanismos fisiológicos que participam da expressão de reações

analgésicas induzidas pelo estresse são estudados frequentemente considerando-se estas duas formas de analgesia, opióide e não-opióide. Estes estudos se baseiam na capacidade de antagonistas de receptores opióides, a naloxona e a naltrexona, ou da tolerância cruzada à morfina, bloquearem ou não, tais respostas analgésicas.

O antagonista competitivo naloxona, por exemplo, liga-se a todos os receptores opióides com alta, porém, variável afinidade (Jaffe & Martin, 1991). A administração de naloxona poderia, portanto, bloquear ou reduzir significativamente a analgesia induzida pela liberação de peptídeos opióides endógenos nesses sítios.

Naltrexona é um antagonista opióide relativamente não-específico, que tem sido amplamente usado em estudos de SIA, devido a sua prolongada duração de ação e eficácia (Watkins *et al.*, 1992b).

O outro método utilizado para determinar participação opióide é a indução de tolerância cruzada à morfina. A administração de repetidas doses de morfina, durante um número de dias, produz uma redução da duração e intensidade da resposta analgésica à morfina, devido ao mecanismo de adaptação de células no sistema nervoso à ação da droga (Jaffe & Martin, 1991). Assim, após a confrontação com um estímulo aversivo que produz SIA, uma suposta liberação de endorfinas não seria capaz de produzir analgesia, visto que a capacidade responsiva de tais sítios estaria diminuída. Isso indicaria, portanto, tolerância cruzada entre SIA e morfina e, por dedução, mediação opióide. Se, por outro lado, o agente que produz estresse continuasse a induzir analgesia à níveis similares àqueles observados em controles, conclui-se que esta analgesia pode ser mediada

por mecanismos insensíveis a opióides (Amit & Galina, 1986).

Além da classificação em opióide e não-opióide, SIA opióide parece existir em duas formas, hormonal e não-hormonal (Watkins & Mayer, 1982b). A forma hormonal é assim designada porque requer um sistema adrenal-pituitária intacto para sua expressão. A outra é não-hormonal porque não requer a atividade adrenal-pituitária normal para a sua ocorrência (Maier, 1986).

O hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) e β -endorfinas são liberados, concomitantemente, pela hipófise anterior (Guillemin *et al.*, 1977). Dexametasona é um glicocorticóide sintético capaz de bloquear a liberação dessas substâncias pela hipófise anterior.

SIA opióide seria portanto classificada, dentro da categoria hormonal, se ela for sensível à administração prévia de dexametasona ou hipofisectomia. Caso contrário, se SIA não for bloqueada, seria então considerada como não-hormonal.

O neuropeptídeo vasopressina tem sido implicado como um dos possíveis mediadores da forma de analgesia não-opióide (Bodnar *et al.*, 1982).

Watkins *et al.* (1992b) trabalhando com bloqueadores específicos de subtipos de receptores opióides, constataram que, sob suas condições experimentais, a analgesia opióide observada após 80-100 choques inescapáveis na cauda é mediada à nível supraespinal apenas por receptores δ (delta), cujos sítios críticos que medeiam este efeito, parecem estar localizados dentro de estruturas subcorticais, na região do 4^o ventrículo. Outra característica desta analgesia é o envolvimento de funções superiores do sistema nervoso, tais como aquelas relacionadas à aprendizagem (Maier & Keith, 1987).

Os receptores opióides κ (kappa), por sua vez, estão envolvidos à nível medular tanto na analgesia opióide que ocorre após 80-100 choques, como na que ocorre após 2 choques (Watkins *et al.*, 1992a). Esta última reação analgésica não é reduzida se o sujeito experimental for anestesiado com pentobarbital, durante a sessão de choques (Maier, 1989), ou administrando-se um benzodiazepínico (Maier, 1990), ou ainda apresentando um tratamento pós-choque que interfira com a aprendizagem (Maier & Keith, 1987). Esta analgesia, portanto, não depende de aprendizagem e de envolvimento de processos neurais superiores, sendo uma mera resposta direta aos choques (Maier & Keith, 1987; Watkins *et al.*, 1992b).

Embora ambas categorias de analgesia, opióide e não-opióide, tenham sido amplamente aceitas como um princípio fundamental para separar os mecanismos moduladores da dor, Watkins *et al.* (1992c) verificaram que a ativação paralela de múltiplos sistemas opióides medulares parecem mediar a forma "não-opióide" de SIA.

Eles constataram que, a administração de 7 μg de naltrexona intratecal, atenuou marcadamente a analgesia classificada como "não-opióide", induzida por 5-40 choques na cauda, enquanto que antagonistas altamente seletivos dos subtipos de receptores opióides μ (CTOP), δ (binaltorfimina) e κ (naltrindole), quando administrados separadamente, não bloquearam tal analgesia. Por outro lado, a administração combinada desses antagonistas foi capaz de bloquear todas as formas de analgesia "não-opióide" testadas. Em particular, o bloqueio ocorria sempre na presença do antagonista μ , enquanto que o mesmo não ocorria na combinação dos bloqueadores de receptor κ e δ . Estes pesquisadores sugerem, que

múltiplos subtipos de receptores, poderiam estar sendo ativados em paralelo, visto que todos os três subtipos são, simultaneamente, ativados durante SIA "não-opiíide". Além disso, com base nos resultados obtidos, sugerem que o circuito dos receptores δ e κ possa ocorrer em série, e que ambos possam existir em paralelo com o receptor μ (Watkins *et al.*, 1992c).

2.4 - Controlabilidade e analgesia induzida por estresse

A analgesia induzida por exposição a choques apresenta-se de duas formas. A primeira, designada como SIA de curta-duração (**short-term**) caracteriza-se pela sua rápida dissipação, imediatamente após a exposição a 80 choques escapáveis ou inescapáveis, embora possa ser ainda observada 2 horas após os choques inescapáveis. A segunda forma, denominada de SIA de longa-duração (**long-term**), pode ser reinstalada 24 horas após o estresse inescapável, através de breve reexposição do animal a 5 choques, de duração de 1 segundo cada e intensidade de 0,6 mA, nas patas, no mesmo ambiente onde recebeu os choques (lembrete) (Jackson *et al.*, 1979). Esta analgesia é exclusiva da situação de inescapabilidade, visto que nos grupos escapável e confinado ela não se manifesta. Em adição, os choques breves nas patas, por si só, não levam a uma reação analgésica (Jackson *et al.*, 1979). SIA de longa-duração depende, portanto, da variável controlabilidade (Jackson *et al.*, 1979).

A analgesia reinstalada de longa-duração é bloqueada pela administração de naltrexona 1 hora antes da sessão de choques inescapáveis da mesma forma que

administrada 1 hora antes da reexposição aos choques breves (Maier *et al.*, 1980). Similarmente, há completa tolerância cruzada entre a administração subcutânea de 12,5 mg/Kg de morfina durante 13 dias consecutivos e a analgesia reinstalada (Drugan *et al.*, 1981). Há diversas evidências na literatura que suportam que esta analgesia seja de natureza opióide (Maier, 1986).

O agente que produziu o estresse não necessita ser severo ou mesmo aversivo para ser efetivo na indução de analgesia (Amit & Galina, 1986). A dimensão psicológica de controlabilidade determina quais substratos neuroquímicos delineiam a reação analgésica observada. SIA, portanto, poderia em parte depender da "percepção de controle" que o animal tem da situação de teste (Jackson *et al.*, 1979; Maier, 1986). Nesse sentido, a variável controlabilidade tem um importante impacto sobre o tipo de analgesia observado após a confrontação com o estresse inescapável ou escapável. De fato, há várias evidências na literatura que suportam a noção que o tipo de analgesia observado sob cada regime é diferente (Jackson *et al.*, 1979; Maier, 1986; Moye *et al.*, 1983; Williams *et al.*, 1984; Lewis *et al.*, 1980).

A apresentação do estímulo aversivo sob diferentes parâmetros é um fator crítico na determinação do tipo de analgesia, como por exemplo, a intermitência dos choques (Lewis *et al.*, 1980), a severidade dos choques (Terman *et al.*, 1984) e a região do corpo onde os choques são aplicados (Watkins *et al.*, 1982a).

Grau *et al.* (1981) estudaram a reação analgésica decorrente da exposição a diferentes números de choques durante a sessão de treino. Sob as condições experimentais desses pesquisadores, observou-se, em suma, um pico de analgesia

nos grupos escapável e inescapável após 20 choques, o qual dissipou-se em 40 choques, e ressurgiu em 60 e 80 choques. O pico analgésico de 20 choques não foi bloqueado pela administração prévia de naloxona, em ambos os grupos. Entretanto, apenas o grupo inescapável apresentou estes dois últimos picos (60 e 80 choques) sensíveis à naloxona, sendo que, no grupo escapável, as respectivas reações analgésicas não foram bloqueadas.

Uma explicação apresentada para este fato é que a aprendizagem adquirida pelo organismo, de que um evento aversivo é incontrolável, seria um fator crítico na determinação de analgesia opióide. Tal aprendizagem seria, gradualmente, assimilada no decorrer das exposições aos choques inescapáveis, tornando-se mais consolidada ao final da sessão (Maier, 1986).

Considerando-se que processos de aprendizagem são importantes para a manifestação de SIA opióide, Jensen & Smith (1981) revelaram então que processos de consciência são necessários para a ocorrência de SIA. Eles demonstraram que a analgesia, que normalmente segue a exposição aos choques inescapáveis em ratos conscientes, foi bloqueada quando se mantinham os ratos anestesiados com halotano. Porém, a natureza dessa analgesia, se opióide ou não-opióide, não foi descrita por esses autores.

Se a controlabilidade é uma variável crítica na determinação de analgesia opióide, então manipulações na controlabilidade poderiam afetá-la (Maier, 1986). Uma série de estudos foi realizada explorando as consequências comportamentais dessas manipulações.

Moye *et al.* (1981 e 1983) demonstraram que tanto a experiência prévia,

quanto a experiência posterior de escapabilidade, são capazes de bloquear completamente o efeito de longa duração, seguindo exposição a choques inescapáveis. Denominou-se a experiência prévia como efeito de "imunização", sendo este dependente da exposição à controlabilidade antes da incontrolabilidade, e a experiência posterior denominada de efeito "terapia", na qual apresenta-se a contingência de escapar do estímulo aversivo depois de experimentar a inescapabilidade.

Considerando-se então que os efeitos do desamparo aprendido são caracterizados pela extrema sensibilidade à percepção de controle e, a analgesia reinstalada de longa duração, como sendo resultante da noção de controle que o animal tem da situação (Maier, 1986), estabeleceu-se um paralelo entre a analgesia opióide e os efeitos de desamparo aprendido (Moye *et al.*, 1981). Além disso, ambos os efeitos, a analgesia opióide e o deficiente desempenho de fuga, possuem a mesma evolução temporal, e dissipam nas 48 horas que seguem a exposição ao regime inescapável (Maier *et al.*, 1979).

Algumas evidências têm reforçado esta relação, nas quais estabelecem o envolvimento de um processo opióide exclusivo da situação de inescapabilidade (Hemingway & Reigle, 1987; Moye *et al.*, 1981). Além disso, manipulações sobre o sistema opióide que substituem a sessão de choques inescapáveis e a breve reexposição aos choques breves pela administração de morfina nas doses de 4 e 2 mg/Kg, respectivamente, têm demonstrado similaridade quanto às características da analgesia observada (Grau *et al.*, 1981; Moye *et al.*, 1983; Hyson *et al.*, 1982). Além disso, Williams *et al.* (1984) demonstraram que a exposição prévia ao

estresse incontrolável exacerba os comportamentos induzidos pela retirada abrupta da morfina ao se administrar naloxona, indicativo, mais uma vez, de sensibilização de um processo opióide no regime incontrolável.

Com base nessas evidências, Maier (1986) sugeriu que há uma relação entre os efeitos do desamparo aprendido (como o déficit de fuga na caixa de alternância) e as condições necessárias para produzir SIA opióide-hormonal. Entretanto, MacLennan *et al.* (1982) demonstraram que estas duas vias divergem entre si, nos casos de hipofisectomia e administração de dexametasona, as quais bloqueiam a analgesia, mas não aliviam os efeitos dos choques inescapáveis no desempenho de fuga.

Hunziker (1992) demonstrou que o déficit de fuga que normalmente ocorre 24 horas após choques inescapáveis é evitado administrando-se naloxona, antes da sessão de treino. Seus resultados também sugerem que ambos, SIA e desamparo aprendido, são mediados pelo sistema opióide.

Mais especificamente, tem sido atribuído uma mediação de receptores opióides no cérebro nessa deficiência no desempenho de fuga (Blustein *et al.*, 1992), uma vez que a administração periférica (subcutânea) de naltrexona quaternária (um derivado metilado da naltrexona que não atravessa prontamente a barreira hematoencefálica), em altas doses (50 mg/Kg), falhou em bloquear o déficit de fuga em ratos (Whitehouse *et al.*, 1985), enquanto que a administração intracerebroventricular em baixas doses (10 µg/rato) desse mesmo antagonista, foi capaz de reduzi-lo (Blustein *et al.*, 1992).

Discute-se, atualmente, um importante papel do medo e da ansiedade na

manifestação dos efeitos de desamparo aprendido (Maier, 1990; Maier, 1993; Fanselow, 1986).

Muitas das recentes pesquisas dirigidas ao estudo das bases neuroquímicas da ansiedade investigam a participação do neurotransmissor ácido γ -aminobutírico (GABA). Isto porque muitos dos agentes que reduzem a ansiedade em humanos (como os benzodiazepínicos, barbituratos e álcool) facilitam a ação do GABA no receptor GABA_A, enquanto que agentes que interferem na transmissão gabaérgica aumentam a ansiedade (Maier, 1993). Além deste, dois outros sistemas de neurotransmissores, o sistema noradrenérgico do *locus coeruleus* e o sistema serotoninérgico, têm sido frequentemente citados como importantes na ansiedade (Maier, 1993).

Foi demonstrado que, algumas consequências comportamentais dos choques inescapáveis são sensíveis às manipulações farmacológicas sobre o sistema gabaérgico. Por exemplo, a administração de benzodiazepínicos (BDZ) antes da sessão de choques inescapáveis, bloqueia o déficit de fuga e a analgesia reinstalada de longa-duração (Maier, 1990), aos quais normalmente se seguem aos choques inescapáveis 24 horas depois.

O medo apresenta-se mais acentuado e mais condicionado ao estímulo apresentado durante os choques inescapáveis, do que indêntica quantidade de choques escapáveis (Maier, 1993). Presume-se assim, que o medo consequente do estresse inescapável, poderia ser transferido ou generalizado para a situação de teste, prejudicando, dessa forma, o desempenho de fuga. Em outras palavras, o medo condicionado (associação entre pistas do ambiente e o estímulo aversivo), na

ocasião do teste de fuga, poderia ter um importante impacto sobre tal aprendizagem (Maier, 1993; Fanselow, 1986).

A aprendizagem adquirida pelo organismo de que o choque é inescapável, provocando altos níveis de medo e ansiedade, levaria, presumivelmente, a uma conseqüente liberação de um ansiogênico endógeno, um agonista inverso benzodiazepínico, o qual agiria no núcleo dorsal da rafe (NDR) (e talvez outras regiões) (Maier, 1993). Dessa forma, a liberação dessa substância endógena, interferiria, conseqüentemente, na inibição da atividade gabaérgica e, em combinação com a forte ativação deste núcleo pelos choques, levaria a uma exagerada atividade de neurônios serotoninérgicos com uma conseqüente liberação e acúmulo da serotonina no NDR. (Maier, 1993). Em adição, neurônios que sintetizam serotonina estão amplamente confinados no núcleo da rafe situado no tronco cerebral (Maier, 1993).

A pesquisa animal sugere que neurônios serotoninérgicos centrais estão envolvidos na supressão comportamental, particularmente na inibição relacionada à ansiedade. A hipótese que vincula a diminuição da transmissão serotoninérgica com a redução da ansiedade, como o mecanismo da atividade de benzodiazepínicos discorda de muitas observações clínicas (Soubrié, 1986).

Antagonistas da serotonina não apresentam capacidade marcante de aliviar a ansiedade. Por outro lado, sinais clínicos da transmissão serotoninérgica reduzida (baixos níveis do ácido 5-hidroxiindolacético, um metabólito da serotonina, no fluido céfalo-raquidiano) estão frequentemente associados com a agressividade, tentativas de suicídio e ansiedade aumentada (Soubrié, 1986).

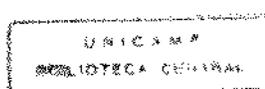
2.5 - Peptídeos opióides e distúrbios psiquiátricos

A função de opióides endógenos no funcionamento psicológico normal e anormal tem atraído considerável interesse durante estes recentes anos. Muitos pesquisadores empenhados em elucidar a função desses componentes em distúrbios psiquiátricos têm-se concentrado na esquizofrenia. Já a relação entre opióides e distúrbios afetivos tem sido objeto de menor número de investigação (Ball, 1987).

Correlacionando o modelo animal de choques inescapáveis com o modelo de distúrbio de estresse pós-traumático (DEPT), van der Kolk *et al.* (1989) estudaram em humanos a analgesia induzida pelo estresse. Esses pesquisadores verificaram que veteranos da guerra do Vietnam com DEPT reexpostos a um estímulo traumático (*videotape* de combate) apresentavam uma analgesia de natureza opióide. Seus resultados sugerem que uma resposta central mediada por opióides seria um aspecto importante da DEPT. Interessantemente, à semelhança do que ocorre em modelos animais, a exposição a um ambiente previamente associado com uma situação estressante provocou analgesia em humanos.

Vários investigadores têm hipotetizado que a depressão poderia ser um estado de disfunção do sistema opióide, com base nas observações que opióides e endorfinas exercem efeitos euforigênicos e modulatórios do humor (Ball, 1987; Berger & Nemeroff, 1987).

A avaliação dessa hipótese pode ser realizada por (Berger & Nemeroff, 1987): (a) quantificação de endorfinas no líquido céfalo-raquidiano e plasma; (b) avaliação dos efeitos clínicos de antagonistas opióides, particularmente a



naloxona, na mania e na depressão, considerando-se que uma dessas desordens afetivas poderia estar associada com a hiperreatividade do sistema opióide; e (c) avaliação dos efeitos terapêuticos de diferentes tipos de opióides em síndromes depressivas, partindo do princípio que a depressão seja um estado de deficiência opióide.

Com relação aos níveis de opióides no líquido céfalo-raquidiano e plasma de pacientes apresentando distúrbios afetivos, Emrich *et al.* (1979) não observaram alterações significativas.

As tentativas clínicas de tratamentos de distúrbios afetivos com β -endorfinas, nas doses entre 1,8 e 10 mg, revelaram que a administração intravenosa dessa substância não foi efetiva no tratamento da depressão (Berger & Nemeroff, 1987). Por outro lado, a administração intratecal de β -endorfina pode ter efeito, não apenas na analgesia, mas também no humor. Entretanto, esta via parece não ser adequada como padrão de tratamento de distúrbios afetivos (Berger & Nemeroff, 1987).

Um dos principais problemas nos estudos de administração intravenosa de β -endorfinas tem sido determinar a quantidade dessa substância que atravessa a barreira hemato-encefálica, para interagir com receptores opióides no cérebro (Berger & Nemeroff, 1987). Outros problemas relacionados aos estudos clínicos de opióides têm sido o pequeno número de pacientes utilizado em alguns trabalhos, o que acarreta dificuldade de interpretação dos resultados (Berger & Nemeroff, 1987); além disso, problemas metodológicos comuns, tais como a ausência de indivíduos controle, verificada no trabalho de Hughes *et al.* (1975),

também dificulta a avaliação desses resultados, uma vez que a inclusão de um grupo controle seria necessária para comparação com pacientes com depressão unipolar ou bipolar.

Deve-se considerar ainda que pacientes depressivos representam um grupo complexo e diagnosticamente diverso, com alto índice de respostas a placebo (Ball, 1987).

Com relação aos efeitos clínicos de naloxona, a orientação geral revela que este antagonista opióide parece não ter efeito, ou ainda exacerbar, os sintomas de pacientes de depressão endógena. Entretanto, os dados sobre os efeitos antimaniacos de naloxona são controversos e carecem de maiores estudos. Por exemplo, Davis *et al.* (1977) observaram um claro efeito antimaniaco de 0,4 a 30 mg/kg de naloxona intravenoso em um de quatro pacientes, enquanto Pickar *et al.* (1982) revelaram que doses menores de naloxona (0,3 mg/kg) administradas por via subcutânea não apresentaram efeito favorável em 26 pacientes maniacos.

Finalmente, uma segura relação entre endorfinas e a patofisiologia dos distúrbios afetivos ainda não foi estabelecida (Berger & Nemeroff, 1987).

2.6 - Lítio

O lítio é o mais leve dos metais alcalinos (grupo Ia). Os sais deste cátion monovalente compartilham algumas características com os sais de Na⁺ e K⁺, enquanto outras se assemelham às dos sais de metais alcalinos, especialmente as propriedades dos sais de cálcio e de magnésio (Tosteson, 1981).

Os sais de lítio foram usados no final do século XIX no tratamento da gota, baseado na idéia de que a combinação do lítio com o ácido úrico formava o urato de lítio, o mais solúvel dos uratos, de modo a facilitar a sua eliminação pelo organismo (Garrod, 1959). O brometo de lítio foi usado nesta época como sedativo (mesmo para pacientes maníacos) e como anticonvulsivante (Baldessarini, 1991).

A partir daí os sais de lítio foram pouco usados até a década de 40, em razão de relatos de intoxicação grave e morte, devido à utilização indiscriminada do cloreto de lítio como substituto do sal de cozinha por pacientes cardiopatas (Schou, 1980).

Os sais de lítio foram introduzidos na psiquiatria em 1949 para o tratamento da mania, graças à descoberta acidental dessa propriedade por Cade (Cade, 1949). Enquanto pesquisava substâncias nitrogenadas na urina de pacientes mentais para testes em cobaia, Cade administrou sais de lítio aos animais numa tentativa de aumentar a solubilidade dos uratos. O carbonato de lítio deixou os animais letárgicos e, intuitivamente, Cade administrou carbonato de lítio a vários pacientes psiquiátricos agitados ou maníacos (Johnson & Cade, 1975). Ele relatou que esse tratamento parecia ter um efeito específico em pacientes maníacos (Cade, 1949).

Apesar dessa descoberta, houve, entretanto, relutância por parte dos médicos em aceitar a segurança do tratamento até 1970, devido aos relatos passados de intoxicação grave e morte com cloreto de lítio.

O lítio é efetivo principalmente (Johnson, 1984) no tratamento agudo da mania (em torno de 80 % do pacientes respondem favoravelmente ao tratamento), no tratamento agudo de sub-grupos de depressão (embora não seja a droga de

primeira escolha no tratamento da depressão), na profilaxia de desordens afetivas recorrentes (como tratamento preferencial) (Coppen & Abou-Saleh, 1988), em psicoses esquizoafetivas do tipo maníaca (cerca de 60 a 70 % dos pacientes respondem favoravelmente).

O lítio é capaz de influenciar uma variedade de processos fisiológicos e muitos desses efeitos têm sido relacionados ao seu mecanismo de ação (Johnson, 1984). Muitos estudos se baseiam nos efeitos do lítio sobre os mecanismos de transporte de cátions (Wood & Goodwin, 1987), no transporte através da membrana de colina (Millington *et al.*, 1979) e amino ácidos (Rosenblatt *et al.*, 1979), no sistema opióide (Amir & Simantov, 1981), na transmissão monoaminérgica, colinérgica, gabaérgica (Wood & Goodwin, 1987) e triptaminérgica (Treiser & Kellar, 1980), no metabolismo do fosfatidilinositol (Nahorski *et al.*, 1991), nas adenilciclases e nas proteínas G (Newman *et al.*, 1983; Wood & Goodwin, 1987).

A toxicidade está relacionada à concentração plasmática de lítio e à sua taxa de elevação após a administração (Baldessarini, 1991). Níveis séricos dentro da faixa de 0,4 e 0,8 mEq/l são tão efetivos quanto níveis acima de 0,8 mEq/l e estão relacionados com a redução dos efeitos colaterais (Abou-Saleh & Coppen, 1989; Coppen & Abou-Saleh, 1988). Ou seja, pacientes cujo tratamento mantiveram níveis séricos dentro desta faixa apresentaram reduções significativas da morbidade afetiva, dos efeitos colaterais tais como tremor e ganho de peso e dos efeitos adversos na tireóide e na função renal (Abou-Saleh & Coppen, 1989).

A intoxicação aguda caracteriza-se por vômitos, diarreia profusa, tremores

grosseiros, ataxia, coma e convulsões. É mais provável o aparecimento de sintomas de intoxicação mais branda no pico absorptivo de lítio, que incluem, náuseas, vômitos, dor abdominal, diarreia, sedação e tremores finos (Baldessarini, 1991).

Reações tóxicas e efeitos colaterais ainda associados com o tratamento ou profilaxia de lítio são (Baldessarini, 1991):

- aumento transitório da excreção de 17-hidroxi-corticosteróides, sódio, potássio e água;
- interferência da função tireoidiana, com aumento benigno, difuso e indolor da tireóide em alguns pacientes;
- ocasionais alterações no metabolismo do cálcio;
- polidipsia e poliúria, diabete insípido nefrogênico;
- leve alteração do metabolismo dos carboidratos;
- alterações eletrocardiográficas e eletroencefalográficas;
- aumento benigno e persistente dos leucócitos polimorfonucleares circulantes;
- ocasionais reações alérgicas, como dermatite e vasculite.

Avner *et al.* (1975) relataram redução dos níveis plasmáticos de potássio em pacientes intoxicados com lítio. A dose máxima por indivíduo no dia da reação tóxica esteve entre 2,25 e 2,5 gramas/dia.

Estudos em animais (Bunney & Garland-Bunney, 1987) revelaram que doses terapêuticas de lítio aumentaram a concentração de potássio extracelular nos astrócitos, mas não nos neurônios.

O mecanismo de ação do lítio como estabilizador do humor ainda não é conhecido, apesar da eficácia do tratamento crônico de lítio no tratamento e, principalmente, na profilaxia de crises de depressão ou mania, em pacientes de Psicose-Maníaco-Depressiva (PMD) (ou desordem bipolar) (Fieve, 1980; Kocsis, 1980). Da mesma forma, a etiologia da PMD ainda permanece desconhecida.

Considerando-se que o modelo desamparo aprendido produz uma constelação de efeitos comportamentais e fisiológicos (Maier, 1986; Maier, 1993), a revelação que o tratamento crônico de lítio é capaz de preveni-lo (Faria & Teixeira, 1993), abre uma série de perguntas sobre quais sistemas biológicos poderiam estar envolvidos nesse efeito. Ademais, sugere que o desamparo pode revelar-se como um modelo potencialmente útil no estudo da desordem bipolar.

Uma pergunta a ser feita, seria qual a relação do lítio com os sistemas de controle da dor. Evidências a respeito da influência do lítio na resposta a estimulação dolorosa, assim como no controle da dor no contexto clínico, são escassos (Johnson, 1984).

Apesar disso, o tratamento da neuralgia trigeminal com carbonato de lítio foi descrito brevemente num caso estudado por Kalvach e Chumbal (1979). Neste trabalho, o paciente apresentava uma história de sete anos de ataques dolorosos de frequência crescente, sendo tais ataques aliviados pelo tratamento de lítio (níveis séricos de 0,66 mmol/l). O tratamento não foi, entretanto, plenamente bem sucedido, e os autores notaram que num período de tratamento de 15 meses, houve um "período de recidiva" de 3 meses, com ataques de neuralgia tornando-se novamente evidentes. O tratamento combinado de lítio, nortriptilina e tioridazina

eliminaram os ataques recidivos.

Num estudo dos efeitos da administração crônica de lítio na interação entre antagonista opióides e receptores opióides em camundongos, Amir e Simantov (1981) verificaram que o lítio, fornecido na dieta, reduziu a resposta de saltar num teste modificado de placa quente (46°C), sendo este efeito revertido por naloxona.

Com relação a um dos sistemas neuroquímicos afetados no desamparo aprendido, vários trabalhos têm demonstrado que a variável controlabilidade deste modelo é capaz de determinar, a ativação ou não, do sistema opióide (Maier, 1986; Moye *et al.* 1981, Moye *et al.*, 1983). Ao mesmo tempo, têm sido determinado o envolvimento do sistema opióide na indução e expressão do deficiente desempenho de fuga e SIA (Hemingway & Reigle, 1987; Maier, 1986; Maier, 1993), indicando que estes dois efeitos possam ser modulados por este sistema.

Nesse sentido, se o lítio foi capaz de prevenir o déficit de fuga, seria interessante investigar qual o seu efeito sobre SIA. Ou seja, estudar qual a extensão de uma alteração na produção desse déficit comportamental que estaria envolvida na modulação da resposta analgésica.

Os estudos das interações de agonistas e antagonistas opióides em receptores opióides revelam que essas interações sofrem influência de tratamentos com íons, enzimas, reagentes e nucleotídeos (Pasternak, 1987). O tratamento com lítio diminuiu a capacidade de ligação entre agonistas e receptores opióides, enquanto que, por outro lado, facilitou a interação antagonista-receptor (Pasternak, 1987).

Os estudos clínicos de opióides nos distúrbios afetivos que procuram

elucidar as funções destes componentes na patofisiologia desses distúrbios, ainda estão inconclusos (Berger & Nemeroff, 1987) e futuros estudos nas ciências básicas e na área clínica serão necessários (Berger & Nemeroff, 1987; Ball, 1987).

3 - OBJETIVOS DO TRABALHO

Os objetivos desta tese foram: (a) investigar, primeiramente, qual o efeito da administração aguda de lítio sobre o "deficit" de fuga na caixa de alternância em ratos; em seguida (b) estudar os níveis séricos de sódio, potássio e lítio com relação aos efeitos do tratamento agudo e crônico de lítio.

(c) Investigar se manipulações farmacológicas que bloqueiam o sistema opióide-hormonal seriam capazes de prevenir ou atenuar a indução do desamparo aprendido.

(d) Finalmente, verificar qual o efeito do tratamento crônico de lítio sobre a hipoalgesia que segue a exposição a choques escapáveis ou inescapáveis, logo após a sessão de treino, 24 horas após e no procedimento de lembrete.

4 - MATERIAL E MÉTODOS

4.1 - Animais

Utilizou-se ratos albinos fêmeas da Cepa Wistar com 85 dias de idade, peso de 200 ± 10 g, no início do tratamento. Os animais foram provenientes do Biotério Central da UNICAMP e foram submetidos a 3 dias de adaptação ao biotério do laboratório de Toxicologia Comportamental, mantidos isolados em gaiolas individuais de polipropileno (30 x 20 x 13 cm), submetidos a um ciclo de 12 h claro/escuro (com as luzes acendendo às 06:00 e apagando às 18:00 horas) e sob temperatura ambiente constante de $26 \pm 2^\circ\text{C}$. A alimentação (ração Nuvilab) e a água de bebida foram fornecidas *ad libitum*.

4.2 - Drogas

Cloreto de lítio (pró-análise Merk): A solução-mãe foi preparada diluindo-se o sal em água deionizada, formando solução 1,0 N. Esta solução foi diluída em água de torneira, em quantidade adequada a fornecer a concentração final de 20 mN.

Cloreto de naltrexona (Sigma): A solução foi preparada diluindo-se o sal em água deionizada até atingir a concentração final de 8 mg/Kg/ml.

Fosfato sódico de dexametasona 4 mg/ml (Decadron®, Merk Sharp & Dohme). A solução contida no frasco-ampola foi diluída em água destilada até atingir a concentração final de 1mg/Kg/ml.

4.3 - Caixa de choques incontroláveis

Os choques incontroláveis foram ministrados numa caixa de 25 x 19,5 x 19,5 cm, tendo a parede frontal de acrílico transparente, as restantes de alumínio, com tampa no teto. O piso desta é composto de barras de latão de 0,3 cm de diâmetro, distando 1,2 cm entre si, através das quais os choques elétricos foram ministrados (choque "scrambler", através do gerador de choques de 1 via, marca *ALBARSCH*).

4.4 - Caixa de choques controláveis e de teste de fuga

A caixa que foi utilizada no procedimento controlável corresponde a uma caixa de 50 x 29 x 29cm em alumínio, com tampa e parede frontal de acrílico transparente, modelo "vai e vem". A caixa é dividida em dois compartimentos iguais separados por uma parede de alumínio onde há um orifício retangular de 7,5 cm de altura, por 6,0 cm de largura localizado no centro desta parede e à 8,0 cm acima do piso em barras da caixa.

O piso é composto por barras de latão de 0,3 cm de diâmetro, distando 1,0 cm entre si, através das quais os choques elétricos foram ministrados, com mecanismo "scrambler" (embaralhamento).

Cada compartimento possui 2 fotocélulas, distando 6,0 cm entre si, as quais são sensíveis (por interrupção do feixe de luz) ao movimento do sujeito experimental entre os compartimentos, assim, registrando sua presença no compartimento em que se localizar, num dado momento do teste. Esta caixa está acoplada, automaticamente, à caixa de choques incontroláveis.

Vinte e quatro horas após a sessão de treino e imediatamente após o procedimento do lembrete, todos os grupos foram submetidos a uma sessão de teste de fuga nessa caixa de alternância, porém os choques foram ministrados até um total de 30 choques. O tempo médio desta sessão foi de 14 minutos.

4.5 - Indução do desamparo aprendido

O modelo consiste em submeter 3 grupos de ratos a 3 tipos de tratamento (doravante também referido como treino), em 3 caixas de alternância (para maiores detalhes ver Faria & Teixeira, 1993): a) animais que recebem 60 choques, cujo tempo de duração de cada choque pode ser reduzido pela fuga do animal de um compartimento a outro da caixa de alternância (grupo escapável); b) animais que recebem os 60 choques pelo mesmo período, intensidade e duração dos animais do grupo anterior, e que não podem escapar destes choques, independentemente de qualquer comportamento que desempenhem (grupo inescapável); ou c) animais que permanecem apenas confinados pelo período de treino dos anteriores (grupo controle).

4.5.1 - Procedimento

Enquanto um grupo de animais recebia choques escapáveis (CHE) na 1ª caixa de alternância, outro grupo recebia choques inescapáveis (CHI), na 2ª caixa. O grupo controle foi apenas confinado na 3ª caixa de alternância. Os três grupos foram manipulados simultaneamente.

A sessão de choques escapáveis - CHE - foi iniciada com a colocação do

animal num dos compartimentos da caixa de alternância. Após 3 minutos de adaptação ao aparelho, foram ministrados choques (todos de 1,0 mA), sempre no compartimento em que se encontrava o animal, até um total de 60 choques (não sinalizados previamente com som). O tempo de duração da sessão de treino foi de 25 minutos.

A resposta exigida do animal para o término do choque foi a de saltar de um compartimento para o outro. Essa resposta de fuga tem como consequência a interrupção do choque. Registrou-se a latência desde o início de cada choque, até o término deste (latência de fuga). O tempo máximo de duração dos choques foi de 30 segundos, sendo que, se o animal não cruzasse os compartimentos, novo choque era imediatamente iniciado. Os choques foram ministrados em intervalos randômicos variando de 5-25 segundos. Retiramos 20% de animais que não desempenham esta tarefa de fuga, mesmo sem qualquer tratamento, segundo observado por Wieland *et al* (1986). Utilizamos caixas de choque com comando programável computadorizado, marca *ALBARSCH*.

4.6 - Programa Controlador de Choques

Consiste de programa descrito por Hermini *et al* (1994) para a execução automática dos choques, por intermédio do gerador de choques. Este programa está gravado em disquete e é acessado através do microcomputador XT2002 da *Microtec*, que por sua vez está acoplado ao gerador de choques da *Albarsch*. Este programa foi baseado na latência média de fuga de 119 animais sem nenhum

tratamento que tinham a possibilidade de fuga na caixa de alternância. A duração dos choques é, portanto, variável, e o intervalo entre os choques, randômico, variando entre 5 e 25 segundos. Realizamos todas as sessões de choques inescapáveis utilizando este programa controlador de choques.

4.7 - Tratamentos

Após o período de 3 dias de adaptação, os animais foram submetidos aos seguintes tratamentos com drogas:

a) Tratamento com lítio: este tratamento consistiu no fornecimento de solução de cloreto de lítio 20 mN pelo bebedouro. Procedeu-se ao tratamento agudo e o tratamento crônico.

No tratamento agudo, os animais foram isolados e tratados durante 5 dias consecutivos. No terceiro dia de tratamento os animais foram submetidos a uma sessão de treino, seguido, 24 horas após, pelo teste de fuga (4^o dia), e finalmente sacrificados por decapitação 48 horas após o treino (5^o dia).

No tratamento crônico, os animais foram tratados durante 30 dias consecutivos, mantidos agrupados até o 25^o dia, ocasião em que foram isolados em gaiolas individuais. No 28^o dia todos os animais foram submetidos a uma sessão de treino, sucedido, 24 horas após (29^o dia), pelo procedimento de analgesia ou pelo teste de fuga, sendo para cada procedimento, grupos independentes. No 30^o dia, finalmente, apenas os grupos avaliados quanto ao desempenho de fuga foram sacrificados por decapitação, enquanto os demais foram sacrificados com éter.

c) Tratamento com naltrexona: Procedemos o tratamento agudo antes da sessão de treino ou de teste de fuga.

Os animais receberam injeção intra-peritoneal de cloreto de naltrexona (8 mg/Kg), 1 hora antes da sessão de treino (pré-treino), segundo método de Maier *et al.* (1980), ou 1 hora antes do teste (pré-teste).

d) Tratamento com dexametasona: Procedemos o tratamento agudo antes da sessão de treino ou de teste de fuga.

Os animais receberam injeção intra-peritoneal de fosfato sódico de dexametasona (1 mg/Kg), 2 horas antes da sessão de treino (pré-treino), segundo método de MacLennan *et al.* (1982b), ou 2 horas antes do teste (pré-teste).

4.8 - Testes

4.8.1 - Teste de retração da cauda

Para medir a analgesia imediatamente após a sessão de treino, 24 h após esta sessão e no procedimento de lembrete, utilizou-se o aparelho *Tail Flick Analgesia Meter*, marca ALBARSCH, segundo método de D'Amour & Smith (1941). Este aparelho possui uma plataforma de alumínio (33 x 25 cm) onde o sujeito experimental foi alocado durante 1 minuto para adaptação ao aparelho. Nesta plataforma há uma fenda de 4 cm por onde sai um feixe luminoso de um orifício central. Sobre o orifício, perpendicularmente, há uma fotocélula receptora do sinal luminoso localizada dentro de um suporte cilíndrico com base na

plataforma.

Para se avaliar o grau de analgesia do animal, posicionou-se a extremidade da cauda do animal (2,5cm da ponta da cauda) à fenda do aparelho, de modo a fechar o orifício.

Ajustou-se o tempo de máxima duração para resposta de 20 segundos e a potência ideal da lâmpada. Pressionando o botão "START" a lâmpada acendia iniciando o aquecimento da cauda (através do feixe luminoso), bem como acionava o cronômetro, instantaneamente. O desligamento da lâmpada ocorria no instante da resposta de retração da cauda, trancando o registro do cronômetro. Cada sujeito experimental foi submetido à 3 medições consecutivas, com intervalo de aproximadamente 1 minuto entre elas, sendo a média das latências, por rato, utilizada na análise dos resultados.

A fim de evitar que qualquer pista odorífera viesse a interferir nas medidas, o experimentador lavava bem as mãos e limpava a plataforma de alumínio com álcool à 70% antes de colocar na caixa outro animal.

4.8.2 - Teste de lembrete

Vinte e quatro horas após a sessão de treino, os ratos dos três grupos foram alocados individualmente na caixa de choques inescapáveis. Após 3 minutos de adaptação na caixa, o "lembrete" consistiu em submeter o sujeito experimental a 5 choques nas patas de 0,6 mA, com duração de 1 segundo cada. Imediatamente após esta sessão de choques breves, cada animal foi submetido ao teste de

analgesia. Procedeu-se retomando por mais duas vezes cada animal à caixa de choques por 3 minutos, sendo que nestas oportunidades nenhum choque foi ministrado, seguindo-se novas medidas de analgesia. Este procedimento é semelhante àquele utilizado por Moye *et al* (1983), com modificações.

4.9 - Dosagem sérica de metais

Vinte e quatro horas após o teste de fuga, os animais foram sacrificados por decapitação e o sangue recolhido para dosagem sérica de sódio, potássio e lítio, em fotometria de chama.

O sangue proveniente da decapitação foi recolhido em tubo de ensaio e aguardou 20 minutos em temperatura ambiente. Em seguida, foi alocado em banho-maria a 37°C, até a formação do coágulo. Com a ajuda de uma espátula, o coágulo foi descolado da parede do tubo de ensaio. Centrifugou-se, então, por 10 minutos em velocidade 3.000 r.p.m. Retirou-se o sobrenadante com pipeta *Pasteur* e o reservamos em frascos no *freezer*.

Para a dosagem sérica de sódio e potássio, o soro foi descongelado e diluído em água destilada na proporção 1/50 (ou seja, 0,2 ml de soro para 9,8 ml de água).

Para a dosagem de lítio procedemos da mesma forma, mas diluindo na proporção 1/20 (0,2 ml de soro para 3,8 ml de água) (Schou, 1958).

O aparelho fotômetro de chama (modelo B-262, marca MICRONAL) foi zerado com água deionizada e calibrado com padrão fornecido pelo fabricante.

Após a calibração lia-se as amostras sucessivamente, sendo a limpeza entre as leituras feita com água deionizada.

A cada 5 amostras lidas, lia-se o padrão novamente, para verificar se o aparelho continuava calibrado, não sendo aceitas variações superiores à 0,1 mEq/l (limite de precisão do aparelho).

4.10 - Análise estatística

Os resultados comportamentais foram analisados como a latência média de fuga (\pm EP) por bloco de 5 tentativas durante cada sessão de teste. Para análise comportamental utilizamos a análise de variância (ANOVA) de duas vias segundo Zar (1941) e Shayne & Carrol (1994).

Utilizou-se para a análise de dados o programa "CSS - *Complete Statistical System*" do fabricante *Statsoft*.

Os resultados de analgesia foram analisados no teste *t-Student* (Spiegel, 1970) nas comparações entre dois grupos. Utilizou-se a análise de variância (ANOVA) de uma via seguida do teste de Duncan (Duncan, 1955; Kramer, 1956) para múltiplas comparações.

Utilizou-se α de 5% bicaudal. Valores de probabilidade (p) maiores que 0,05 não foram considerados estatisticamente significativos.

5 - RESULTADOS

5.1 - Medidas comportamentais

Primeiramente, analisaram-se os dados dos grupos CHI e CFD que receberam apenas água como fonte de bebida (grupos controle), os quais não foram expressos graficamente. Constatou-se que ratos submetidos a choques inescapável na sessão de treino, apresentaram latências médias para emitir a resposta de saltar de um compartimento a outro da caixa, no teste de fuga, superiores àquelas encontradas no grupo confinado [$F(1,154) = 81,31; P \leq 0,001$], o que revela a expressão do desamparo no grupo CHI. Embora este grupo apresentasse latências mais prolongadas para a emissão da resposta de fuga em relação ao grupo confinado, a aprendizagem de fuga não esteve ausente, visto que ambos os grupos foram capazes de aprender essa resposta, isto é, obtiveram latências médias de fuga maiores no início do que no final da sessão de teste [$F(5,770) = 93,15; P \leq 0,001$]. A interação entre o tratamento com choques e as tentativas foi estatisticamente significativa [$F(5,770) = 2,81; P \leq 0,01$], ou seja, o efeito do tratamento de água (ausência de droga) foi o mesmo para ambos os grupos, CFD e CHI.

A Figura 1 apresenta o desempenho de fuga de animais tratados aguda ou cronicamente com lítio, submetidos previamente a choques inescapáveis ou ao confinamento.

Sob o tratamento crônico de lítio, o grupo de ratos expostos previamente a

choques inescapáveis não diferiu estatisticamente do grupo de ratos submetidos ao confinamento, quando ambos os grupos foram avaliados quanto ao desempenho de fuga [$F(1,125) = 0,55; P \leq 0,46$], isto é, apresentaram comportamentos de fuga semelhantes entre si. Além disso, a análise de variância revelou que estes dois grupos foram capazes de aprender a resposta de fuga, já que as latências médias para a emissão da resposta de saltar reduzem-se significativamente no decorrer das tentativas [$F(5,625) = 32,07; P \leq 0,001$]. A interação entre o tratamento crônico de lítio e as tentativas foi estatisticamente significativa [$F(5,625) = 3,63; P \leq 0,003$], o que significa que o efeito deste tratamento é dependente da exposição aos choques inescapáveis prévios. Isto é, o efeito do tratamento crônico de lítio foi diferente para ambos os grupos, CFD e CHI, ao longo das tentativas.

Ratos pré-tratados com lítio agudo expostos a choques inescapáveis apresentaram latências médias de fuga superiores às do grupo confinado [$F(1,20) = 11,32; P \leq 0,01$], indicando que o grupo CHI apresentou deficiência em escapar do estímulo aversivo em relação ao grupo CFD. Ambos os grupos foram capazes de aprender essa resposta, isto é, obtiveram latências médias de fuga maiores no início do que no final da sessão de teste [$F(5,100) = 11,81; P \leq 0,001$]. A interação entre o tratamento agudo de lítio e as tentativas foi estatisticamente significativa [$F(5,100) = 2,75; P \leq 0,02$], ou seja, o efeito deste tratamento foi diferente para ambos os grupos, CFD e CHI, no decorrer das tentativas. O efeito deste tratamento é dependente, portanto, da exposição aos choques prévios.

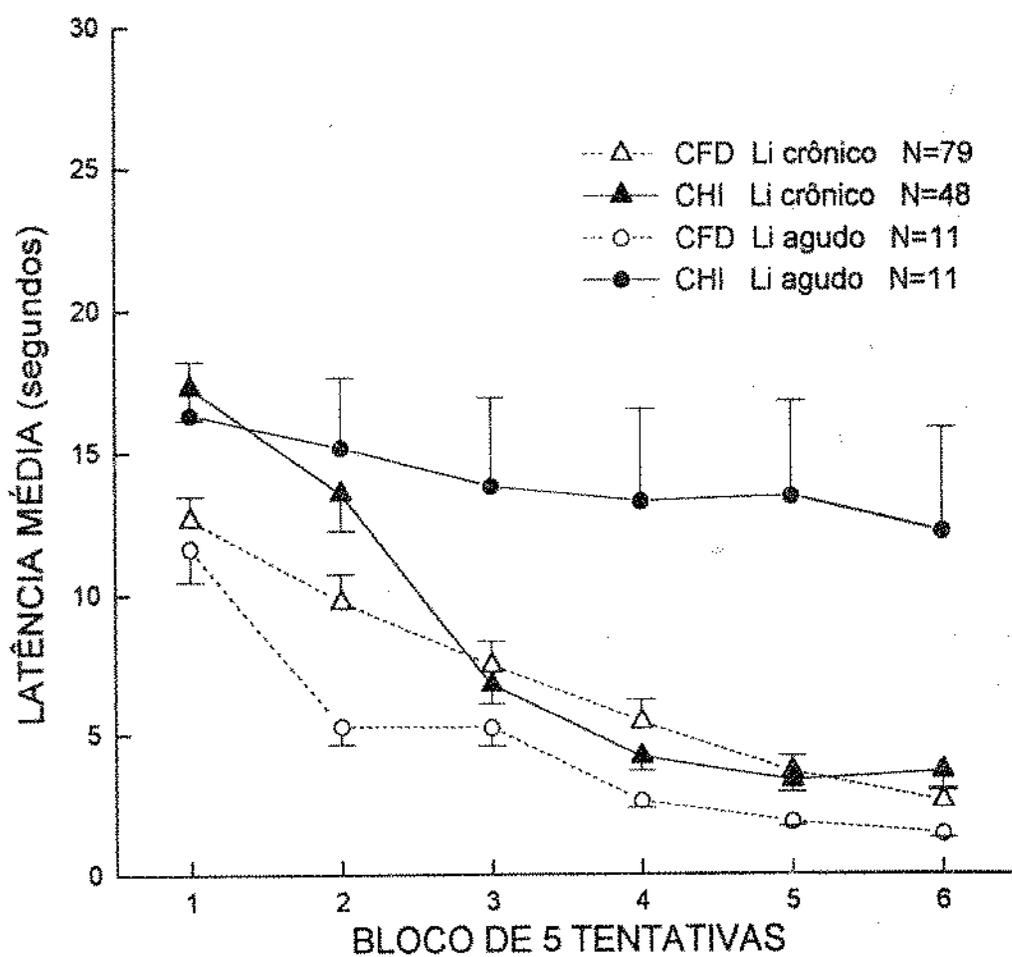


FIGURA 1: Efeitos do tratamento crônico ou agudo com lítio no desempenho aprendido. Média \pm EP da latência de fuga (seg) por bloco de 5 tentativas durante o teste de fuga. Os grupos foram tratados crônica (28 dias) ou agudamente com lítio (3 dias) e então submetidos a choques inescapáveis (CHI) ou ao confinamento (CFD). N representa o número de animais utilizado por grupo.

A Figura 2 apresenta a latência de fuga de animais previamente expostos a choques inescapáveis ou ao confinamento e que foram tratados agudamente com injeção ip de naltrexona (8 mg/Kg), 1 hora antes da sessão de treino (pré-treino) ou de teste (pré-teste).

Na administração de naltrexona pré-treino, o desempenho de fuga do grupo CHI foi pobre em relação ao respectivo grupo CFD, caracterizado por latências elevadas em todos os blocos de tentativas [$F(1,24) = 15,97; P \leq 0,001$]. A análise de variância indicou que ambos os grupos aprenderam a escapar, visto que as latências para a emissão da resposta de fuga reduzem-se significativamente no decorrer das tentativas, atingindo latências baixas nos blocos finais em relação aos blocos iniciais [$F(5,120) = 13,11; P \leq 0,001$]. A interação entre o tratamento de naltrexona pré-treino e as tentativas não foi estatisticamente significativa [$F(5,120) = 0,21; P \geq 0,96$], indicando o efeito deste tratamento não é dependente da exposição aos choques prévios. Isto é, o efeito da administração de naltrexona pré-treino foi o mesmo para ambos os grupos CFD e CHI, ao longo das tentativas.

Por outro lado, a administração de naltrexona pré-teste bloqueou completamente o deficiente desempenho de fuga que normalmente segue os choques inescapáveis, ou seja, o comportamento de fuga do grupo CHI foi similar ao do grupo confinado [$F(1,14) = 2,23; P \leq 0,16$]. Ambos os grupos aprenderam a escapar durante as tentativas [$F(5,70) = 69,72; P \leq 0,001$], revelado pela significativa redução nas latências de fuga durante o teste. A interação entre o tratamento de naltrexona pré-teste e as tentativas não foi estatisticamente significativa [$F(5,70) = 0,64; P \geq 0,67$], indicando, portanto, que o efeito deste

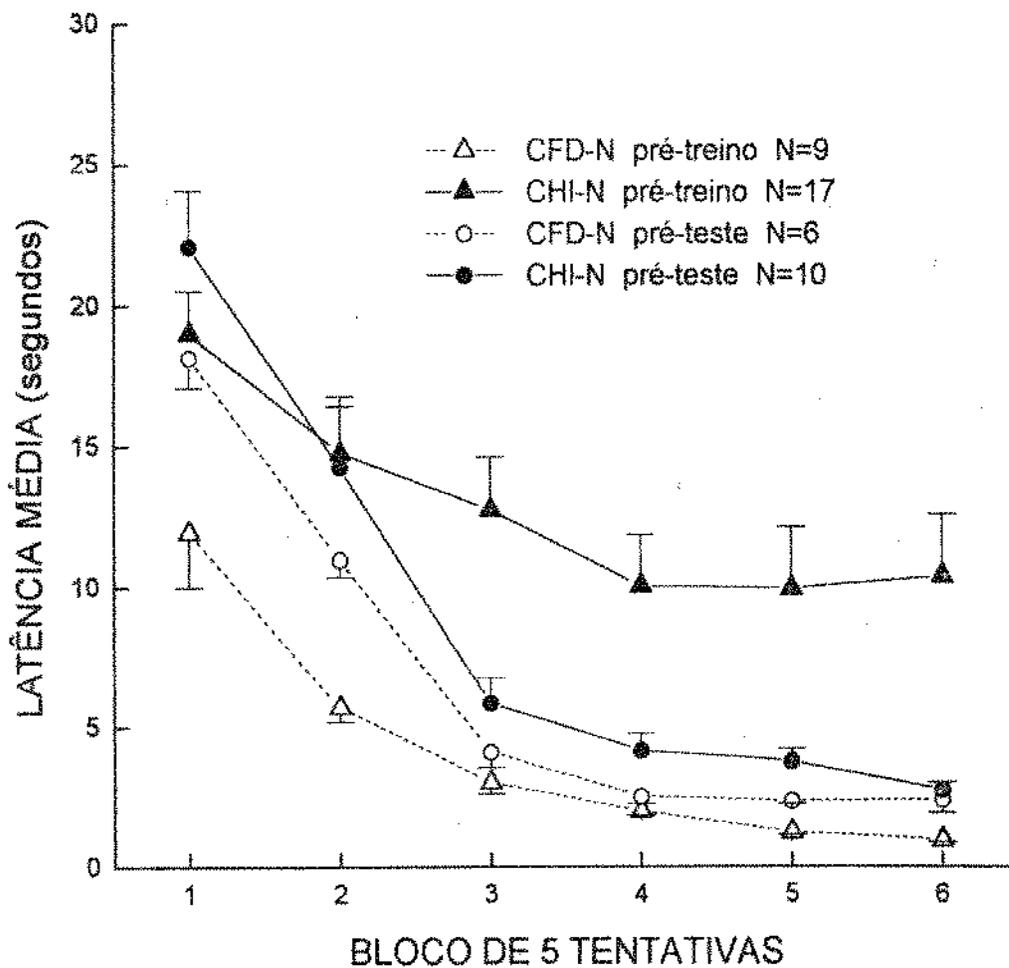


FIGURA 2: Efeitos de naltrexona antes do treino e teste no desamparo aprendido. Média \pm EP da latência média (seg) por bloco de 5 tentativas durante o teste de fuga. Os grupos receberam injeção ip de naltrexona (8 mg/Kg) 1 hora antes do teste, ou no dia anterior, antes da sessão de choques inescapáveis (CHI) ou confinamento (CFD). N representa o número de animais utilizado por grupo.

tratamento foi o mesmo para ambos os grupos, CFD e CHI, ao longo das tentativas. Ou seja, o efeito deste tratamento não é dependente da exposição prévia aos choques.

A Figura 3 mostra o desempenho de fuga de animais previamente expostos a choques inescapáveis ou ao confinamento tratados agudamente com injeção ip de dexametasona (1 mg/Kg) 2 horas antes da sessão de treino (pré-treino) ou de teste (pré-teste).

A administração de dexametasona pré-treino não aliviou os efeitos dos choques inescapáveis no desempenho de fuga, desde que o grupo CHI diferiu estatisticamente de seu respectivo grupo confinado [$F(1,20) = 11,69; P \leq 0,01$]. As latências prolongadas para a emissão da resposta de saltar no grupo CHI indica que este apresentou-se desamparado. Ambos os grupos foram capazes de aprender a resposta de fuga [$F(5,100) = 11,00; P \leq 0,001$], desde que houve uma diferença estatisticamente significativa ao longo das tentativas. Esta análise indicou que a interação entre o tratamento de dexametasona pré-treino e as tentativas não foi estatisticamente significativa [$F(5,100) = 0,90; P \geq 0,49$], ou seja, o efeito deste tratamento não foi dependente da exposição aos choques prévios. O efeito do tratamento de dexametasona pré-treino foi o mesmo para ambos os grupos, CFD e CHI, ao longo das tentativas.

Similarmente, o desempenho de fuga do grupo inescapável, sob o tratamento de dexametasona pré-teste, foi deficiente em relação ao respectivo grupo confinado [$F(1,19) = 13,73; P \leq 0,001$], indicando, mais uma vez,

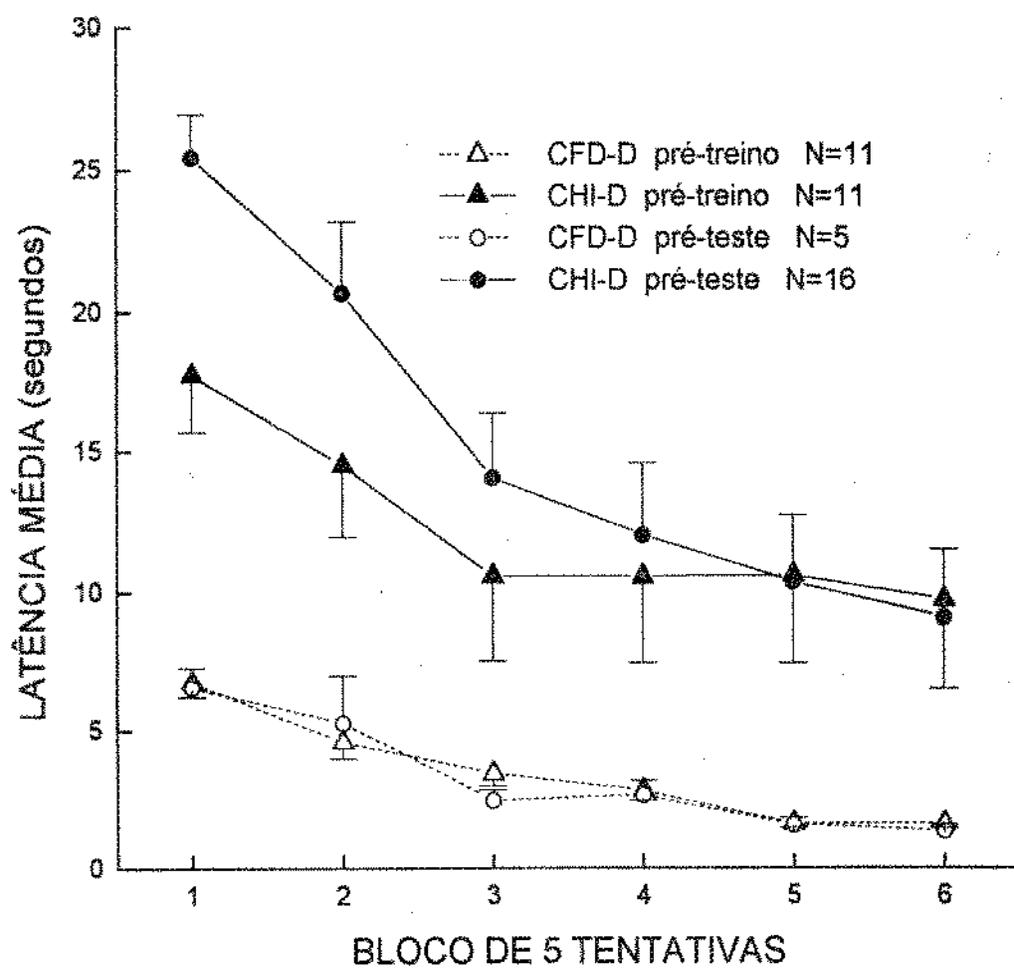


FIGURA 3: Efeitos de dexametasona durante o treino e teste no desempenho aprendido. Média \pm EP da latência de fuga (seg) por bloco de 5 tentativas durante o teste de fuga. Os grupos receberam injeção ip de dexametasona (1 mg/Kg) 2 horas antes do teste, ou no dia anterior, antes da sessão de choques inescapáveis (CHI) ou confinamento (CFD). N representa o número de animais por grupo.

expressão do efeito de desamparo no grupo CHI. Ambos os grupos aprenderam a escapar durante as tentativas [$F(5,95) = 9,48; P \leq 0,001$], isto é, obtiveram latências médias de fuga maiores no início em relação as latências do final da sessão de teste. A interação entre o tratamento de dexametasona pré-teste e as tentativas não foi estatisticamente significativa [$F(5,95) = 2,27; P \geq 0,05$]. Isto equivale a dizer que o efeito deste tratamento não é dependente da presença do fator choques, ou seja, o efeito de dexametasona pré-teste foi o mesmo para ambos os grupos, CFD e CHI, ao longo das tentativas.

5.2 - Medidas analgesimétricas

Utilizamos nos experimentos que constam nos gráficos 4, 5 e 6 dois grupos experimentais como referência de resposta analgésica, sendo um injetado com morfina (4 mg/Kg; sc) e outro injetado sc com salina 0,9%, no mesmo volume, 30 minutos antes do confinamento.

A Figura 4 mostra a latência média de analgesia determinada em grupos de ratos imediatamente após a exposição a choques inescapáveis (CHI), choques escapáveis (CHE) ou apenas ao confinamento (CFD), quer sejam tratados cronicamente com lítio ou com água (controle).

Nossos resultados demonstram que choques inescapáveis e escapáveis produziram hipoalgesia imediatamente após a sessão de treino, em ratos tratados com água (controle) [$F(2,287) = 50,56; P \leq 0,001$]. Através do teste de Duncan para múltiplas comparações, constatou-se que, tanto o grupo tratado com choques inescapáveis, como o tratado com choques escapáveis, elevaram o limiar de sensibilidade/reactividade à dor, já que produziram latências médias de retração da cauda superiores em relação ao grupo confinado ($P \leq 0,01$). O tratamento com choques inescapáveis, por sua vez, foi mais analgésico em relação ao grupo exposto a choques escapáveis ($P \leq 0,01$), visto que produziu latências superiores de retração da cauda.

Similarmente, as diferenças nas latências de analgesia observadas entre os grupos expostos a choques e confinado pré-tratados cronicamente com lítio são

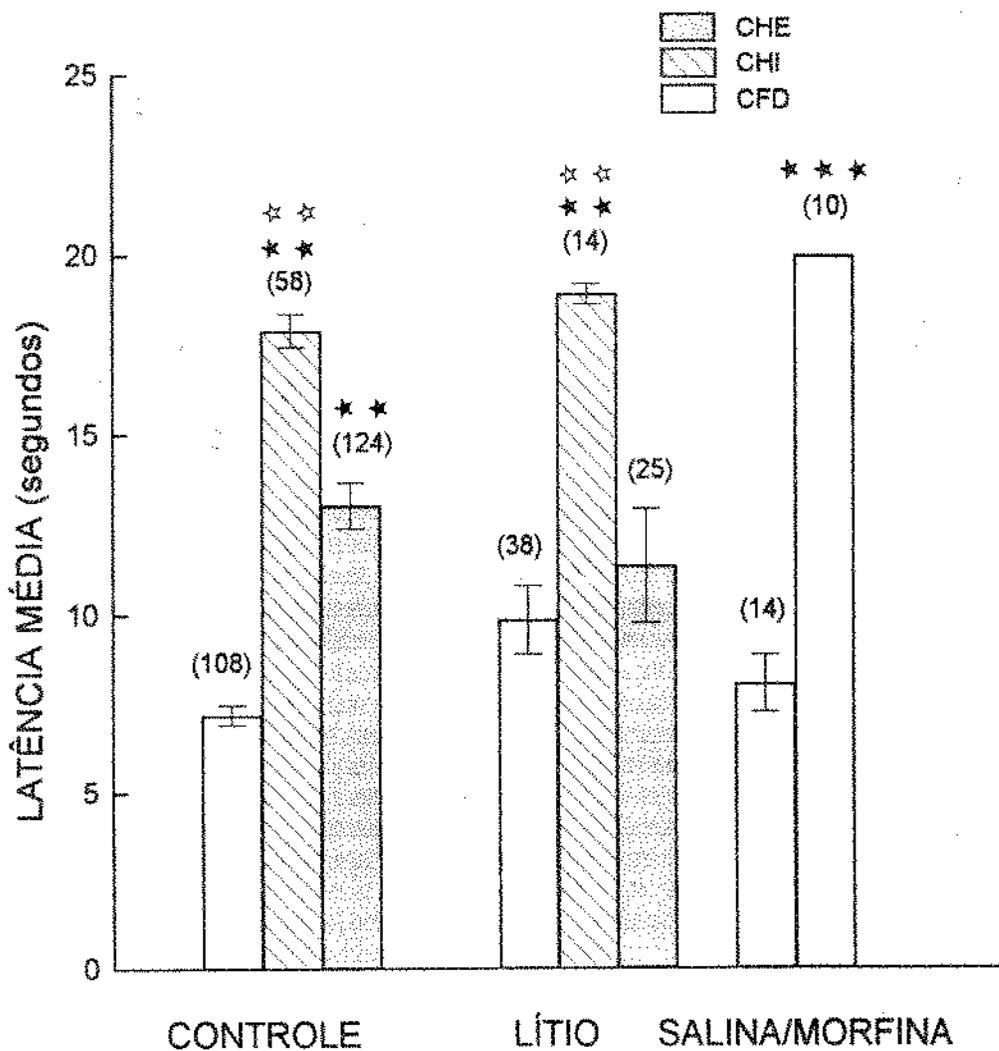


FIGURA 4: Efeitos dos choques ou morfina na hipotalgesia pós-treino. Média \pm EP da latência de analgesia (seg) de animais tratados cronicamente com lítio ou água (controle), imediatamente após a sessão de choques inescapáveis (CHI), escapáveis (CHE) ou de confinamento (CFD). A fim de comparação acrescentamos dois grupos que receberam injeção sc de salina ou morfina (4 mg/Kg), 30 minutos antes do confinamento. Os valores entre parênteses representam o número de animais utilizado por grupo.

Observamos *** $P \leq 0,001$ e ** $P \leq 0,01$ em relação ao respectivo grupo CFD; e ** $P \leq 0,01$ em relação ao respectivo grupo CHE.

estatisticamente significantes [$F(2,74) = 11,47; P \leq 0,001$]. Seguindo-se o teste de Duncan, verificou-se que a exposição a choques inescapáveis produziu níveis de analgesia maiores em relação aos grupos confinado ($P \leq 0,01$) e escapável ($P \leq 0,01$). Por outro lado, as respostas de retração da cauda do grupo escapável foram similares às do grupo confinado.

O aparelho "Tail-Flick" foi capaz de detectar uma marcante reação analgésica produzida pela administração de morfina na dose de 4 mg/Kg (sc) em relação ao grupo salina ($t = 14,9297; GL = 22; P \leq 0,001$), de forma que tal reação atingiu níveis máximos de analgesia, ou seja, todos os 10 animais utilizados neste grupo responderam com latências de 20 segundos para a retração da cauda.

A Figura 5 apresenta latências médias de analgesia, 24 horas após a sessão de treino, de ratos tratados cronicamente com lítio ou apenas água (controle).

Analisando-se os grupos controle, observou-se que os três grupos experimentais, CHI, CHE e CFD, não diferiram estatisticamente entre si, os quais apresentaram latências médias de analgesia similares, entre 8 e 10 segundos.

Na análise dos grupos tratados com lítio crônico, verificou-se através da análise de variância que as diferenças nas latências de analgesia entre os tratamentos com choques e o confinamento são estatisticamente significantes [$F(2,30) = 82,37; P \leq 0,001$]. O teste de Duncan revelou que o tratamento com choques inescapáveis produziu níveis de analgesia superiores aos encontrados em ratos expostos a choques escapáveis ($P \leq 0,01$) ou confinamento ($P \leq 0,01$). Por outro lado, o tratamento com choques escapáveis não diferiu estatisticamente do procedimento de confinamento, os quais apresentaram latências médias similares

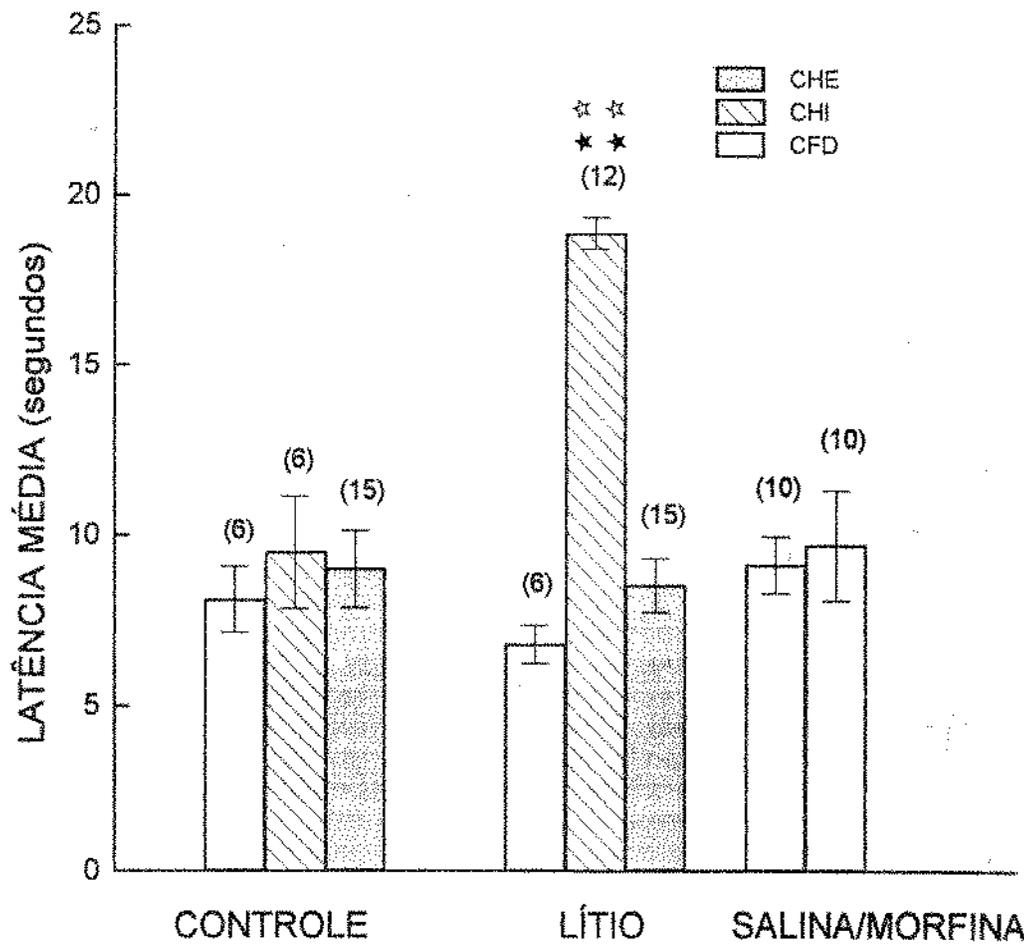


FIGURA 5: Hipoalgesia 24 horas após choques ou morfina. Média \pm EP da latência de analgesia (seg) de animais tratados cronicamente com lítio ou água (controle), 24 horas após a sessão de choques inescapáveis (CHI), escapáveis (CHE) ou confinamento (CFD).

A fim de comparação acrescentamos dois grupos que receberam injeção sc de salina ou morfina (4 mg/Kg), 30 minutos antes do confinamento. Os valores entre parênteses representam o número de animais utilizado por grupo.

Observamos ** $P < 0,01$ em relação ao respectivo grupo CFD; e * * $P < 0,01$ em relação ao respectivo grupo CHE.

para a retração da cauda.

Ratos injetados com 4 mg/Kg de morfina no dia anterior não eliciaram, espontaneamente, sem a apresentação do lembrete, uma resposta analgésica, visto que a latência média de retração da cauda deste grupo foi similar à do grupo injetado com salina, nas mesmas condições.

A Figura 6 mostra latências de analgesia medidas 24 horas após, no procedimento de lembrete, de animais expostos a choques inescapáveis, choques escapáveis ou ao confinamento, tratados cronicamente com lítio ou apenas água como fonte de bebida (controle).

Analisando-se os grupos controle, verificou-se através da análise de variância que as diferenças nas latências de analgesia observadas são estatisticamente significantes [$F(2,83) = 38,51; P \leq 0,001$]. O teste de Duncan revelou que o grupo exposto a choques inescapáveis apresentou o limiar de resposta à dor aumentado, ou seja, a latência para a retração da cauda foi maior, quando o comparamos aos grupos submetidos ao confinamento ($P \leq 0,01$) ou choques escapáveis ($P \leq 0,01$). Por outro lado, este último não diferiu estatisticamente do grupo confinado, os quais apresentaram níveis de analgesia semelhantes.

A análise de variância revelou que, sob o tratamento crônico de lítio, as diferenças nos níveis de analgesia observadas entre os grupos são estatisticamente significantes [$F(2,60) = 36,20; P \leq 0,001$]. O grupo inescapável repeliu a cauda em resposta ao calor mais lentamente em relação ao grupo confinado ($P \leq 0,01$) e

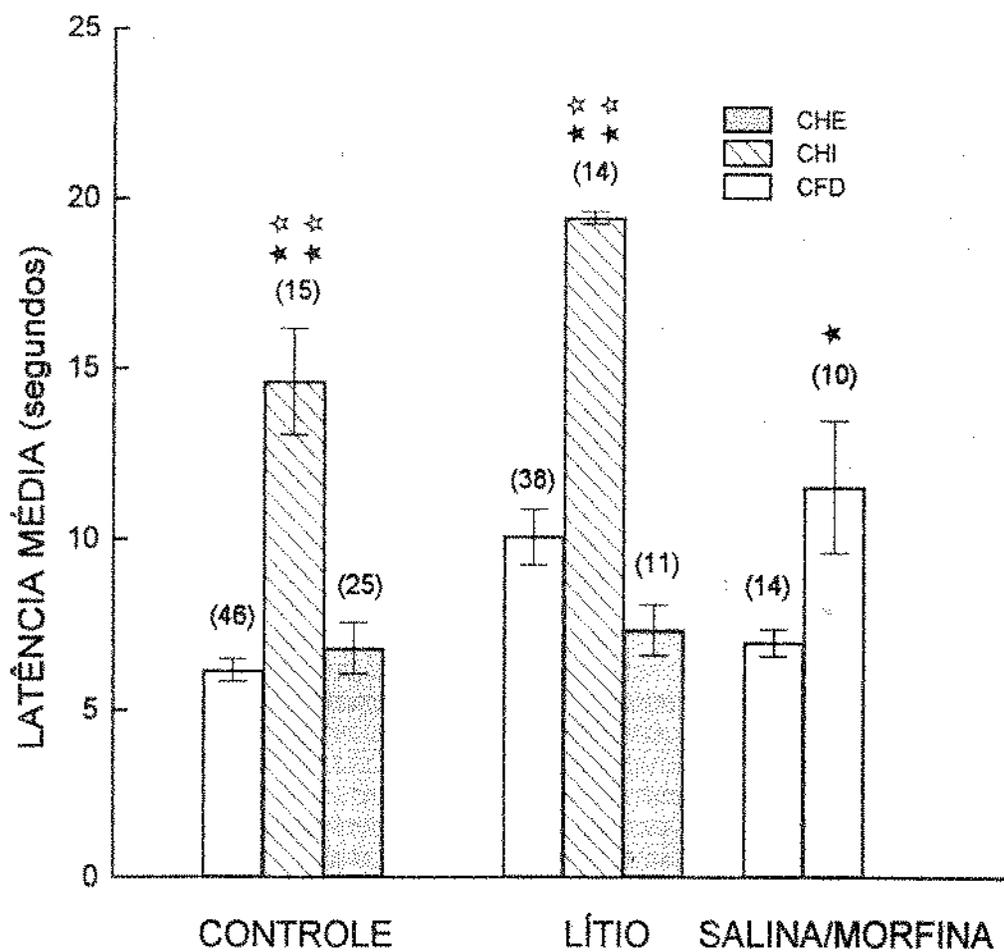


FIGURA 6: Efeitos dos choques ou morfina na hipoalgesia reinstalada pelo lembrete. Média \pm EP da latência de analgesia (seg) de animais tratados cronicamente com lítio ou água (controle), no lembrete, 24 horas após a sessão de choques inescapáveis (CHI), escapáveis (CHE) ou confinamento (CFD).

A fim de comparação acrescentamos dois grupos injetados com salina ou morfina (4 mg/Kg), 30 min. antes da sessão de confinamento (CFD). Os valores entre parênteses representam o número de animais utilizado por grupo.

Observamos ** $P \leq 0,01$ e * $P \leq 0,05$ em relação ao respectivo grupo CFD; e ** $P \leq 0,01$ em relação ao respectivo grupo CHE.

escapável ($P \leq 0,01$), indicando aumento estatisticamente significativo no seu limiar da dor. Por outro lado, o grupo escapável não diferiu estatisticamente do grupo confinado, apresentando latências médias de resposta semelhantes.

Quanto aos grupos injetados, 24 horas antes, na sessão de treino, observou-se que a analgesia foi restabelecida no grupo morfina, o qual apresentou latência média de analgesia maior em relação ao grupo salina ($t = 2,2840$; $GL = 22$; $P \leq 0,04$).

A Figura 7 apresenta o tempo de duração da reação analgésica observada em ratos tratados cronicamente com lítio, submetidos a choques inescapáveis ou ao confinamento.

O grupo submetido a choques inescapáveis manifestou reação analgésica, quando o comparamos ao grupo confinado, imediatamente após a sessão de treino (0 h.) ($t = 7,1637$; $GL = 16$; $P \leq 0,001$), bem como nas 24 ($t = 15,5549$; $GL = 16$; $P \leq 0,001$), nas 48 ($t = 4,2298$; $GL = 10$; $P \leq 0,01$) e nas 72 ($t = 2,5450$; $GL = 10$; $P \leq 0,04$) horas após o treino. Esta reação analgésica desapareceu nas 96 horas após o treino, visto que não houve diferença estatística a partir deste período.

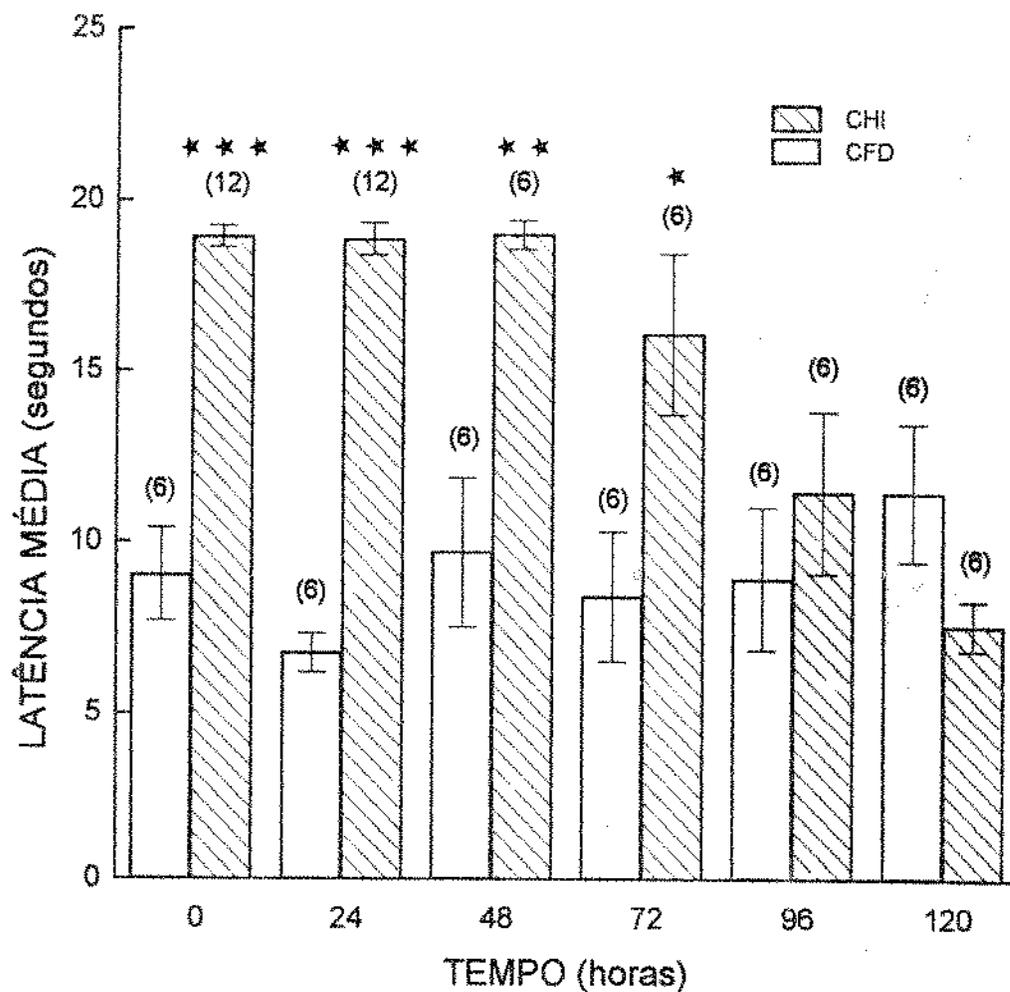


FIGURA 7: Evolução temporal da hipotalgesia provocada por choques inescapáveis no grupo lítio. Média \pm EP da latência de analgesia (seg) de animais tratados cronicamente com lítio, durante várias horas após a sessão de choques inescapáveis (CHI) ou confinamento (CFD).

Observamos *** $P \leq 0,001$; ** $P \leq 0,01$; e * $P \leq 0,05$ - em relação ao respectivo grupo CFD.

Os valores entre parênteses representam o número de animais utilizado por grupo.

5.3 - Dosagens bioquímicas

A tabela 1 apresenta as concentrações séricas de sódio, potássio e lítio de ratos previamente tratados durante 5 (agudo) ou 30 dias consecutivos (crônico) com solução de lítio, ou apenas água como fonte de bebida (controle), expostos a choques inescapáveis (CHI) ou ao confinamento (CFD).

Avaliando-se as concentrações séricas de sódio na tabela 1, constatou-se que estas não se apresentaram alteradas em função de qualquer tratamento. Isto é, a exposição a choques controláveis ou incontroláveis, não modificou os níveis de sódio no soro, desde que estes grupos não diferiram estatisticamente daquele exposto ao confinamento. O tratamento crônico de lítio também não alterou a homeostase do sódio, uma vez que todos os três grupos experimentais submetidos a este tratamento, CFD, CHI e CHE, apresentaram níveis séricos deste metal similares aos encontrados no soro dos respectivos grupos que bebiam água (controle). Da mesma forma, o tratamento agudo de lítio não produziu alterações significantes nos níveis de sódio no soro, quando analisou-se sob o regime de confinamento ou incontrolável, visto que os grupos CFD-lítio agudo e CHI-lítio agudo apresentaram concentrações séricas similares às encontradas nos grupos controle CFD e CHI, respectivamente.

Os níveis séricos de potássio dos grupos controle não foram alterados após a exposição a choques escapáveis ou inescapáveis, desde que não houve diferença estatisticamente significativa entre estes três grupos, CHE, CHI e CFD. Por outro lado, as concentrações de potássio no soro obtido de ratos tratados cronicamente

com lítio foram superiores às encontradas em animais que bebiam água; observou-se diferença estatisticamente significativa no confinamento ($t = 8,1320$; $GL = 66$; $P \leq 0,001$), sob a exposição a choques escapáveis ($t = 3,4807$; $GL = 24$; $P \leq 0,002$) ou choques inescapáveis ($t = 4,5833$; $GL = 61$; $P \leq 0,001$). Diferentemente, o tratamento agudo de lítio não foi suficiente em elevar significamente a concentração de potássio, visto que tanto o grupo CFD-lítio agudo, como o grupo CHI-lítio agudo não diferiram estatisticamente dos grupos controle CFD e CHI, respectivamente.

A exposição a choques inescapáveis ($t = 4,7059$; $GL = 99$; $P \leq 0,001$) ou escapáveis ($t = 3,7581$; $GL = 62$; $P \leq 0,001$), elevou os níveis séricos de lítio no soro de animais pré-tratados com lítio crônico, em relação ao grupo confinado.

O tratamento agudo de lítio, por outro lado, atingiu concentrações séricas desse íon similares às concentrações encontradas no tratamento crônico, desde que o grupo submetido ao confinamento e o grupo exposto a choques inescapáveis, tratados agudamente com lítio apresentaram níveis séricos de lítio similares aos níveis obtidos dos respectivos grupos CFD e CHI, tratados com lítio crônico.

Tabela 1: Dosagem sérica de metais (mEq/l). Média \pm d.p. das concentrações séricas de sódio, potássio e lítio de animais previamente tratados com solução de lítio 20 mN, durante 5 ou 30 dias consecutivos, ou sem qualquer tratamento (controle), e submetidos ao confinamento (CFD), choques inescapáveis (CHI), ou escapáveis (CHE).

Observamos *** $P \leq 0,001$ e ** $P \leq 0,01$ - em relação ao respectivo grupo controle e **a** = $P \leq 0,001$ - em relação ao respectivo grupo confinado. Os valores entre parênteses representam o número de animais utilizado por grupo.

grupo	SÓDIO	POTÁSSIO	LÍTIO
CFD	140,27 \pm 1,16	5,84 \pm 0,34	traços
CONTROLE	(15)	(15)	(15)
CHI	140,00 \pm 1,40	6,05 \pm 0,29	traços
CONTROLE	(15)	(15)	(15)
CHE	140,33 \pm 1,76	5,99 \pm 0,22	traços
CONTROLE	(15)	(15)	(15)
CFD	140,70 \pm 2,37	6,85 \pm 0,64	0,36 \pm 0,08
LÍTIO CRÔNICO	(53)	(53) ***	(53)
CHI	140,04 \pm 3,29	6,60 \pm 0,65	0,44 \pm 0,09
LÍTIO CRÔNICO	(48)	(48) ***	(48) a
CHE	140,82 \pm 2,40	6,62 \pm 0,57	0,45 \pm 0,07
LÍTIO CRÔNICO	(11)	(11) **	(11) a
CFD	140,02 \pm 2,04	6,22 \pm 0,67	0,38 \pm 0,07
LÍTIO AGUDO	(11)	(11)	(11)
CHI	141,27 \pm 2,05	6,29 \pm 0,62	0,42 \pm 0,08
LÍTIO AGUDO	(11)	(11)	(11)

6 - DISCUSSÃO

Primeiramente, foi demonstrado que é possível induzir o efeito de desamparo aprendido nas nossas condições metodológicas. Replicamos também os resultados anteriores deste mesmo laboratório, revelando que o tratamento crônico de lítio, em doses que forneciam níveis séricos de lítio dentro da faixa profilática (0,4 - 0,8 mEq/l) utilizada em clínica, é capaz de impedir a indução do desamparo aprendido em ratos (Faria & Teixeira, 1993).

Não utilizamos para o estudo de comportamento de fuga animais do grupo escapável, uma vez que a tarefa de saltar de um compartimento a outro já foi assimilada no dia do treino e, na ocasião do teste, estes animais simplesmente exprimem o desempenho de fuga com grande propriedade, representada por um platô de latências médias de fuga bastante reduzido, cujos valores estão entre 1 e 2 segundos.

Esta tarefa de fuga já não é mais, portanto, novidade para os animais do grupo escapável. Deste modo, utilizamos apenas animais dos grupos inescapável e confinado como sujeitos passíveis de experimentar a escapabilidade pela primeira vez.

À semelhança do que ocorre em clínica, a prevenção do desamparo aprendido (assim como de episódios depressivos) deveria ser efetiva em administrações crônicas de lítio. Nesse sentido, investigamos se ocorreria a prevenção desse fenômeno na vigência de tratamento agudo.

A Figura 1 mostra que o tratamento crônico de lítio preveniu o desamparo aprendido no grupo inescapável (CHI), o qual exhibe o mesmo comportamento de fuga do grupo confinado (CFD). Ambos os grupos aprenderam a escapar, isto é, com diminuição das latências médias de fuga durante a sessão de teste.

Em contraste, o tratamento agudo de lítio não impediu a indução do desamparo aprendido. O grupo CHI - lítio agudo apresentou latências superiores aos do respectivo grupo CFD para a emissão da resposta de fuga durante toda a sessão de teste, enquanto que este último as efetuou com maior brevidade.

Esta falha em prevenir o desamparo aprendido pelo tratamento agudo de lítio não foi consequência de níveis séricos de lítio inferiores à faixa profilática usada na prática médica (0,4 - 0,8 mEq/l), porque as concentrações séricas de lítio dos grupos CHI de tratamento agudo e crônico foram similares entre si e estavam dentro dessa faixa (Tabela 1). Além disso, tratamentos crônicos em clínica que fornecem concentrações séricas de lítio dentro dessa faixa são tão efetivos e ainda de menor incidência de efeitos colaterais, quanto níveis superiores a 0,8 mEq/l (Coppen & Abou-Saleh, 1988; Abou-Saleh & Coppen, 1989).

Concluimos que apenas o tratamento crônico de lítio preveniu o desempenho de fuga deficiente na caixa de alternância. O tratamento agudo de lítio não preveniu esse déficit comportamental, embora os animais apresentassem níveis séricos de lítio similares aos níveis encontrados no soro de ratos tratados cronicamente com lítio.

Nossos resultados reforçam ainda a validade preditiva do modelo desamparo aprendido, visto que, assim como na prática médica, o tratamento

crônico de lítio, mas não o agudo, foi eficiente em prevenir o déficit de fuga em ratos. Isto sugere que a eficácia do tratamento de lítio depende de sua cronicidade.

O desamparo aprendido é um fenômeno associado à SIA opióide-hormonal (MacLennan *et al.*, 1982b; Hemingway & Reigle, 1987), ou seja, a exposição de ratos a eventos aversivos incontroláveis é um importante fator relacionado com a ativação de SIA opióide-hormonal (Maier, 1986; MacLennan *et al.*, 1982b). Portanto, há uma relação entre o estado de desamparo e a ativação do componente opióide-hormonal. Investigamos aqui os impactos da manipulação no sistema opióide-hormonal sobre o modelo do desamparo aprendido.

A Figura 2 mostra os efeitos da administração de naltrexona antes da sessão de treino ou de teste, sobre o desempenho de fuga no desamparo aprendido, que acredita-se envolver, na sua indução e expressão, a participação do sistema opióide endógeno (Hemingway & Reigle, 1987; Drugan & Maier, 1983).

Durante o treino, a administração de naltrexona determinaria a participação de componentes opióides na aprendizagem de inescapabilidade.

Nossos resultados revelam que a administração de naltrexona antes da sessão de choques inescapáveis não bloqueou o déficit de fuga na caixa de alternância 24 horas depois.

Drugan & Maier (1980) demonstraram que a administração de naltrexona antes da sessão de choques inescapáveis foi capaz de bloquear a analgesia reinstalada de longa-duração que ocorre 24 horas depois, frente a apresentação dos choques breves nas patas. Este bloqueio foi dose-dependente, sendo que as doses

de 7 mg/Kg e 14 mg/Kg empregadas por esses pesquisadores bloquearam completamente tal analgesia.

Posteriormente, esses mesmos pesquisadores empregaram a dose de 14 mg/kg (sc) no estudo do desempenho de fuga de ratos expostos ao estresse inescapável. Foi observado que essa dose de naltrexona bloqueou parcialmente o déficit de fuga quando administrada antes da sessão de choques inescapáveis (Drugan & Maier, 1983).

A dose de 8 mg/Kg (ip) de naltrexona por nós utilizada corresponde portanto, ao bloqueio total da analgesia reinstalada de longa-duração, de acordo com os estudos de dose-resposta realizados por Maier *et al.* (1980) e Drugan & Maier (1983).

É possível que as discrepâncias observadas entre nossos resultados e os de Drugan & Maier (1983) sejam devidas às diferenças metodológicas, ou ainda ao sexo, a cepa e o peso dos animais. Em adição, é possível que uma dose superior à 8 mg/Kg possa impedir ou atenuar a indução do desamparo, nas nossas condições experimentais.

Por outro lado, a administração de naltrexona pré-teste foi capaz de impedir completamente a expressão do desamparo aprendido, visto que os ratos do grupo CHI apresentaram comportamento de fuga similar àquele apresentado pelo grupo CFD, quando ambos os grupos foram submetidos ao teste de fuga.

Concluimos que apenas a administração de 8 mg/Kg de naltrexona antes do teste impediu a expressão do desamparo aprendido, enquanto que a administração dessa mesma dose antes do treino não foi capaz de impedir a indução desse déficit

comportamental.

A Figura 3 mostra os efeitos de manipulações no sistema pituitária-adrenal no desamparo aprendido. Conforme já mencionado anteriormente, dexametasona é capaz de bloquear especificamente a hipófise anterior e, por conseguinte, inibir a liberação induzida pelo estresse do hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) e β -endorfinas (MacLennan *et al.*, 1982b; Guillemin *et al.*, 1977).

Nossos resultados mostram que a administração de 1 mg/Kg de dexametasona antes do treino não foi capaz de alterar a indução do desamparo aprendido. Similarmente, a administração dessa mesma dose de dexametasona pré-teste também não interferiu na manifestação deste fenômeno.

O bloqueio indireto da liberação de β -endorfinas pela dexametasona não alterou, portanto, a indução e expressão do desamparo aprendido. Ademais, a supressão da liberação de ACTH e β -endorfinas pela hipófise anterior, revela que a inibição conjunta dessas duas substâncias parece não ser importante no efeito de desamparo aprendido.

Há dados na literatura que colocam uma desvinculação do déficit de fuga e SIA de longa duração no caso de administração de dexametasona, embora ambos os efeitos sejam consequência da exposição a um evento aversivo incontrolável (Maier, 1986). A divergência desses dois efeitos comportamentais foi observada por MacLennan *et al.* (1982a), onde a remoção cirúrgica da glândula pituitária ou a supressão da pituitária anterior pela dexametasona antes da sessão de choques inescapáveis preveniu completamente a analgesia de longa-duração (MacLennan *et*

al., 1982a), mas não reduziu a magnitude do déficit de fuga na caixa de alternância (MacLennan *et al.*, 1982b). Entretanto, a hipofisectomia prejudicou o comportamento normal de fuga, desde que ratos hipofisectomizados apresentaram latências médias para terminar o choque (cruzar a caixa de alternância) superiores em relação às latências emitidas por ratos operados *sham*. Isto foi observado tanto em ratos expostos ao confinamento quanto em ratos expostos a choques inescapáveis. Esses autores discutem em termos de uma função do ACTH na mediação do comportamento normal de fuga, de modo que a deficiência desse hormônio provocaria uma lentidão para a emissão da resposta de fuga em ratos hipofisectomizados.

Portanto, embora SIA de longa duração seja opióide-hormonal, ou seja, sensível a manipulações no sistema pituitária-adrenal (Maier, 1986), o "deficit" de fuga, por outro lado, não é sensível à tais manipulações.

Nossos resultados indicam que a administração de 1 mg/Kg de dexametasona antes do treino ou teste não impediu a indução e expressão do desamparo aprendido.

Concluimos que o sistema pituitária-adrenal parece não desempenhar uma função crítica na mediação do desamparo aprendido, o que confere com as observações de MacLennan *et al.* (1982b).

Nossos resultados comportamentais demonstram que o efeito de desamparo aprendido foi insensível a manipulações sobre o sistema opióide-hormonal, quando administramos naltrexona ou dexametasona antes da sessão de treino, sugerindo, portanto, o não envolvimento desse sistema na indução do desamparo

aprendido. Por outro lado, a expressão deste déficit comportamental na sessão de teste foi sensível à manipulações sobre o sistema opióide, quando administramos naltrexona antes dessa sessão. Isto sugere, portanto, o possível envolvimento de peptídeos opióides nos mecanismos de memória que implicam na recuperação das informações aprendidas no treino.

Quanto às medidas analgesimétricas, iniciamos utilizando a morfina como substância ativadora do sistema opióide e como referência de resposta analgésica.

Na Figura 4, notamos que o estresse da exposição a choques escapáveis ou inescapáveis, assim com a administração de 4 mg/Kg de morfina diminui a sensibilidade/reactividade à dor desses animais logo após o treino, o que confere com outros autores (Maier, 1986; Amit & Galina, 1986).

A dose de 4 mg/Kg de morfina produziu uma franca reação analgésica. Considerando-se que a latência máxima para resposta (*cutoff*) foi de 20 segundos, e que todos os ratos apresentaram respostas máximas, é provável que a latência média deste grupo extrapolasse o valor de 20 segundos.

Concluimos, portanto, que a exposição a choques ou a administração de morfina na dose de 4 mg/Kg provocam analgesia logo após a sessão de treino.

A Figura 5 revela que a analgesia não se manifestou espontaneamente nos grupos controle e injetado, 24 horas após o treino, quando os ratos foram submetidos à simples medição de analgesia no aparelho "tail-flick".

Por outro lado, na vigência de tratamento crônico de lítio, a analgesia foi manifestada 24 horas após a sessão de choques inescapáveis, sem a apresentação

do lembrete. O lembrete não é, portanto, necessário para o restabelecimento da analgesia neste caso, ou seja, a analgesia provocada por choques inescapáveis é manifestada independentemente da ativação de processos de memória desencadeados pelo lembrete.

Além disso, esta analgesia é exclusiva de animais desamparados, sugerindo que o lítio possa agir sobre alterações comportamentais e fisiológicas específicas da situação de inescapabilidade.

Concluimos que, sob o tratamento crônico de lítio, a analgesia é manifestada espontaneamente em animais que receberam choques inescapáveis 24 horas antes, indicando que este regime de tratamento alterou a sensibilidade/reactividade à dor.

A Figura 6 mostra que a analgesia pode ser reinstalada pelo lembrete em animais que receberam previamente choques inescapáveis ou injeção de morfina. Isto sugere, em concordância com o trabalho de Jackson *et al.* (1979) e Grau *et al.* (1981), que a aplicação do lembrete é importante na reinstalação da analgesia produzida por estas duas manipulações.

Replicamos perfeitamente os resultados obtidos por Maier (1986), visto que o grupo que recebeu choques escapáveis (CHE), quando submetidos ao lembrete, não apresentou analgesia, contrapondo-se ao observado nos grupos CHI e morfina. O restabelecimento da analgesia pelo lembrete depende, portanto, da experiência prévia de inescapabilidade e não da mera exposição aos choques, desde que, ratos expostos a choques inescapáveis no dia anterior, tornaram-se analgésicos frente a apresentação dos choques breves nas patas, enquanto que ratos que receberam

choques escapáveis de parâmetros idênticos, não apresentaram reação analgésica.

Nossos resultados demonstram que o lembrete por si só não foi analgésico, o que confere com as observações de Jackson *et al.* (1979). Ratos do grupo controle confinados no dia do treino, quando expostos aos choques breves de 0,6 mA nas patas, apresentaram latências médias para a retração da cauda similares àqueles que não passaram por este procedimento. O lembrete, portanto, não alterou significativamente a sensibilidade/reatividade à dor de ratos confinados.

Grau *et al.* (1981) observaram que apenas ratos expostos previamente a 60-80 choques inescapáveis ou injetados com 4 mg/Kg de morfina, no dia anterior, tornaram-se analgésicos frente a apresentação dos choques breves nas patas. Esses autores discutem em termos de uma possível ativação do sistema opióide, em ambos os procedimentos, cuja ativação seria necessária para a produção de um sistema sensibilizado, de modo que a analgesia poderia ser reinstalada 24 horas depois pela exposição ao lembrete. Esses autores mostram que a ativação do sistema opióide é necessária e suficiente para a produção de SIA de longa duração. De acordo com esta afirmação, a SIA de longa duração por nós observada poderia ser então de natureza opióide, se a produção de tal analgesia requerer a ativação do sistema opióide. Além disso, esses autores sugerem que 60-80 choques inescapáveis e a administração de 4 mg/Kg de morfina poderiam ativar o sistema opióide, talvez por um mecanismo de facilitação da efetividade de opióides endógenos.

A analgesia reinstalada exclusiva da situação de inescapabilidade denota que a "percepção de controle" que o animal tem da situação é um fator importante

na determinação do tipo de analgesia observado (Maier, 1986; Maier, 1993). Ademais, há na literatura evidências que sugerem que esta reação analgésica, a qual está relacionada com a aprendizagem de inescapabilidade, possa ser de natureza opióide-hormonal (Maier, 1986; MacLennan *et al.*, 1982b).

Embora a analgesia que ocorre no grupo inescapável-controle possua as características de uma analgesia de natureza opióide, ou seja, somente é reinstalada 24 horas depois após a apresentação do lembrete e é específica do regime incontrolável (Jackson *et al.*, 1979), isto não implica necessariamente que em nossas condições ela seja opióide.

Futuros estudos serão necessários para elucidar a natureza dessa reação analgésica. Por exemplo, manipulações farmacológicas sobre o sistema opióide, como a administração de antagonistas opióides, ou a tolerância cruzada à morfina, poderão determinar se tal reação é opióide ou não opióide.

Notamos que a analgesia observada no grupo CHI - lítio crônico tem características diferentes da analgesia do grupo CHI - controle e do grupo morfina, visto que ela se manifestou independentemente da aplicação do lembrete.

Nossos resultados indicam que a analgesia foi reinstalada exclusivamente nos grupos inescapável e morfina (4 mg/Kg) 24 horas após a sessão de treino, através da breve reexposição aos choques nas patas (lembrete).

A Figura 7 mostra que, sob o tratamento crônico de lítio, a reação analgésica produzida por choques inescapáveis apresentou um tempo de decurso de 72 horas. Esta analgesia dissipou-se entre as 72 e 96 horas após o estresse inicial.

Estudos revelam que esse aumento no limiar à dor pode ser detectado em ratos que receberam apenas água, 48 horas após o estresse inicial, sendo que tal fenômeno desaparece 72 horas após (Maier, 1993). Esta reação dissipa-se entre as 48 e 72 horas, apresentando portanto, uma evolução temporal inferior ao verificado no tratamento crônico.

Nossos resultados indicam que a analgesia perdura até 72 horas no grupo CHI-lítio crônico.

Concluimos que, no geral, o tratamento crônico de lítio alterou o padrão de resposta analgésica induzida por choques inescapáveis, indicando que este tratamento exerce um efeito modulatório sobre esta resposta.

Na Tabela 1, observamos que a homeostase do sódio não foi alterada mediante a exposição a choques escapáveis ou inescapáveis, ou ainda sob o tratamento agudo ou crônico de lítio, uma vez que as concentrações séricas deste cátion mantiveram-se constantes sob quaisquer tratamentos.

Por outro lado, a homeostase do potássio foi alterada apenas pelo tratamento crônico de lítio, enquanto os outros regimes de tratamento, choques escapáveis, inescapáveis ou lítio agudo, não produziram alterações significativas. Platman e Fieve (1968) colocam que o lítio poderia deslocar o potássio intracelular e, em consequência, elevar seus níveis no soro. Pode ser que, no decorrer do tempo, o lítio vá promovendo um deslocamento gradual do potássio para fora da célula, promovendo, assim, o aumento de seus níveis séricos.

Quanto às concentrações séricas de lítio, replicamos os resultados de nosso laboratório, desde que a exposição a choques escapáveis ou inescapáveis elevou os

níveis séricos desse metal, demonstrada por concentrações superiores em relação ao grupo confinado. Além disso, os níveis séricos obtidos dos grupos escapável e inescapável estavam dentro da faixa profilática usada na prática médica.

Notamos que esse aumento sérico ocorreu em animais que passaram por duas sessões de choques, no caso do grupo escapável e inescapável. Observou-se também que essa alteração não foi exclusiva de ratos submetidos à indução do desamparo aprendido com choques inescapáveis no dia do treino, desde que ratos do grupo escapável também apresentaram níveis elevados em relação ao grupo confinado.

No caso do tratamento agudo, embora o grupo CHI houvesse passado por choques inescapáveis no treino, este apresentou níveis séricos de lítio similares àqueles encontrados no seu respectivo grupo confinado. Assim, a mera exposição aos choques inescapáveis não foi suficiente em elevar significativamente os níveis de lítio no soro.

Nossos resultados mostram que as alterações significativas nos níveis de lítio ocorreram apenas na combinação entre a exposição a duas sessões de choques e o tratamento crônico de lítio.

Observou-se que sob o tratamento crônico de lítio, o qual demonstra-se eficaz como estabilizador do humor em fases de mania ou depressão em humanos, assim como na prevenção do desamparo em ratos, ocorreram alterações farmacocinéticas desse metal em ambos os grupos chocados, escapável e inescapável. Similarmente, estudos em humanos indicam também alterações nos níveis séricos de lítio em episódios maníacos ou depressivos (Greenspan *et al.*,

1968; Kukopulos *et al.*, 1985). Assim, essa alteração farmacocinética ocorreu tanto em humanos quanto em ratos pré-chocados.

Por outro lado, a administração aguda de lítio mostrou-se ineficaz na prevenção do desamparo e não foi suficiente em produzir alterações significativas nos níveis de lítio no soro de ratos que receberam choques inescapáveis no dia do treino.

Entretanto, a resposta para esse aumento sérico de lítio em ratos pré-chocados permanece desconhecida. Portanto, futuros estudos deverão ser realizados para tentar elucidá-la, assim como sua possível relação com as alterações farmacocinéticas em humanos.

7 - CONCLUSÃO

Concluimos que apenas o tratamento crônico com lítio é capaz de prevenir o desamparo aprendido em ratos, visto que o tratamento agudo não o fez. Nossos resultados reforçam a validade preditiva do modelo, uma vez que, assim como na prática médica, o lítio é efetivo apenas sob o tratamento crônico.

Ambos os tratamentos apresentaram níveis séricos de lítio dentro da faixa profilática (0,4 - 0,8 mEq/l) utilizada em clínica, indicando que a falha do tratamento agudo de lítio em reverter o "deficit" de fuga não se deveu a níveis séricos deste metal inferiores à esta faixa. O tratamento crônico com lítio elevou os níveis séricos de potássio, alterando sua homeostase. As concentrações séricas de sódio mantiveram-se estáveis sob qualquer tratamento. Choques escapáveis ou inescapáveis aumentaram os níveis de lítio no soro.

Não constatamos envolvimento opióide-hormonal na indução do desamparo aprendido, quando utilizamos naltrexona ou dexametasona antes do treino. Por outro lado, a administração de naltrexona pré-teste, bloqueou o deficiente desempenho de fuga que se segue os choques inescapáveis, sugerindo, portanto, o envolvimento de peptídeos opióides nos mecanismos de memória que implicam na recuperação das informações aprendidas no treino, já que ocorreu piorado desempenho de fuga, nos tratamentos com antagonista pré-teste.

Nossos resultados demonstraram também que choques inescapáveis e escapáveis produzem hipoalgesia, a qual pode ser reinstalada apenas no grupo inescapável por breve reexposição aos choques, 24 horas depois.

O tratamento crônico com lítio produziu uma marcante e prolongada reação analgésica, a qual persistiu até 72 horas somente no grupo inescapável. Esta reação foi independente da reexposição aos choques.

Concluimos, finalmente, que o lítio exerce um efeito modulatório sobre o déficit de fuga e sobre a resposta analgésica produzida pela exposição a choques inescapáveis.

8 - TABELAS

Tabela 2: Latências de fuga durante o teste de fuga. Média \pm d.p. da latência de fuga (segundos) por bloco de 5 tentativas durante o teste de fuga. Os grupos foram submetidos, 24 horas antes, a uma sessão de choques inescapáveis (CHI), ou ao confinamento (CFD) e tratados da seguinte forma:

CONTROLE - receberam água como fonte de bebida;

LÍTIO CRÔNICO - receberam solução de lítio 20 mN durante 28 dias consecutivos pelo bebedouro; LÍTIO AGUDO - receberam solução de lítio 20 mN durante 5 dias consecutivos pelo bebedouro; NALTREXONA PRÉ-TREINO - injeção ip de naltrexona (8 mg/Kg) 1 hora antes do treino;

grupo	1	2	3	4	5	6
CONTROLE	12,01	8,95	5,01	2,58	2,16	1,62
CFD N=119	$\pm 6,17$	$\pm 6,88$	$\pm 3,45$	$\pm 1,39$	$\pm 1,40$	$\pm 1,04$
CONTROLE	18,65	17,48	13,96	12,32	12,02	11,54
CHI N=37	$\pm 7,94$	$\pm 9,97$	$\pm 10,88$	$\pm 11,91$	$\pm 11,79$	$\pm 12,30$
LÍTIO	12,64	9,76	7,47	5,43	3,65	2,59
CRÔNICO	$\pm 7,21$	$\pm 8,84$	$\pm 7,83$	$\pm 7,06$	$\pm 4,97$	$\pm 4,23$
CFD N=79						
LÍTIO	17,31	13,58	6,78	4,19	3,33	3,65
CRÔNICO	$\pm 8,13$	$\pm 9,27$	$\pm 4,89$	$\pm 3,54$	$\pm 2,92$	$\pm 4,76$
CHI N=48						
LÍTIO	11,64	5,28	5,23	2,61	1,85	1,43
AGUDO	$\pm 3,90$	$\pm 2,12$	$\pm 2,18$	$\pm 0,83$	$\pm 0,50$	$\pm 0,49$
CFD N=11						
LÍTIO	16,34	15,18	13,80	13,27	13,46	12,21
AGUDO	$\pm 6,27$	$\pm 8,27$	$\pm 10,47$	$\pm 10,88$	$\pm 11,16$	$\pm 12,22$
CHI N=11						
NALTREXONA	11,96	5,71	3,02	2,00	1,25	0,96
PRÉ-TREINO	$\pm 5,85$	$\pm 1,62$	$\pm 1,26$	$\pm 0,48$	$\pm 0,28$	$\pm 0,23$
CFD N=9						
NALTREXONA	19,01	14,77	12,74	10,06	9,95	10,39
PRÉ-TREINO	$\pm 6,65$	$\pm 8,73$	$\pm 8,21$	$\pm 7,84$	$\pm 9,57$	$\pm 9,50$
CHI N=17						

Tabela 3: Latências de fuga durante o teste (continuação). Média \pm d.p. da latência de fuga (segundos) por bloco de 5 tentativas durante o teste de fuga. Os grupos foram submetidos, 24 h antes, a uma sessão de choques inescapáveis (CHI), ou ao confinamento (CFD) e tratados com:

NALTREXONA PRÉ-TESTE - injeção ip de naltrexona (8 mg/Kg) 1 hora antes do teste;

DEXAMETASONA PRÉ-TREINO - injeção ip de dexametasona (1 mg/Kg) 2 horas antes do treino;

DEXAMETASONA PRÉ-TESTE - injeção ip de dexametasona (1 mg/Kg) 2 horas antes do teste;

NALTREXONA PRÉ-TESTE CFD N=6	18,14 \pm 2,66	10,99 \pm 1,47	4,09 \pm 1,28	2,50 \pm 0,60	2,35 \pm 0,27	2,39 \pm 1,14
NALTREXONA PRÉ-TESTE CHI N=10	22,11 \pm 6,25	14,27 \pm 6,83	5,86 \pm 2,98	4,15 \pm 1,89	3,77 \pm 1,46	2,74 \pm 0,87
DEXAMET. PRÉ-TREINO CFD N=11	6,74 \pm 1,78	4,58 \pm 2,07	3,42 \pm 1,48	2,82 \pm 1,22	1,65 \pm 0,52	1,61 \pm 0,44
DEXAMET. PRÉ-TREINO CHI N=11	17,75 \pm 6,87	14,54 \pm 8,54	10,60 \pm 10,12	10,58 \pm 10,34	10,63 \pm 10,48	9,76 \pm 10,86
DEXAMET. PRÉ-TESTE CFD N=5	6,56 \pm 1,61	5,28 \pm 3,86	2,46 \pm 0,85	2,64 \pm 1,17	1,59 \pm 0,61	1,35 \pm 0,57
DEXAMET. PRÉ-TESTE CHI N=16	25,46 \pm 5,97	20,28 \pm 9,98	14,09 \pm 9,21	12,05 \pm 10,15	10,40 \pm 9,51	9,11 \pm 9,73

Tabela 4: Analgesia pós-treino. Média \pm dp. da latência de analgesia (segundos) de animais tratados cronicamente com lítio ou água (controle), submetidos a choques inescapáveis (CHI), choques escapáveis (CHE), ou apenas confinamento (CFD).

A fim de comparação acrescentamos dois grupos que receberam injeção sc de salina ou morfina (4 mg/Kg), 30 minutos antes do confinamento.

Observamos **a** $P \leq 0,01$ e **b** $P \leq 0,001$ - em relação ao respectivo grupo confinado; e **c** $P \leq 0,01$ - em relação ao respectivo grupo CHE.

N representa o número de animais utilizado por grupo.

	CONTROLE			LÍTIO			INJETADO	
	CFD	CHI	CHE	CFD	CHI	CHE	SALINA	MORFINA
N	108	58	124	38	14	25	14	10
X	7,24	17,93 ^{a,c}	13,04 ^a	9,87	18,94 ^{a,c}	11,37	8,11	20,0 ^b
d.p	2,93	3,39	7,24	5,78	1,07	7,83	2,98	0,0

Tabela 5: Analgesia 24 horas após. Média \pm dp. da latência de analgesia (segundos) de animais tratados cronicamente com lítio ou água (controle), 24 horas após a sessão de choques inescapáveis (CHI), choques escapáveis (CHE), ou apenas confinamento (CFD).

A fim de comparação acrescentamos dois grupos que receberam injeção sc de salina ou morfina (4 mg/Kg), 30 minutos antes do confinamento.

Observamos **a** $P \leq 0,01$ - em relação ao respectivo grupo confinado; e **c** $P \leq 0,01$ - em relação ao respectivo grupo CHE.

N representa o número de animais utilizado por grupo.

	CONTROLE			LÍTIO			INJETADO	
	CFD	CHI	CHE	CFD	CHI	CHE	SALINA	MORFINA
N	6	6	15	6	12	15	10	10
X	8,13	9,51	9,02	6,81	18,91 ^{a,c}	8,53	9,13	9,71
d.p.	2,34	4,01	4,32	1,37	1,63	3,02	2,63	5,12

Tabela 6: Analgesia pós-lembrete. Média \pm dp. da latência de analgesia (segundos) de animais tratados cronicamente com lítio ou água (controle), submetidos ao lembrete e que receberam, 24 horas antes, choques inescapáveis (CHI), choques escapáveis (CHE), ou apenas confinamento (CFD).

A fim de comparação acrescentamos dois grupos que receberam injeção scde salina ou morfina (4 mg/Kg), 30 minutos antes do confinamento.

Observamos a $P \leq 0,01$ e * $P \leq 0,05$ - em relação ao respectivo grupo confinado; e e $P \leq 0,01$ - em relação ao respectivo grupo CHE.

N representa o número de animais utilizado por grupo.

	CONTROLE			LÍTIO			INJETADO	
	CFD	CHI	CHE	CFD	CHI	CHE	SALINA	MORFINA
N	46	15	25	38	14	11	14	10
X	6,20	14,63 ^{a,c}	6,84	10,09	19,48 ^{a,c}	7,39	7,03	11,57*
dp	2,37	6,03	3,75	4,99	0,70	2,42	^a 1,42	6,17

Tabela 7: Evolução temporal da analgesia do grupo CHI-lítio crônico.

Média \pm dp da latência de analgesia (segundos) de animais tratados cronicamente com lítio submetidos a choques inescapáveis (CHI) ou ao confinamento (CFD), sucedidos por medidas imediatamente após o treino (0 h.) e nas 24, 48, 72, 96 e 120 horas após.

Observamos *** $P \leq 0,001$, ** $P \leq 0,01$ e * $P \leq 0,05$ - em relação ao respectivo grupo confinado.

Os valores entre parênteses representam o número de animais utilizado por grupo.

	0 h.	24 h.	48 h.	72 h.	96 h.	120 h.
CHI	18,96***	18,91***	19,04**	16,12*	11,49	7,61
	$\pm 1,06$	$\pm 1,63$	$\pm 1,02$	$\pm 5,81$	$\pm 5,77$	$\pm 1,74$
	(12)	(12)	(6)	(6)	(6)	(6)
CFD	9,07	6,81	9,72	8,44	8,97	11,47
	$\pm 3,28$	$\pm 1,37$	$\pm 5,30$	$\pm 4,57$	$\pm 5,08$	$\pm 4,96$
	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)

9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abou-Saleh MT & Coppen A (1989). The efficacy of low-dose lithium: clinical, psychological and biological correlates. *Journal of Pshychiatric Research*, **23**(2): 157-162.
- Abramson LY, Garber J, Edwards NB & Seligman MEP (1978). Expectancy changes in depression and schizophrenia. *Journal of Abnormal Psychology*, **87**: 102-109.
- Amir S & Simantov R (1981). Chronic lithium administration alters the interaction between opiate antagonists and opiate receptor *in vivo*. *Neuropharmacology*, **20**: 587-591.
- Amit Z & Galina ZH (1986). Stress-induced analgesia: adaptive pain supression. *Physiological Reviews*, **66** (4): 1091-1120.
- Anisman H, deCatanzaro D & Remington G (1978). Escape performance following exposure to inescapable shock: deficits in motor response maintance. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, **4**(3): 197-218.
- Avner E, Graff E, Steiner M, Davidson S (1975). Intra/Extra red blood cell lithium and electrolyte distributions as correlates of neurotoxic reactions. In: *The impact of Biology on Modern Psychiatric*, Gershon ES, Belmaker RH, Kety

SS, Rosenbaum M (eds), Plenum Press, New York, pp 55-64.

Baldessarini RJ (1991). Fármacos e o tratamento de distúrbios psiquiátricos. In: *As Bases Farmacológicas da Terapêutica*. Goodman & Gilman (ed). Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p.253-287.

Ball R (1987). Opioid peptides and Psychiatric illness. *British Journal of Hospital Medicine*, January: 49-52.

Berger PA & Nemeroff CB (1987). Opioid peptides in affective disorders. In: *Psychopharmacology: The Third Generation of Progress*. Meltzer HB (ed). New York, Raven Press, p. 637-646

Bunney WEJ & Garland-Bunney BL (1987). Mechanisms of action of lithium in affective illness: Basic and clinical implications. In: *Psychopharmacology: The Third Generation of Progress*. Meltzer HB (ed). New York, Raven Press, pp. 553-565.

Blustein JE, Whitehouse WG, Calcagnetti DJ, Troisi II JR, Margules DL & Bersh PJ (1992). Reduction of learned helplessness by central administration of quaternary naltrexone. *Physiology & Behavior*, 51 (5): 1075-1078.

Bodnar RJ, Wallace MM, Kordower JH, Niliver G, Cort J & Zimmerman EA (1982). Modulation of nociceptive thresholds by vasopressin in the

- Brattleboro and the normal rat. *Annals of New York Academy of Science*, **394**: 735-739.
- Cade JFJ (1949). Lithium salts in the treatment of psychotic excitement. *Medical Journal of Australia*, **36**: 349-352.
- Calcagnetti DJ & Holtzman SG (1990). Factors affecting restraint stress-induced potentiation of morphine analgesia. *Brain Research*, **537**: 157-162.
- Chance WT, Krynock GM & Rosecrans JA (1978). Antinociception following lesion-induced hyperemotionality and conditioned fear. *Pain*, **4**: 243-252.
- Coppen A & Abou-Saleh MT (1988). Lithium therapy: from clinical trials to practical management. *Acta Psychiatrica Scandinava*, **78**: 754-762.
- D'Amour FE & Smith DL (1941). A method for determining loss of pain sensation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **72**: 74-79.
- d'Amore A, Chiarotti F & Renzi P (1992). High-intensity nociceptive stimuli minimize behavioral effects induced by restraining stress during the tail-flick test. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, **27**: 197-201.

- Davis GC, Bunney WEJ, De Fraités EG, Kleinman JE, van Kammen DP, Post RM & Wyatt RJ (1977). Intravenous naloxone administration in schizophrenia and affective illness. *Science*, **197**: 74-77.
- Depue RA & Monroe SM (1978). Learned helplessness in the perspective of the depressive disorders: Conceptual and definitional issues. *Journal Abnormal Psychology*, **87**:3-20.
- Drugan RC, Grau JW, Maier SF, Madden J & Barchas JD (1981). Cross tolerance between morphine and the long-term analgesic reaction to inescapable shock. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, **14**: 677-682.
- Drugan RC & Maier SF (1982). The nature of the activity deficit produced by inescapable shock. *Animal Learning and Behavior*, **10**: 401-406.
- Drugan RC & Maier SF (1983). Analgesic and opioid involvement in the shock-elicited activity and escape deficits produced by inescapable shock. *Learning and Motivation*, **14**: 30-47.
- Duncan DB (1955). Multiple range and multiple *F* tests. *Biometrics*, **11**: 1-42.
- Emrich HM, Höllt V, Kissling W, Fischler M, Laspe H, Heinemann H, von Zerssen D & Herz A (1979). β -endorphin-like immunoreactivity in

cerebrospinal fluid and plasma of patients with schizophrenia and other neuropsychiatric disorders. *Pharmacopsychiatric*, **12**: 269-276.

Fanselow MS & Helmstetter FJ (1988). Conditional analgesia, defensive freezing, and benzodiazepines. *Behavioral Neuroscience*, **102** (2): 233-243.

Fanselow MS (1986). Conditioned fear induced opiate analgesia: A competing motivational state theory of stress-analgesia. *Annals of New York Academy of Science*, **467**: 40-54.

Faria MS & Teixeira NA (1993). Reversal of learned helplessness by chronic lithium treatment at a prophylactic level. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **26**: 1201-1212.

Fieve RR (1970). Clinical controversies and theoretical mode of action of lithium carbonate. In: *Lithium: Clinical and Biological Aspects*. Freyhan FA (ed), New York, p.107-118.

Fieve RR (1980). The place of lithium in biological psychiatry. In: *Handbook of Lithium Therapy*. Johnson FN (ed), Baltimore, University Park Press, p.6-9.

Garrod AB (1959). *Gout and rheumatic gout*. Watson & Maberly (ed.), London.

- Grau JW, Hyson RL, Maier SF, Madden J & Barchas JD (1981). Long-term stress-induced analgesia and activation of an opiate system. *Science*, **203**: 1409-1412.
- Greenspan K, Goodwin FK, Bunney WE, Durell J (1968). Lithium ion retention and distribution. *Archives General Psychiatry*, **19** (6): 664-673.
- Guillemin R, Vargo T, Rossier J, Minick S, Ling N, Rivier C, Vale W, Bloom F (1977). β -endorphin and adrenocorticotropin are secreted concomitantly by the pituitary gland. *Science*, **197**: 1367-1369
- Hemingway RB & Reigle TG (1987). The involvement of endogenous opiate systems in learned helplessness and stress-induced analgesia. *Psychopharmacology*, **93**: 353-357.
- Hermini AH, Teixeira NA, Mendes VE, Pereira DG. Development of a software to control depression experiments through "The Learned Helplessness Model". In: *World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering*. Rio de Janeiro, outubro de 1994.
- Hughes J, Smith TW, Kosterlitz HW, Fothergill LA, Morgan BA & Morris HR (1975). Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. *Nature*, **258**: 577-579.

- Hunziker MHL (1992). Opiate nature of learned helplessness and stress-induced analgesia observed without re-exposure to shock. *Behavioral Pharmacology*, **3**: 117-121.
- Hyson RL, Ashcraft LJ, Drugan RC, Grau JW & Maier SF (1982). Extent and control of shock affects naltrexone sensitivity of stress-induced analgesia and reactivity to morphine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **17**: 1019-1025.
- Kramer CY (1956). Extension of multiple range tests to group means with unequal numbers of replications. *Biometrics*, **12**(3): 307-310.
- Jackson RL, Coon DJ & Maier SF (1979). Long-term analgesia effects of inescapable shock and learned helplessness. *Science*, **206**: 91-94.
- Jaffe JH & Martin WR (1991). Analgésicos opióides e antagonistas. In: *As Bases Farmacológicas da Terapêutica*. Goodman & Gilman (eds), Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p. 320-343.
- Jensen TS & Smith DF (1982). Effect of emotions on nociceptive threshold in rats. *Physiology & Behavior*, **28**: 597-599.
- Jensen TS & Smith DF (1981). The role of consciousness in stress-induced

analgesia. *Journal of Neural Transmission*, 52: 55-60.

Johnson FN & Cade JF (1975). The historical background of lithium research and therapy. In: *Lithium Research and Therapy*. Johnson FN (Ed). London, Academic Press, p.9-20.

Johnson FN (1984). An overview of lithium therapy. In: *The psychopharmacology of Lithium*. Johnson FN (ed), London, MacMillan Press, p. 1-5.

Kalvach Z & Chumchal O (1979). A case of trigeminal neuralgia treated with lithium carbonate. *Activas Nervosa Superior*, 21: 168.

Kocsis, O (1980). The clinical uses of lithium. Lithium in the acute treatment of mania. In: *Handbook of Lithium Therapy*. Johnson FN (ed), Baltimore, University Park Press, p. 9-17.

Kukopulos A, Minnai G, Muller-Oerlinghausen B (1985). The influence of mania and depression on the pharmacokinetics of lithium. A longitudinal single-case study. *Journal of Affective Disorders*, 8: 159-166.

Lewis JW, Cannon JT & Liebeskind JC (1980). Opioid and non-opioid mechanisms of stress analgesia: Assessment of tolerance and cross-tolerance with morphine. *Science*, 208: 623-625.

MacLennan AJ, Drugan RC, Hyson RL, Maier SF, Madden IV J, Barchas JD (1982a). Corticosterone: a critical factor in an opioid form of stress-induced analgesia. *Science*, **215**: 1530-1532.

MacLennan AJ, Drugan RC, Hyson RL, Maier SF, Madden J & Barchas JD (1982b). Dissociation of long-term analgesia and the shuttle box escape deficit caused by inescapable shock. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **96**(6): 904-912.

Maier SF & Seligman MEP (1967). Failure to escape traumatic shock. *Journal of Experimental Psychology*, **74**: 1-9.

Maier SF, Coon DJ, McDaniel MA & Jackson RL (1979). The time course of learned helplessness, inactivity, and nociceptive deficits in rats. *Learning and Motivation*, **10**: 467-487.

Maier SF, Davies S, Grau JW, Jackson RL, Morrison DH & Moye T (1980). Opiate antagonists and long-term analgesic reaction induced by inescapable shock in rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **94** (6): 1172-1183.

Maier SF (1986). Stressor controllability and stress-induced analgesia. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **467**: 55-72.

- Maier SF & Keith JR (1987). Shock signals and the development of stress-induced analgesia. *Journal of Experimental Psychology*, **13**: 226-238.
- Maier SF (1989). Determinants of the nature of environmentally induced hypoalgesia. *Behavioral Neuroscience*, **103** (1): 131-143.
- Maier SF (1990). Diazepam modulation of stress-induced analgesia depends on the type of analgesia. *Behavioral Neuroscience*, **104**: 339-347.
- Maier SF (1993). Learned helplessness: relationships with fear and anxiety. In: *Stress: An integrated approach*. Stanford C, Salman P (eds). New York, Oxford University Press, p. 207-243.
- Millington WR, McCall AL & Wurtman RJ (1979). Lithium and brain choline levels. *New England Journal of Medicine*, **300**: 196-197.
- Moye TB, Grau JW, Coon DJ & Maier SF (1981). Therapy and immunization of long-term analgesia in the rat. *Learning and Motivation*, **12**: 133-149.
- Moye TB, Hyson RL, Grau JW & Maier SF (1983). Immunization of opioid analgesia: effects of prior escapable shock on subsequent shock-induced and morphine-induced antinociception. *Learning and Motivation*, **14**: 238-251.
- Nahorski SR, Ragan CI & Challiss RAJ (1991). Lithium and the phosphoinositide cycle: an example of uncompetitive inhibition and its pharmacological consequences. *Tips*, **12**: 297-303.

- Nelson JC & Charney DS (1981). The symptoms of major depression. *American Journal of Psychiatry*, **138**: 1-13.
- Newman ME, Klein E, Birmaher B, Feinsod M & Belmaker RH (1983). Lithium at therapeutic concentration inhibits human brain norepinephrine-sensitive cyclic AMP accumulation. *Brain Research*, **278**: 380-381.
- Overmier JB & Leaf RC (1965). Effects of discriminative Pavlovian fear conditioning upon previously or subsequently acquired avoidance responding. *Journal of Comparative Physiological and Psychology*, **69**: 213-213.
- Overmier JB & Seligman MEP (1967). Effects of inescapable shock upon subsequent escape and avoidance learning. *Journal of Comparative Physiological and Psychology*, **63**: 23-33.
- Panerai AE, Bianchi M, Brini A, Sacerdote P (1987). Endogenous opioids and their receptors in stress-induced analgesia. *Polish Journal of Pharmacology and Pharmacy*, **39**: 597-607.
- Pasternak GW (1987). Opioid receptors. In: *Psychopharmacology: The Third Generation of Progress*. Meltzer HB (ed.). New York, Raven Press, p. 281-288.
- Pickar D, Naber D, Post RM, van Kammen DP, Kaye W, Rubinow DR, Ballenger JC & Bunney WEJ (1982). Endorphins in the cerebrospinal fluid of

- psychiatric patients. *Annals of the New York Academy of Science*, **398**: 399-412.
- Platman SR & Fieve RR (1968). Biochemical aspects of lithium in affective disorders. *Archives of General Psychiatry*, **19** (6): 659-663.
- Porro CA & Carli G (1988). Immobilization and restraint effects on pain reactions in animals. *Pain*, **32**: 289-307.
- Rapaport PM & Maier SF (1978). The effects of inescapable shock on food competition dominance in rats. *Animal Learning Behavior*, **6**: 160-168.
- Rosenblatt S, Gaull GE, Chanley JD, Rosenthal JS, Smith H & Sarkozi L (1979). Amino acids in bipolar affective disorders: increased glycine levels in erythrocytes. *American Journal of Psychiatry*, **136**: 672-674.
- Ryan SM & Maier SF (1988). The estrous cycle and estrogen modulate stress-induced analgesia. *Behavioral Neuroscience*, **102** (3): 371-380.
- Seligman MEP & Maier (1967). Failure to escape to traumatic shock. *Journal of Experimental Psychology*, **74**:1-9.
- Schou M (1958). Lithium studies. 3. Distribution between serum and tissues. *Acta Pharmacologica et Toxicologica*, **15**: 115-124.
- Schou M (1980). Lithium treatment of maniac-depressive illness. A practical

guide. *Basil. N. Y.*, pp.7.

Seligman MEP & Beagley G (1975). Learned Helplessness in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **88**: 534-541.

Seligman MEP, Rosselini RA, Kozak M (1975). Learned helplessness in rat: Reversibility, time course and immunization. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **88**:542-547.

Shayne CG Carrol SW (1994). Statistics for toxicologists. In: *Principles and Methods of Toxicology*. Haynes AW (ed.), 3ª edição, Haven Press, pp.221-274.

Soubrié P (1986). Reconciling the role of central serotonin neurons in human and animal behavior. *Behavioral and Brain Sciences*, **9**: 319-364.

Spiegel MR (1970). *Estatística*. Editora McGraw-Hill do Brasil.

Szuran T, Zimmerman E, Pliska V, Pfister HP, Welzl H (1991). Prenatal stress effects on exploratory activity and stress-induced analgesia in rats. *Developmental Psychobiology*, **24** (5): 361-372.

Terman GW, Shavit Y, Lewis JW, Cannon JT & Liebeskind JC (1984). Intrinsic mechanisms of pain inhibition and their activation by stress. *Science*, **266**: 1270-1277.

Tosteson CD (1981). Lithium and mania. *S. Americ.*, april: 164-174.

- Treiser S & Kellar KJ (1980). Lithium: effects on serotonin receptors in rat brain. *European Journal of Pharmacology*, **64**: 183-185.
- Urca G, Segev S & Sarne Y (1985). Stress-induced analgesia: its opioid nature depends on the strain of rat but not on the mode of induction. *Brain Research*, **343**: 216-222.
- Watkins LR, Cobelli DA, Faris P, Aceto MD & Mayer DJ (1982a). Opiate vs. non-opiate footshock-induced analgesia (FSIA): the body region shocked is a critical factor. *Brain Research*, **242**: 299-308.
- Watkins LR & Mayer DJ (1982b). Organization of endogenous opiate and non-opiate pain control systems. *Science*, **216**: 1185-1192.
- Watkins LR, Wiertelak EP & Maier SF (1992a). Kappa opiate receptors mediate tail-shock induced antinociception at spinal levels. *Brain Research*, **582**: 1-9.
- Watkins LR, Wiertelak EP & Maier SF (1992b). Delta opiate receptors mediate tail-shock induced antinociception at supraspinal levels. *Brain Research*, **582**: 10-21.
- Watkins LR, Wiertelak JE, Grisel LH, Silbert LH & Maier SF (1992c). Parallel activation of multiple spinal opiate systems appears to mediate "non-opiate" stress-induced analgesias. *Brain Research*, **594**: 99-108.
- Weiss JM (1968). Effects of coping responses on stress. *Journal of Comparative*

and Physiological Psychology, **65**:251-260.

Whitehouse WG, Blustein JE, Walker J, Bersh PJ, Margules DL (1985). Shock controllability and opioid substrates of escape performance and nociception: Differential effects of peripherally and centrally acting naltrexone. *Behavioral Neuroscience*, **99**: 717-733.

Wieland S, Boren JL, Consroe PF & Martin A (1986). Stock differences in the susceptibility of rats to learned helplessness training. *Life Science*, **39**: 937-944.

Williams JL (1982). Influence of shock controllability by dominant rats on subsequent attack and defensive behaviors toward colony intruders. *Animal Learning and Behavior*, **10**:305-315.

Williams JL, Drugan RC & Maier SF (1984). Exposure to uncontrollable stress alters withdrawal from morphine. *Behavioral Neuroscience*, **98**: 836-846.

Willner P (1990). Animal models of depression: An overview. *Pharmacology and Therapeutics*, **45**: 425-455.

Wood AJ & Goodwin GM (1987). A review of the biochemical and neuropharmacological actions of lithium. *Psychological Medicine*, **17**: 579-600

Zar JH (1941). Two-factor analysis of variance. In: *Biostatistical Analysis*, 2ª edição, Englewood Cliffs, Prentice Hall, pp. 206-235.