

CLAUDIA HERRERA TAMBELI

Cirurgiã - Dentista

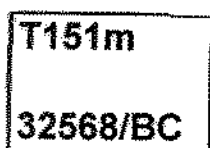
**MODULAÇÃO OPIÓIDE CENTRAL DA ATIVIDADE DOS
MÚSCULOS MASTIGATÓRIOS INDUZIDA PELA
ADMINISTRAÇÃO DE ÓLEO DE MOSTARDA NA
ARTICULAÇÃO TEMPOROMANDIBULAR DE RATOS.**

*Este exemplar foi
devidamente corrigido,
conforme Resolução CCPG/036/83.
Piracicaba, 04/12/97
Maurício*

Tese apresentada à Faculdade
de Odontologia de Piracicaba
da Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção do
grau de Doutor em Ciências,
área de concentração
Farmacologia e Terapêutica.

PIRACICABA - SP

1997



CLAUDIA HERRERA TAMBELI

Cirurgiã - Dentista

***MODULAÇÃO OPIÓIDE CENTRAL DA ATIVIDADE DOS
MÚSCULOS MASTIGATÓRIOS INDUZIDA PELA
ADMINISTRAÇÃO DE ÓLEO DE MOSTARDA NA
ARTICULAÇÃO TEMPOROMANDIBULAR DE RATOS.***

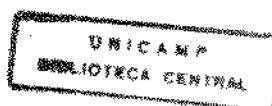
Tese apresentada à Faculdade
de Odontologia de Piracicaba
da Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção do
grau de Doutor em Ciências,
área de concentração
Farmacologia e Terapêutica.

Orientadora: Prof. Dra. Maria Cecília Ferraz de Arruda Veiga

Co - Orientador: Prof. Dr. Barry Sessle

PIRACICABA - SP

1997



1069036

UNIDADE	30
N.º CHAMADA:	7110104803-1
V.	Ex.
TOMBO BC	32568
PROC.	395198
C	D
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	06/04/98
N.º CPD	

CM-00104803-1

Ficha Catalográfica Elaborada pela Biblioteca da FOP/UNICAMP

T151m

Tambeli, Claudia Herrera.

Modulação opióide central da atividade dos músculos mastigatórios induzida pela administração de óleo de mostarda na articulação temporomandibular de ratos / Claudia Herrera Tambeli. - Piracicaba : [s.n.], 1997.

121f. : il.

Orientador : Maria Cecília Ferraz de Arruda Veiga, Barry Sessle.

Tese (doutoramento) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Articulação temporomandibular. 2. Opióide. I. Veiga, Maria Cecília Ferraz de. II. Sessle, Barry. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. IV. Título.

19.CDD - 612.88

Índices para o Catálogo Sistemático

1. Modulação da dor

612.88



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de **Doutorado**, em sessão pública realizada em 17/11/97, considerou o candidato aprovado.

1. Maria Cecília F. de Arruda Veiga

2. Eduardo Dias de Andrade

3. Jaime Aparecido Cury

4. José Vanderlei Menani

5. Luiz Eduardo Ribeiro do Valle

*É a crença na possibilidade de
realizar nossos sonhos
que desperta a energia e a criatividade para ir à luta
e mudar o mundo.*

*Quem crê na possibilidade,
vê as coisas acontecerem...*

Aos meus pais,

Obrigada....

Obrigada pela vida...

Obrigada por seus esforços e sacrifícios...

Obrigada pela força, coragem, incentivo e apoio...

Obrigada por me ajudarem a perseverar, desistir nunca!

A vocês que compartilharam meus ideais e meus sonhos,

E mesmo longe estavam sempre por perto

quando os ventos sopravam bem, e

quando os maus ventos sopraram...

dedico não só este trabalho,

mas as conquistas pessoal e profissional

que o mesmo me proporcionou.

DEDICATÓRIA

As minhas irmãs Márcia e Tânia,
pela amizade e companheirismo,

A minha sobrinha querida, Thaís, pelo amor e carinho.

AGRADECIMIENTO ESPECIAL

Dr. SESSLE,

your teachings exceed the science limits...

Thank you for the opportunity of learning
with you and with your group.

It was a pleasure to be part of your team.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A Profa. Dra. Maria Cecília Ferraz de Arruda Veiga,
grande mestra e amiga.

A *mestra* agradeço pela iniciação científica e
incentivo na carreira universitária,
a *amiga* pela força e comunhão de idéias.

Ao Prof. Dr. Jaime Cury,
respeitável Professor e admirável Pesquisador,
pela confiança, incentivo, apoio
e pela *grande* oportunidade,
muito obrigada.

AGRADECIMENTOS

To **Dr. Hu**, for your devotion, help and orientation.

Dr. Chiang, admirable scientist, and teacher, your knowledge, enthusiasm, and patience were a wonderful example.

To **Dr. Cairns**, for all of our scientific discussions, *meu amigo*.

To **Mr. K. Macleod** for your kindness, friendship, electronic technical assistance, and consultation.

To all good friends that I made at the lab and in Canada...

Ao **Prof. Dr. Alcides Guimarães**, Professor Titular da Área de Fisiologia e Biofísica, pela amizade e colaboração na revisão deste trabalho.

A mais nova companheira de trabalho, **Profa. Fernanda Kein Marcondes**.

Aos Professores da Área de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica, **Eduardo Dias de Andrade, José Ranali, Maria Cristina Volpato, Francisco Carlos Groppo, Pedro L. Rosalem e Thales Rocha de Mattos Filho**, pelos ensinamentos que consolidaram minha formação acadêmica e científica.

A **Senhora Shirley Rosana Sbravatti Moreto**, pela amizade, apoio, seriedade e eficiência admirável.

A **Senhora Míris Cristina Recchia, Senhorita Cibele Crisitna Rodrigues, e ao Senhor Carlos Alberto Feliciano**, pela boa vontade, e auxílio prestado sempre que solicitado.

A **CAPES**, pelo apoio financeiro (Bolsa de Estudos) sem a qual não teria sido possível a realização deste trabalho.

A **Lucia**, amiga desta passagem temporária e irmã de alma, por acompanhar todos os passos desta jornada. *Deus me abençoou com a sua amizade.*

Aos amigos de sempre, Francisco, Reginaldo, Luciane, Adriana, Rafael, Evanise e Maria Cristina, pelo carinho, apoio e incentivo.

SUMÁRIO

Páginas

Lista de abreviaturas	01
Lista de figuras	02
Lista de tabelas	04
RESUMO	08
1. INTRODUÇÃO	10
2. REVISÃO DA LITERATURA	13
2.1. Vias Neurais para Dor Orofacial	13
2.2. Inflamação e Dor	18
2.3. Mecanismos Opióides e Modulação da.....	23
Resposta Dolorosa	
3. MATERIAL E MÉTODOS	34
3.1. Preparo Cirúrgico	34
3.2. Registro da Atividade Eletromiográfica.....	40
3.3. Drogas Utilizadas	41
3.4. Protocolo Utilizado.....	42
3.5. Avaliação da Atividade eletromiográfica.....	45

3.6. Análise Estatística	47
4. RESULTADOS	48
4.1. Efeito da administração do OM na atividade.....	49
eletromiográfica dos músculos digástricos e	
masseteres	
4.2. Efeito da administração i.t. do antagonista.....	52
opióide inespecífico, Naloxona, na atividade	
eletromiográfica dos músculos digástricos e	
masseteres	
4.3. Efeito da administração i.t. do antagonista.....	57
opióide específico para o receptor <i>mu</i> , CTOP,	
na atividade eletromiográfica dos músculos	
digástricos e masseteres	
4.3.1. CTOP (0,06 µg)	57
4.3.2. CTOP (0,18 µg)	59
4.3.3. CTOP (0,60 µg)	62
4.4. Efeito da administração i.t. do antagonista.....	66
opióide específico para o receptor <i>delta</i> , NTL,	
na atividade eletromiográfica dos músculos	
digástricos e masseteres	
4.5. Efeito da administração i.t. do antagonista.....	71
opióide específico para o receptor <i>capa</i> ,	

norBNI, na atividade eletromiográfica dos
músculos digástricos e masseteres

4.6. Efeito da administração i.t. dos diferentes 75	75
antagonistas opióides	
5. DISCUSSÃO 78	78
6. CONCLUSÕES..... 89	89
7. APÊNDICE 90	90
8. SUMMARY..... 101	101
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 103	103

LISTA DE ABREVIATURAS

ATM	articulação temporomandibular
cnsttc	complexo nuclear sensorial trigeminal do tronco cerebral
cttc	complexo trigeminal do tronco cerebral
DCM	disfunção crânio mandibular
DTM	disfunção temporomandibular
i.c.v.	intracerebroventricular
i.t.	intratecal
mr	multireceptivo
ne	nociceptivo específico
nmr	núcleo magno da rafe
np	núcleo paragigantocelular
nmt	núcleo motor do trigêmio
nte	núcleo do tracto espinhal
om	óleo de mostarda
sc	subnúcleo caudalis
scp	substância cinzenta periaquedutal
si	subnúcleo interpolaris
SNC	sistema nervoso central
so	subnúcleo oralis

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	pag.	Título
1	36	Implantação de cateter para administração dos diferentes antagonistas opióides, via i.t.
2	38	Implantação de cateter na cápsula da ATM para administração de OM.
3	50	Alterações eletromiográficas desencadeadas pela administração de OM na ATM de ratos dos diferentes grupos experimentais.
4	53	Alterações eletromiográficas induzidas pela administração i.t. de naloxona (-) 30 minutos após a administração de OM na ATM, e isoladamente.
5	55	Alterações eletromiográficas induzidas pela administração i.t. de naloxona (-) e naloxona (+) 30 minutos após a administração de OM na ATM, e isoladamente.
6	58	Alterações eletromiográficas induzidas pela administração i.t. de CTOP, 0,06 µg, 30 minutos após a administração de OM na ATM.
7	61	Alterações eletromiográficas induzidas pela administração i.t. de CTOP, 0,18 µg, 30 minutos após a administração de OM na ATM, e isoladamente.

8	63	Alterações eletromiográficas induzidas pela administração i.t. de CTOP, 0,60 µg, 30 minutos após a administração de OM na ATM , e isoladamente.
9	67	Alterações eletromiográficas induzidas pela administração i.t. de NTI, 0,1 mg, 30 minutos após a administração de OM na ATM.
10	68	Alterações eletromiográficas induzidas pela administração i.t. de NTI, 0,5 mg, 30 minutos após a administração de OM na ATM, e isoladamente.
11	72	Alterações eletromiográficas induzidas pela administração i.t. de norBNI, 15 µg, 30 minutos após a administração de OM na ATM , e isoladamente.
12	76	Comparação do efeito recorrente desencadeado pelos diferentes antagonistas opióides.

TABELA	pag.	Título
1	51	Alterações eletromiográficas induzidas pela administração de OM na ATM, nos diferentes grupos.
2	54	Incidência dos efeitos recorrente ou excitatório da administração i.t. de naloxona na atividade dos músculos digástricos e masseteres.
3	56	Caracterização das alterações eletromiográficas induzidas pela administração i.t de naloxona.
4	64	Incidência dos efeitos recorrente ou excitatório da administração i.t. de CTOP em diferentes concentrações, na atividade eletromiográfica dos músculos digástricos e masseteres.
5	65	Caracterização das alterações eletromiográficas induzidas pela administração i.t de CTOP.
6	69	Incidência dos efeitos de recorrente ou excitatório da administração i.t. de NTI em diferentes concentrações, na atividade eletromiográfica dos músculos digástricos e masseteres.
7	70	Caracterização das alterações eletromiográficas induzidas pela administração i.t de NTI.

8	73	Incidência dos efeitos de recorrente ou excitatório da administração i.t. de norBNI, na atividade eletromiográfica dos músculos digástricos e masseteres.
9	74	Caracterização das alterações eletromiográficas induzidas pela administração i.t de CTOP.
10	77	Comparação do efeito recorrente desencadeado pelos diferentes antagonistas opióides.
1.1	90	Valores individuais do efeito desencadeado pela administração de OM na ATM de ratos do grupo OM+naloxona (-).
1.2	90	Valores individuais do efeito desencadeado pela administração de OM na ATM de ratos do grupo OM+naloxona (+).
1.3	91	Valores individuais do efeito desencadeado pela administração de OM na ATM de ratos do grupo OM+CTOP (0,06 µg).
1.4	91	Valores individuais do efeito desencadeado pela administração de OM na ATM de ratos do grupo OM+CTOP (0,18 µg).
1.5	92	Valores individuais do efeito desencadeado pela administração de OM na ATM de ratos do grupo OM+CTOP (0,60 µg).
1.6	92	Valores individuais do efeito desencadeado pela administração de OM na ATM de ratos do grupo OM+NTI (0,1 mg).
1.7	93	Valores individuais do efeito desencadeado pela administração de OM na ATM de ratos do grupo OM+NTI (0,5 mg).

1.8	93	Valores individuais do efeito desencadeado pela administração de OM na ATM de ratos do grupo OM+norBNI (15 µg).
3.1	94	Valores individuais do efeito desencadeado pela administração i.t. de naloxona (-) na atividade dos músculos mastigatórios induzida pela administração de OM na ATM.
3.2	94	Valores individuais do efeito desencadeado pela administração i.t. isolada de naloxona (-) na atividade dos músculos mastigatórios.
3.3	95	Valores individuais do efeito desencadeado pela administração i.t. de naloxona(+) na atividade dos músculos mastigatórios induzida pela administração de OM na ATM.
5.1	95	Valores individuais do efeito desencadeado pela administração i.t. de CTOP (0,06 µg) na atividade dos músculos mastigatórios induzida pela administração de OM na ATM.
5.2	96	Valores individuais do efeito desencadeado pela administração i.t. de CTOP (0,18 µg) na atividade dos músculos mastigatórios induzida pela administração de OM na ATM.
5.3	96	Valores individuais do efeito desencadeado pela administração i.t. isolada de CTOP (0,18 µg) na atividade dos músculos mastigatórios.

5.4	97	Valores individuais do efeito desencadeado pela administração i.t. de CTOP (0,60 µg) na atividade dos músculos mastigatórios induzida pela administração de OM na ATM.
5.5	97	Valores individuais do efeito desencadeado pela administração i.t. isolada de CTOP (0,60 µg) na atividade dos músculos mastigatórios.
7.1	98	Valores individuais do efeito desencadeado pela administração i.t. de NTI (0,1 mg) na atividade dos músculos mastigatórios induzida pela administração de OM na ATM.
7.2	98	Valores individuais do efeito desencadeado pela administração i.t. de NTI (0,5 mg) na atividade dos músculos mastigatórios induzida pela administração de OM na ATM.
7.3	99	Valores individuais do efeito desencadeado pela administração i.t. isolada de NTI (0,5 mg) na atividade dos músculos mastigatórios.
9.1	100	Valores individuais do efeito desencadeado pela administração i.t. de norBNI (15µg) na atividade dos músculos mastigatórios induzida pela administração de OM na ATM.
9.2	100	Valores individuais do efeito desencadeado pela administração i.t. isolada de norBNI (15µg) na atividade dos músculos mastigatórios.

RESUMO

Já é conhecido na literatura, que a administração do antagonista opióide naloxona tanto via sistêmica (YU *et al.*, 1994) como i.t. (SEO *et al.*, 1995) promove uma recorrência de aumento de atividade eletromiográfica nos músculos mastigatórios reflexamente induzida pela administração do agente irritante e estimulante de fibras C, óleo de mostarda (OM), na articulação temporomandibular (ATM) de ratos.

Assim sendo, o objetivo deste trabalho foi testar o efeito da administração intratecal (i.t.), direta sobre o subnúcleo caudalis (Sc) do antagonista opióide não-seletivo, naloxona (30µg/30µl), testar a estereoespecificidade de seus efeitos nessa concentração, e verificar o envolvimento específico dos mecanismos opióides *mu*, *delta* e *capa* nesse efeito recorrente.

Para isso em 90 ratos anestesiados com uma mistura de halotano/NO₂/O₂, a atividade eletromiográfica foi registrada bilateralmente nos músculos digástrico (DIG) e masseter (MASS) por 20 minutos. Na sequência, o OM (20%, 20µl) foi administrado na ATM. Após 30 minutos, naloxona (30µg) ou seu isômero inativo naloxona (+) ou um dos antagonistas opióides específicos para o receptor *mu*, CTOP, (0,06; 0,18; 0,6µg), receptor delta, Naltrindole (0,1; 0,5 mg) ou para o receptor *capa*, norBNI (15µg) foi administrado (30µl, i.t.) e a atividade eletromiográfica foi continuamente registrada por mais 50 minutos. A atividade eletromiográfica posterior à administração de um dos diferentes antagonistas opióides foi comparada estatisticamente com a atividade eletromiográfica basal precedente à administração do OM para determinar a

ocorrência de aumento significativo na atividade eletromiográfica (teste Mann-Whitney, $p < 0,05$). A administração i.t. do antagonista opióide inespecífico, naloxona, induziu uma recorrência estereoespecífica de aumento de atividade eletromiográfica, significativo, no DIG ipsilateral (Ip.) (Média $\pm$ desvio padrão, $167,4 \pm 19,2\%$) e contralateral (Ct.) ($161,7 \pm 21,9\%$), no MASS Ip. ($153,1 \pm 27,3\%$) e Ct. ($124,6 \pm 12,7$) e a do antagonista opióide específico do receptor *mu*, CTOP ($0,18 \mu\text{g}$), nos MASS Ip. ($194,6 \pm 59,5\%$), DIG Ct. ($203,9 \pm 66,9\%$) e no DIG Ip. ($185,6 \pm 24,0$). Na concentração de $0,06 \mu\text{g}$, CTOP foi ineficaz em produzir o efeito recorrente e na de $0,60 \mu\text{g}$, não promoveu um aumento adicional no efeito observado na concentração de $0,18 \mu\text{g}$. A administração i.t. do antagonista opióide específico do receptor *capa*, norBNI, produziu uma recorrência de aumento de atividade eletromiográfica, significativo, no DIG Ip. ($131 \pm 11\%$) e MASS Ip. ($110 \pm 5\%$). Por outro lado, a administração de Naltrindole foi ineficaz em produzir o efeito recorrente nos músuclos estudados.

Os resultados evidenciam que a atividade muscular reflexamente induzida pela estimulação nociva da ATM, é modulada por um mecanismo opióide central, e apontam para o envolvimento específico do subtipo de receptor opióide *capa* e especialmente *mu*, na modulação desse reflexo nociceptivo.

1 - INTRODUÇÃO

As Disfunções Crânio Mandibulares (DCM) representam uma importante entidade clínica e comprometem a Articulação Temporo-mandibular (ATM) e/ou os músculos matigatórios. Embora a injúria ou a inflamação da ATM e/ou dos músculos, e a atividade muscular anormal sejam consideradas fatores importantes na fisiopatologia das Disfunções Têmporomandibulares (DTM), a patogênese, o diagnóstico e o tratamento destas, tem gerado grandes controvérsias no meio odontológico.

Dentre os fatores que limitam o esclarecimento dessas disfunções têm-se a falta de conhecimento dos mecanismos fisiológicos envolvidos, e a falta de modelos experimentais apropriados para o estudo das mesmas.

HAAS *et al.* (1991) desenvolveram um modelo experimental específico para o estudo das condições dolorosas associadas a processos inflamatórios agudos na ATM. O processo inflamatório foi induzido experimentalmente através da administração de óleo de mostarda (OM), um agente inflamatório e estimulante de fibras nervosas C (WOOLF & WALL, 1986; HANDWERKER & REEH, 1991).

Num estudo realizado recentemente, YU *et al.* (1994a) demonstraram que a administração de OM na ATM de ratos, promovia um aumento reflexo na atividade eletromiográfica dos músculos digástrico e masseter. No entanto, verificaram que esse aumento era reversível pois, aproximadamente 20 minutos após a administração de OM, a atividade eletromiográfica retornava ao nível basal de repouso, mesmo na vigência de um processo inflamatório.

Diante disso, os autores suspeitaram de que a excitação nervosa desencadeada pela administração de OM, deveria ativar algum mecanismo supressor que limitaria esse aumento observado na atividade eletromiográfica dos músculos mastigatórios.

O envolvimento de substâncias opióides endógenas no processo de modulação da sensação dolorosa já é bem conhecido na literatura. No entanto, pouco se conhece a respeito dos efeitos centrais destas substâncias no Sistema Trigeminal em resposta a estímulos aplicados a tecidos profundos, como a ATM, associados a processos inflamatórios.

Assim sendo, YU *et al.* (1994b), demonstraram que a administração sistêmica do antagonista opióide naloxona, 30 minutos após a administração de OM na ATM, período em que o primeiro aumento induzido pelo OM já havia desaparecido, promovia um segundo aumento na atividade eletromiográfica dos músculos mastigatórios. Este segundo aumento, observado na atividade eletromiográfica após a administração de naloxona, foi definido como efeito recorrente.

Com esse trabalho, os autores demonstraram o envolvimento de um mecanismo opióide supressor nas condições dolorosas associadas a processos inflamatórios agudos da ATM.

Como as alterações neuromusculares associadas à injúria e à inflamação podem estar associadas a várias condições dolorosas craniofaciais, incluindo as DTM e a dor miofacial, o desenvolvimento de trabalhos que pudessem caracterizar os fenômenos básicos desse mecanismo opioide supressor, recrutado por um processo inflamatório agudo e doloroso da ATM, que limita a atividade dos músculos mastigatórios, poderia esclarecer alguns mecanismos associados a esse fenômeno e proporcionar uma melhor compreensão dos processos neuroquímicos envolvidos no

mecanismo de modulação das condições dolorosas craniofaciais agudas dos tecidos profundos.

Diante disso, com o objetivo de testar a hipótese de que o aumento reflexo da atividade eletromiográfica dos músculos digástrico e masseter desencadeado pela administração do agente inflamatório e estimulante de fibras C, OM, na ATM de ratos é modulado por um mecanismo opióide supressor central, propusemo-nos no presente trabalho a:

Verificar, em ratos,

1 - O efeito da administração intratecal (i.t.) de naloxona, um antagonista opióide inespecífico, nas alterações eletromiográficas dos músculos digástricos e masseteres induzidas pela administração de OM na ATM,

2 - Testar a estereoespecificidade dos efeitos da naloxona, e

3 - Utilizar antagonistas opióides específicos para os receptores opióides *mu*, *capa* e *delta* para verificar qual (is) subtipo (s) estaria envolvido (s) na modulação desse reflexo nociceptivo.

2 - REVISÃO DA LITERATURA

2.1 - VIAS NEURAIS PARA DOR OROFACIAL.

A dor proveniente da região orofacial corresponde a mais de 25% dos casos de reclamação de dor (SESSLE, 1987; LOE, 1993,). Para sua melhor compreensão é necessário conhecer os mecanismos neurais básicos através dos quais ela é processada.

Segundo SESSLE (1986), em um trabalho de revisão, muitas terminações nervosas livres atuam como nociceptores, ou seja, receptores ou órgãos sensoriais sensíveis a estímulos nocivos. A ativação dos nociceptores por sua vez, pode levar à excitação de fibras nervosas aferentes transmitindo ao Sistema Nervoso Central (SNC), informações sensoriais e discriminativas sobre as características espacial e temporal de um estímulo nocivo, o que é essencial para discernir sua qualidade, intensidade, duração e localização. A qualidade do estímulo parece ser codificada, periféricamente, pelo padrão de resposta do aferente nociceptivo determinado por um estímulo nocivo específico, e a intensidade e a duração, pelas alterações no padrão gradual da resposta. Por outro lado, a localização do estímulo está intimamente relacionada com o campo receptivo da fibra nervosa, que corresponde a área da pele, mucosa ou tecidos profundos, normalmente menor que 1 mm², a partir da qual uma fibra nervosa aferente ou um neurônio central e seus receptores associados, podem ser estimulados.

As terminações nervosas livres encontradas nos tecidos craniofaciais como pele, mucosa oral, ATM, polpa dental, periósteo, periodonto e músculos, estão associadas a fibras nervosas de pequeno diâmetro e baixa velocidade de condução, representadas pelas fibras

mielinizadas A delta e pelas fibras amielinizadas C. Essas duas classes de fibras nervosas aferentes nociceptivas, é que conduzem a informação nervosa dos nociceptores ao complexo nuclear sensorial do SNC (COOPER & SESSLE, 1992). Algumas fibras aferentes A delta e C respondem a estímulos térmicos (frio ou calor) ou táteis, no entanto, fibras aferentes mielinizadas mais grossas e rápidas, representadas pelas fibras A beta é que conduzem especificamente, a informação tátil e proprioceptiva de receptores mais complexos ao SNC.

As fibras nervosas aferentes nociceptivas têm sido classificadas em três tipos principais (DUBNER & BENETT, 1983):

1. A delta mecanotérmicas, que respondem a estímulos térmicos e mecânicos intensos,
2. Polimodais C, que são sensíveis a estímulos mecânicos, térmicos e químicos intensos e,
3. Mecanoreceptivas de alto limiar de excitabilidade, que respondem melhor a estímulos mecânicos intensos.

As informações sensoriais provenientes dos tecidos craniofaciais, são conduzidas ao complexo nuclear sensorial trigeminal do tronco cerebral (cnsttc), pelas fibras nervosas do nervo trigêmio através do gânglio gasseriano, onde o corpo destas fibras está localizado.

As propriedades eletrofisiológicas dos neurônios sensoriais trigeminais são de grande relevância, inclusive, eles tem sido classificados de acordo com as características de seu campo receptivo (SESSLE *et al.*, 1993), em:

1. nociceptivo específico (ne), que são sensíveis exclusivamente, a estímulos nocivos, sendo inervados por fibras A delta e C;

2. multireceptivo (mr) ou neurônios convergentes, que respondem tanto a estímulos não nocivos, do tipo tátil, como a estímulos nocivos, sendo inervados por fibras A beta, A delta e C;
3. mecanoreceptivo de baixo limiar, que são ativados apenas por estímulos táteis leves.

O cnsstc é subdividido em núcleo sensorial principal (nsp) e núcleo do tracto espinhal (nte) que é constituído pelos subnúcleos oralis (so), interpolaris (si) e caudalis (sc), (SESSLE, 1995a).

O sc, localizado como o próprio nome diz, na região mais caudal, é uma estrutura laminada que estende-se até a porção cervical da medula espinhal e se funde com o corno posterior da substância cinzenta da mesma. Ele contém neurônios nociceptivos que participam de vias reflexas e descendentes, e possui muitas características funcionais e morfológicas similares à dos neurônios do corno posterior da substância cinzenta da medula espinhal (DUBNER, 1986). Estudos realizados em gatos e macacos levaram-no a denominação de corno posterior bulbar (HOFFMAN *et al.*, 1981; HU *et al.*, 1981).

Vários estudos anatômicos têm-se concentrado nos mecanismos neurais envolvidos nas condições dolorosas craniofaciais provenientes de tecidos profundos (CAPRA, 1987; WILDENFALK & WIBERG, 1990; KIDO *et al.*, 1993).

Tem sido demonstrado, que a estimulação elétrica, mecânica nociva e química, das fibras nervosas aferentes que suprem a região do pescoço, mandíbula, músculos da língua, assim como a ATM, excita uma série de neurônios do sc (AMANO *et al.*, 1986; SESSLE *et al.*, 1986; BROTON *et al.*, 1988; KOJIMA, 1990). Esses efeitos excitatórios refletem o processo de convergência de fibras nervosas e são consistentes com as

evidências anatômicas de impulsos aferentes provenientes da ATM e dos músculos mastigatórios para o Sc (SHIGENAGA *et al.*, 1988; NAZRUDDIN *et al.*, 1989).

Na verdade, poucos neurônios parecem ser ativados, exclusivamente, por impulsos provenientes de tecidos profundos. Tem sido sugerido (DOSTROVSKY *et al.*, 1991; HU, 1990) que cerca de 50 a 60% dos neurônios nociceptivos do Sc parecem apresentar uma extensiva convergência de fibras nervosas aferentes, sendo elas provenientes da pele, da mucosa, da ATM, dos músculos mastigatórios, da língua, da polpa dental, do pescoço e de vasos da dura-máter. Isso explica, pelo menos parcialmente, a localização imprecisa de estímulos nocivos profundos, tais como aqueles envolvidos nas DTM e nos casos de dor miofacial (HU *et al.*, 1993; SESSLE *et al.*, 1993).

Essa extensiva convergência de impulsos nervosos aferentes também pode estar associada à dor referida, observada em várias condições dolorosas craniofaciais, como nas DTM e em muitos tipos de dores de cabeça. Muitos destes impulsos aferentes convergentes, podem ser demonstrados apenas através de estímulos elétricos, uma vez que estímulos naturais (táteis) dificilmente desencadeiam respostas nos neurônios provenientes das regiões supridas por essas fibras nervosas aferentes convergentes. Tais observações sugerem que estas conexões aferentes convergentes, relativamente ineficazes, podem constituir as bases científicas do processo de neuroplasticidade e “sensibilização central”, observado em situações de trauma periférico ou inflamação (DUBNER & RUDA, 1992).

Grande parte dos neurônios do cnsttc, projetam-se, diretamente ou indiretamente, para o complexo ventrobasal (núcleo ventroposterior), núcleo posterior e tálamo medial do tálamo contralateral, e a partir dessas regiões, a informação dolorosa é conduzida tanto, diretamente como

indiretamente, para o córtex cerebral que por sua vez, parece estar associado à localização e discriminação da resposta dolorosa.

2.2 - INFLAMAÇÃO E DOR.

As terminações nervosas nociceptivas podem ser sensibilizadas por uma série de estímulos nocivos. No entanto, a sensibilidade das mesma parece aumentar após injúria leve, por exemplo, o limiar de excitabilidade dos nociceptores pode ser diminuído por agentes químicos ou estímulos nocivos repetitivos. Esse aumento de responsividade é denominado de sensibilização periférica e parece ser o fator responsável pela hiperalgesia e alodinia (LAMOTTE *et al.*, 1991).

Os fenômenos que caracterizam a sensibilização periférica após trauma ou inflamação tecidual envolvem a liberação de uma série de substâncias neuroquímicas nos tecidos, como a bradicinina, íons potássio, a substância P, prostaglandinas, histamina e serotonina. E não só a liberação como a difusão dessas substâncias, constituem a base da excitação e sensibilização dos aferentes primários nociceptivos, contribuindo com a irradiação da dor a partir do sítio da injúria, e a subsequente inflamação do tecido adjacente.

WOOLF & WALL (1986), verificaram que a administração de OM (20%, alil isotiocianato dissolvido em óleo mineral), no tecido periarticular de joelho de rato, induzia uma atividade reflexa por 25 a 90 minutos. Outros autores, como MACMAHON & ABEL (1987), demonstraram uma infiltração de neutrófilos polimorfonucleares 1 h após a instilação de OM a 2,5 % na bexiga de rato.

Em se tratando de dor associada a inflamação da ATM, o trabalho de HAAS *et al.* (1992) é de grande relevância, pois propõem um modelo experimental em rato, de inflamação aguda na ATM. Para isso, os autores administraram OM na ATM de ratos anestesiados, e avaliaram os sinais de inflamação através do extravasamento plasmático do corante Azul

de Evans, tanto visualmente, como por meio de técnicas de espectrofotometria, e avaliaram a infiltração de neutrófilos polimorfonucleares, através de técnicas morfométricas.

Os resultados obtidos, demonstraram que o OM promoveu um aumento gradual no extravasamento plasmático de Azul de Evans, com pico máximo de 30 minutos após a administração do OM, e induziu a um aumento significativo na infiltração de neutrófilos polimorfonucleares.

A utilização do OM apresenta uma série de vantagens, uma vez que ele possui características específicas de um agente inflamatório, efetividade cientificamente comprovada, e efeito relativamente rápido, o que simplifica os procedimentos experimentais favorecendo a reprodutibilidade e as análises em curtos períodos de tempo.

A atividade das fibras nervosas trigeminais também pode ser alterada por trauma e inflamação. Tem sido demonstrado, que a administração de OM no músculo masseter profundo (HU *et al.*, 1992), assim como na ATM de ratos, (HU *et al.*, 1994), promove um aumento na atividade e alterações neuroplásticas, nos neurônios nociceptivos do Sc do NTE do cnsttc. Tais alterações neuroplásticas, caracterizadas pelo aumento do campo receptivo neuronal, pelo aumento de atividade espontânea, e pela excitabilidade aumentada aos estímulos apresentados, parecem representar um processo de sensibilização central, descrito anteriormente, nas vias nociceptivas espinhais (WOOLF, 1992). Estas alterações parecem contribuir com o aparecimento da hiperalgesia e da difusão da dor após a injúria de tecidos profundos ou após a inflamação (MENSE, 1993), e também, parecem estar intimamente envolvidas nas condições dolorosas craniofaciais, incluindo as DTM (SESSLE, 1995b).

Vale a pena ressaltar (YU *et al.*, 1993), que os impulsos provenientes de tecidos profundos, desencadeados por substâncias algésicas

como o OM, parecem ser, especialmente, mais efetivos que os cutâneos, na indução de alterações neuroplásticas nas vias nociceptivas trigeminais centrais. Tais alterações, explicariam pelo menos parcialmente, a maior complexidade dos distúrbios sensoriais que acompanham a injúria e a inflamação dos tecidos profundos em relação aos cutâneos (SESSLE & HU, 1991).

Embora os mecanismos envolvidos no processo de sensibilização central, documentado nos neurônios nociceptivos trigeminais, ainda não tenham sido totalmente estabelecidos, eles parecem envolver um aumento na excitabilidade neuronal, no número de impulsos periféricos desencadeados, e uma diminuição da inibição segmental e/ou descendente (CERVERO *et al.*, 1992; REN *et al.*, 1992; HOHEISEL *et al.* 1993).

As alterações neuromusculares também podem acompanhar a injúria e inflamação. Tem sido demonstrado que as alterações neuroplásticas induzidas pelo OM nos neurônios nociceptivos trigeminais, localizados no Sc, estão associadas a um aumento reflexo na atividade eletromiográfica dos músculos digástrico e masseter de ratos (YU *et al.*, 1994a). Esse aumento manifesta-se através da co-ativação de músculos elevadores e depressores da mandíbula e apresenta uma latência de alguns segundos e uma duração de 3 a 20 minutos.

HANNAM & SESSLE (1994), relataram, que o aumento concomitante da atividade eletromiográfica dos músculos elevadores e depressores da mandíbula, é de relevância clínica no sentido de imobilizar a mandíbula, e proteger a ATM nas condições de injúria ou inflamação na região temporomandibular.

O aumento na atividade eletromiográfica desencadeado pela aplicação de OM na ATM parece depender da integridade do Sc para ocorrer.

TSAI *et al.* (1994), demonstraram que lesões físicas ou químicas, caracterizadas por transecção cirúrgica do Sc do NTE ao nível do óbex, e por injeção de ácido ibotânico no Sc (destroe seletivamente os neurônios sem interromper o tracto espinhal trigeminal) respectivamente, reduziam de forma significativa o aumento de atividade eletromiográfica induzido pela administração do OM na ATM.

Ainda testando e confirmando o papel segmental do Sc, no aumento da atividade eletromiográfica dos músculos mastigatórios desencadeado pelo OM, os mesmos autores (1995), demonstraram que a microestimulação elétrica da referida região, produzia um efeito excitatório nos músculos digástrico e masseter. Observaram também, efeitos excitatórios semelhantes após microinjeção de glutamato, um aminoácido excitatório, na região do Sc, indicando que os neurônios e não as fibras de passagem correspondiam aos elementos críticos.

Tais pesquisas indicam que os neurônios do Sc produzem efeitos excitatórios nos músculos elevadores e depressores da mandíbula, em latências que sugerem vias multissinápticas ou de condução lenta do Sc para os motoneurônios que inervam os músculos digástrico e masseter. Outros trabalhos, demonstraram a existência de neurônios que se projetam, diretamente ou indiretamente, do Sc para o núcleo Motor do Trigêmio (NMT), (MIZUNO *et al.*, 1983; JACQUIN *et al.*, 1990). Diante disso, o Sc tem sido considerado uma região crítica, no processamento da resposta reflexa nociceptiva craniofacial, desencadeada por estimulação nociva de tecidos profundos (HU *et al.*, 1997).

O aumento da atividade eletromiográfica e as alterações neuroplásticas nos neurônios caudalis desencadeadas pelo OM, parecem envolver uma série de processos neuroquímicos. YU *et al.* (1996), demonstraram que, quando o antagonista do receptor NMDA, MK801, era

administrado tanto sistemicamente, como localmente, na região da ATM, 5 minutos antes da aplicação do OM no mesmo local, o aumento na atividade eletromiográfica era bloqueado, sugerindo que os receptores NMDA centrais e periféricos, podem estar envolvidos no início do desenvolvimento do processo de sensibilização central no sistema trigeminal.

Tem sido demonstrado também, (BAKKE *et al.*, 1996), através da administração intracerebroventricular (i.c.v.) dos antagonistas das taquiquininas, que os receptores da neuroquinina A, NK₂, mas não os da Substância P, NK₁, estão envolvidos no aumento da atividade eletromiográfica dos músculos digástrico e masseter, desencadeado pela administração de OM na ATM de ratos.

2.3 - MECANISMOS OPIÓIDES E MODULAÇÃO DA RESPOSTA DOLOROSA.

A descoberta dos peptídeos opióides endógenos na década de 70, resultou de um interessante processo de raciocínio. Uma vez que drogas opiáceas como a morfina atuavam no sistema nervoso de seres humanos, provavelmente deveriam existir receptores específicos para as mesmas.

A existência de tais receptores foi comprovada em 1973, quando PERT & SNYDER, demonstraram a existência de uma alta densidade de receptores opióides no corno posterior da substância cinzenta da medula espinhal. A seguir o raciocínio lógico. Porque existiriam receptores opiáceos no sistema nervoso humano? Certamente não teriam sido desenvolvidos para interagirem com substâncias exógenas, como os derivados da papoula.

Diante de evidências da possível existência de componentes endógenos similares à morfina, essas substâncias foram pesquisadas e encontradas.

Em 1975, HUGHES *et al.*, isolaram do cérebro de porco, a primeira classe de peptídeos opióides endógenos, as encefalinas (leu-encefalina, met-encefalina).

Posteriormente, SMYTHE & CHAO HO LI, isolaram as endorfinas (JESSEL & KELLY, 1991) e GOLDESTINE *et al.* (1979), a dinorfina.

Os peptídeos opióides endógenos apresentam funções adaptativas homeostáticas, sendo uma de suas principais propriedades, o seu efeito na anti nocicepção (MILLAN, 1986; DICHIARA & NORTH, 1992). Eles estão distribuídos no sistema nervoso e originam-se a partir da degradação de moléculas precursoras. A met e leu encefalina originam-se da

pró-encefalina, a β endorfina da pró-opiomelanocortina e a dinorfina da pró-dinorfina (KOOB, 1992).

Para exercerem seus efeitos fisiológicos, os peptídeos opióides endógenos se ligam a diferentes subtipos de receptores, que, no entanto, não são totalmente específicos para nenhum deles.

Os receptores opióides foram classificados em 3 principais subtipos, *mu*, *delta* e *capa*. Os receptores *mu* (μ) possuem alta afinidade de ligação pela morfina e β endorfina, os *delta* (δ) pelas encefalinas (met e leu), e os *capa* (κ) pela dinorfina. Tais receptores encontram-se distribuídos em várias regiões do SNC como nas lâminas I e II do corno posterior da substância cinzenta da medula espinhal, na substância cinzenta periaquedutal (scp), nos núcleos magno da rafe (nmr) e paragigantocelular (np) da medula rostroventral e sc, sendo que, todos eles estão implicados na modulação do processo doloroso (YOKOTA, 1985; YAKSH & STEVENS, 1988; FIELDS & BASBAUM, 1994, YAKSH & MALMBERG, 1994).

Os receptores μ são subdivididos em μ_1 e μ_2 (PASTERNAK & WOOD, 1986) sendo interessante de se notar que o receptor μ_2 liga-se preferencialmente, à morfina estando implicado numa série de efeitos colaterais desencadeados pela mesma, como depressão respiratória, inibição da motilidade gastro intestinal e vários sinais de dependência física. Dessa forma, tem sido desenvolvido uma série de estudos voltados ao desenvolvimento de substâncias que atuam, preferencialmente, nos receptores μ_1 , no sentido de se obter um efeito analgésico, com o mínimo de efeitos colaterais.

Com relação aos outros receptores, TRAYNOR (1989), classificou 3 subtipos diferentes de receptores *capa* e JIANG *et al.* (1991) relatou a existência de diferentes subtipos de receptores *delta*.

Vale a pena ressaltar que os receptores opióides de ratos e camundongos parecem ser, estruturalmente e farmacologicamente, idênticos aos receptores humanos, estabelecendo-se um importante elo de ligação entre os estudos em animais e a prática clínica (UHL *et al.*, 1994).

Os opióides modulam a resposta dolorosa através de 3 mecanismos de ação: pré-sináptico, pós-sináptico direto e pós-sináptico indireto (desinibição) e, através desses mesmos mecanismos, eles produzem os efeitos colaterais (DUGGAN & NORTH, 1984; DICKENSON, 1994).

Dados da literatura, como os relatados por BESSE *et al.* (1990), demonstram a existência de uma grande quantidade de receptores opióides em terminais nervosos pré-sinápticos. Tem sido demonstrado, através de estudos eletrofisiológicos, que os opióides inibem a liberação de neurotransmissores como glutamato e substância P, a partir dos terminais nervosos pré-sinápticos.

Os opióides podem atuar tanto nos terminais pré como pós-sinápticos, promovendo a abertura de canais de K^+ através da ativação de receptores μ e δ , e o fechamento dos de Ca^{++} via receptores κ (NORTH, 1989). Tanto a abertura dos canais de K^+ como o fechamento dos de Ca^{++} , promove uma redução no influxo de Ca^{++} no terminal pré e, conseqüentemente, na liberação do neurotransmissor, e uma hiperpolarização no terminal pós.

Os terminais das fibras C podem liberar uma série de substâncias, como taquiquininas, aminoácidos excitatórios (glutamato) e peptídeos que atuam em diferentes receptores pós-sinápticos. Conseqüentemente, a capacidade dos opióides de atuar a nível pré-sináptico e reduzir a liberação de uma série de mediadores, equivale ao bloqueio de

múltiplos receptores pós-sinápticos, motivo pelo qual eles constituem uma via de analgesia altamente efetiva (DICKENSON, 1997).

A ação pós-sináptica indireta dos opióides ocorre num circuito neuronal composto por duas fibras nervosas. Em geral, uma fibra nervosa inibitória gabaérgica da substância gelatinosa, e uma outra, que corresponde ao terminal pós-sináptico. Neste caso, os opióides inibem as fibras inibitórias gabaérgicas, permitindo que o terminal pós se torne ativo (MAGNUSON & DICKENSON, 1991). Assim sendo, estudos eletrofisiológicos demonstram que neurônios da substância gelatinosa podem ser facilitados por substâncias opióides.

O complexo trigeminal do tronco cerebral não comporta-se apenas, como uma estação de transmissão de impulsos nervosos, ele está sujeito a modulação.

CHIANG *et al.* (1994, 1995), estudando o envolvimento da área parabraquial e do nmr na modulação da atividade de neurônios nociceptivos do Sc, verificaram que, tanto a atividade neuronal espontânea, como a induzida por estimulação mecânica tecidual, ou por estimulação elétrica de fibras A e C cutâneas e profundas, eram comparavelmente, inibidas pela estimulação elétrica da área Parabraquial e do nmr.

Os estudos relacionados ao envolvimento de mecanismos opióides no processamento da resposta dolorosa a nível espinhal e trigeminal, tem-se referido aos efeitos da morfina, dos peptídeos opióides endógenos e ao papel dos circuitos neurais centrais nesses efeitos.

Segundo SESSLE (1996), a complexidade da organização do sistema trigeminal do tronco cerebral, caracterizada pela variedade de impulsos e interconexões existentes, é responsável pelas inúmeras interações entre os impulsos provenientes dos tecidos periféricos ou de regiões centrais intrínsecas, como por exemplo a substância gelatinosa do sc. Também é

responsável, pelas influências modulatórias ascendentes exercidas pelo sc sobre neurônios localizados rostralmente, no complexo trigeminal do tronco cerebral (cttc) e pelos impulsos descendentes do cortex cerebral, scp e NMR para os componentes rostral e caudal do cttc.

Ainda segundo o mesmo autor, as interações que ocorrem nesses componentes, podem envolver processos que favorecem a facilitação ou inibição de impulsos nociceptivos. Esses processos modulatórios, por sua vez, parecem envolver a participação de uma série de substâncias neuroquímicas endógenas, sendo que algumas delas, como a substância P e o glutamato apresentam influências facilitatórias na transmissão nociceptiva e outras, como as encefalinas, GABA, serotonina, influências inibitórias. O autor sugere também, que a analgesia produzida por microinjeção de substâncias opióides em regiões intracerebrais, como a scp, e o nmr, parece envolver a ativação de vias antinociceptivas, que possivelmente originam-se nessas regiões. Esses impulsos descendentes por sua vez, podem inibir a transmissão nociceptiva a nível da medula espinhal e do complexo trigeminal. A aplicação de opióides, diretamente na medula ou no complexo trigeminal, também pode induzir analgesia, provavelmente, através da ativação de receptores opióides associados a alguns desses impulsos descendentes, ou associados a neurônios opióides intrínsecos ao corno posterior da substância cinzenta da medula espinhal ou sc.

Uma série de trabalhos, tem evidenciado o envolvimento de mecanismos opióides, na modulação da transmissão nociceptiva no sistema trigeminal.

Tem sido demonstrado, que o efeito supressor sobre o reflexo de abertura bucal, assim como sobre os neurônios isolados do so (SESSLE & HU, 1981) e sc (SESSLE *et al.*, 1981) do sttc, desencadeado pela microestimulação elétrica do nmr e da scp, pode ser revertido pelo

antagonista opióide naloxona, sugerindo o envolvimento de mecanismos opióides endógenos.

HENRY *et al.* (1980), avaliaram os efeitos da administração iontoforética de morfina no sc, na resposta excitatória de neurônios nociceptivos do sc, induzida pela aplicação periódica de glutamato, controlada automaticamente. Os autores observaram que tanto o levorphanol, como a met encefalina e a β encefalina deprimiam a atividade neuronal.

A microinjeção de morfina no sc de macacos, treinados para detectar e discriminar estímulos térmicos nocivos (calor), também tem sido associada a uma redução na percepção da intensidade do estímulo (OLIVERAS *et al.*, 1986). Com esse trabalho, os autores demonstraram um efeito opióide, farmacologicamente específico, na modulação da intensidade da resposta dolorosa, numa das primeiras estações de transmissão que compõe a via de condução, deste tipo de informação.

As encefalinas e os agonistas dos receptores opióides *mu* DAMGO, mas não os do *delta* EPEPE, parecem inibir a atividade dos neurônios da substância gelatinosa do Sc do cnsttc, como demonstrado através de técnicas de registro intracelular por GRUDT & WILLIAMS (1994).

LUCCARINI *et al.* (1995), demonstraram uma redução na resposta desencadeada por estímulos faciais nocivos, após microinjeção de morfina no so.

Também existe uma série de evidências demonstrando a presença de peptídeos opióides endógenos e receptores opióides, no sc.

MATTHEWS *et al.* (1987), através de técnicas imunocitoquímicas, demonstraram a presença de encefalinas, em terminais axodendríticos e axosomáticos do sc e da porção ventral do so.

NISHIMOR *et al.* (1990), verificaram que a estimulação de aferentes trigeminais promove um aumento na expressão do RNAm de preproencefalina nos mesmos. Mais recentemente, EBERSBERGER *et al.* (1995) observaram, também no sc, que a expressão de c-fos, um marcador da atividade neuronal era reduzida por agonistas opióides, como a morfina.

Os trabalhos relacionados ao envolvimento de mecanismos opióides, em resposta a impulsos desencadeados por processos inflamatórios em estruturas profundas, são de grande relevância para a proposta do presente estudo.

PLANAS *et al.* (1995), demonstraram o envolvimento do sistema opióide endógeno na resposta fisiológica à injúria local, caracterizada pelo extravasamento plasmático em tecidos inflamados. Verificaram que o antagonista opióide naloxona, promove um aumento significativo no edema induzido pela administração subplantar de carrageína na pata traseira de ratos.

Autores como LOMBARD & BESSON (1989), têm demonstrado em ratos submetidos a um modelo experimental de artrite, que a administração sistêmica do antagonista opióide, naloxona (1mg/Kg, i.v.), induz a um aumento significativo na atividade de fibras C dos neurônios nociceptivos do corno posterior da substância cinzenta da medula espinhal. Trabalhos como este, assim como os de OSSIPOV *et al.* (1996); BORGBJERG (1996), sugerem a existência de um tônus opióide inibitório.

Os peptídeos opióides endógenos também parecem estar envolvidos na inibição do aumento reflexo da atividade eletromiográfica dos músculos mastigatórios desencadeada por processos inflamatórios na região craniofacial.

Tem sido demonstrado que o aumento reflexo da atividade eletromiográfica dos músculos digástrico e masseter, desencadeado pela

administração de OM no interior do primeiro molar superior (SUNAKAWA *et al.*, 1993) assim como na ATM de ratos (YU *et al.*, 1994b), é restabelecido, quando o antagonista opióide naloxona é administrado sistemicamente, 30 minutos após o OM.

SEO *et al.* (1995), demonstraram que a administração i.t. de naloxona, também 30 minutos após a de OM na ATM, produz um efeito de recorrência de aumento de atividade eletromiográfica dose dependente (1, 10 e 30 µg) na atividade dos músculos digástrico e masseter ipsilateral e contralateral à administração de OM.

A naloxona parece produzir efeitos de facilitação e de inibição no corno posterior da Substância Cinzenta da Medula Espinhal. Ela tem sido associada a diferentes respostas neuronais, a sinais de inibição, em neurônios localizados na porção superficial desta região (FILZGERALD & WOOLF, 1980) e de facilitação em neurônios localizados em lâminas mais profundas (MOKHA, 1992). Os autores demonstraram também, que tais efeitos eram estereoespecíficos, uma vez que naloxona (+), o isômero inativo da naloxona(-), não produzia as mesmas alterações desencadeadas pela mesma.

Segundo CATLEY *et al.* (1983), a administração sistêmica de morfina apresenta um efeito supressor sobre reflexos espinhais de coelhos. Os autores verificaram que tal efeito era revertido pela naloxona, e também, que a administração de naloxona mesmo na ausência de morfina, aumentava tais reflexos. Diante disso, os autores sugeriram que os peptídeos opióides são tonicamente liberados na medula espinhal de coelhos.

O antagonista opióide específico para o receptor *mu*, CTOP, também tem sido associado a efeitos excitatórios, como aumento na atividade locomotora de ratos (BADIANI, 1995).

A atual e recente disponibilidade de antagonistas específicos, para os diferentes subtipos de receptores opióides, tem propiciado o estudo do envolvimento destes, em diferentes condições dolorosas (NEGUS *et al.*, 1993; WATKINS *et al.*, 1992).

Segundo MILLAN (1989), os receptores opióides *mu* e *capa*, parecem estar envolvidos na antinocicepção associada a estímulo térmico nocivo.

HOPE *et al.* (1990), relataram que os receptores opióides *mu*, *delta* e *capa*, apresentam diferentes efeitos nociceptivos nos neurônios da porção superficial (lâmina I) e profunda (lâminas III-V) do corno posterior da substância cinzenta da medula espinhal.

GUIRIMAND *et al.* (1994), estudaram o efeito da administração i.t., na região do alargamento lombar da medula espinhal, de diferentes antagonistas opióides, na resposta reflexa do músculo bíceps femural, desencadeada por estimulação elétrica de fibras C do nervo sural. Observaram que, a administração de morfina inibia a resposta reflexa, e que essa inibição era, completamente, revertida pela administração i.t. de naloxona, CTOP (antagonista opióide *mu*), norBNI (antagonista opióide *capa*) , mas apenas, parcialmente, por Naltrindole (antagonista opióide *delta*).

STILLER *et al.* (1993), avaliaram o efeito da administração iontoforética do antagonista opióide *capa*, norBNI, antes e após o desenvolvimento de processo inflamatório induzido pela administração do adjuvante de Freund na pata traseira de rato. Os autores verificaram que, o antagonista opióide norBNI, promoveu um aumento na resposta neuronal, induzida pela aplicação de estímulo mecânico na articulação, em 37% dos neurônios do corno posterior da medula espinhal de ratos controle, e em 67% dos neurônios de ratos com inflamação. Os resultados demonstraram que a

resposta dos neurônios do corno posterior da substância cinzenta da medula espinhal, desencadeada por estímulos mecânicos, pode ser modificada por mecanismos opióides endógenos, associados aos receptores *capa*, particularmente, nas condições inflamatórias. Diante disso, os autores sugerem que as alterações observadas no sistema opióide, na vigência de um processo inflamatório, podem servir para contrabalancear a hiperexcitabilidade induzida pelo mesmo.

Num estudo eletrofisiológico, STANFA & DICKENSON (1994), demonstraram através da administração i.t. do antagonista opióide *capa*, norBNI, que os receptores *capa* podem induzir respostas, facilitatórias ou inibitórias, nos neurônios nociceptivos do corno posterior da substância cinzenta da medula espinhal após indução de inflamação, através da administração de carrageína na pata traseira de rato.

Considerando-se os resultados observados após aplicação direta dos agonistas opióides *capa* na medula espinhal, tem sido sugerido que a dinorfina, assim como outros agonistas opióides *capa*, parecem exercer diferentes efeitos na medula espinhal.

Segundo HYLDEN et al. (1989), esses efeitos incluem a expansão do campo receptivo neuronal, aumento na sensibilidade a estímulos mecânico e térmico em alguns neurônios e diminuição em outros. Esses dois tipos de respostas podem representar a ativação de populações neuronais distintas ou podem refletir a interação dos antagonistas em mais de um tipo de receptor.

Em relação à dor associada a inflamação, DUBNER & RUDA (1992) relatam que 4h após a indução de um processo inflamatório na pata traseira de rato através da administração do coadjuvante de Freund, há um aumento na expressão de RNAm de preprodinorfina, e que esse aumento,

está associado ao desenvolvimento de hiperalgesia, avaliada através de um modelo comportamental.

Apesar dos receptores *mu* e *delta* estarem envolvidos na modulação da resposta dolorosa como descrito anteriormente, relatos da interrelação dos mesmos com a dor inflamatória, dificilmente são encontrados na literatura.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

Para realização deste trabalho foram utilizados 90 ratos machos (Sprague-Dawley) pesando entre 300 a 400g , provenientes do Biotério Central da Universidade de Toronto.

Os animais foram mantidos em condições controladas de temperatura, umidade e claridade (ciclos claro/escuro de 12h), sendo oferecida alimentação e água, “ad libitum”.

Toda experimentação animal foi aprovada pelo Comitê de Vigilância Animal da Universidade de Toronto.

3.1 - PREPARO CIRÚRGICO.

Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados sob efeito de anestesia geral, induzida e mantida por uma mistura gasosa de 1/3O₂-2/3NO₂ e halotano a 5 e 1,5%, respectivamente, segundo LE BARS *et al.* (1979).

Sob efeito anestésico, introduziu - se uma sonda na região retal do rato para monitoramento da temperatura corporal e prevenção de hipotermia.

Essa sonda era conectada a um termostato, de forma que, a queda de temperatura para valores abaixo de 37°C acionava um mecanismo que aquecia um cobertor elétrico sobre o qual o animal encontrava -se, mantendo -se assim, um controle refinado de sua temperatura corporal.

Logo após, a veia e a artéria femural direita foram expostas cirurgicamente e canuladas para administração de drogas e monitoramento da pressão arterial, respectivamente.

De acordo com o método utilizado no laboratório do Dr. Sessle (HU *et al.*, 1993; YU *et al.*, 1994a) um par de eletrodo eletromiográfico bipolar (um fio de aço inoxidável revestido por teflon com a ponta exposta cerca de 0,5-1 mm e de calibre 38-40) foram inseridos nos músculos digástrico direito e esquerdo.

A seguir, o animal foi submetido a ventilação artificial. Para isso, após exposição cirúrgica da traquéia, realizou-se traqueostomia e inseriu-se uma canula traqueal. Para monitoramento da frequência cardíaca introduziu-se um eletrodo (um fio de aço inoxidável, 10 cm) na pele do animal, tanto do lado direito como esquerdo, próximo à região cardíaca. O sinal eletrocardiográfico foi amplificado e observado em Osciloscópio (marca - Hitachi, modelo-V-509).

Na sequência, o animal foi posicionado no estereotático (marca Kopf, modelo-1430). Para a administração de drogas via i.t., com acesso direto ao Sc, a superfície dorsal da região do pescoço foi exposta cirurgicamente e os músculos localizados sobre a dura-máter, e entre o crânio e a vértebra atlas, foram afastados a partir da linha medial para exposição da dura-máter. A seguir, a mesma foi perfurada com uma agulha, no lado direito da medula oblonga e uma canula PE₁₀ conectada a uma seringa Hamilton (50µl), previamente preenchida com um dos antagonistas opióides utilizados no presente trabalho, foi introduzida, sendo posicionada no lado esquerdo do Sc, e fixada no local com isobutil cianoacrilato (Figura 1). Com a finalidade de excluir os animais com possível lesão medular, que poderia ter sido causada pela inserção da cânula, a referida região foi dissecada e examinada, cuidadosamente, imediatamente após o sacrifício do animal.

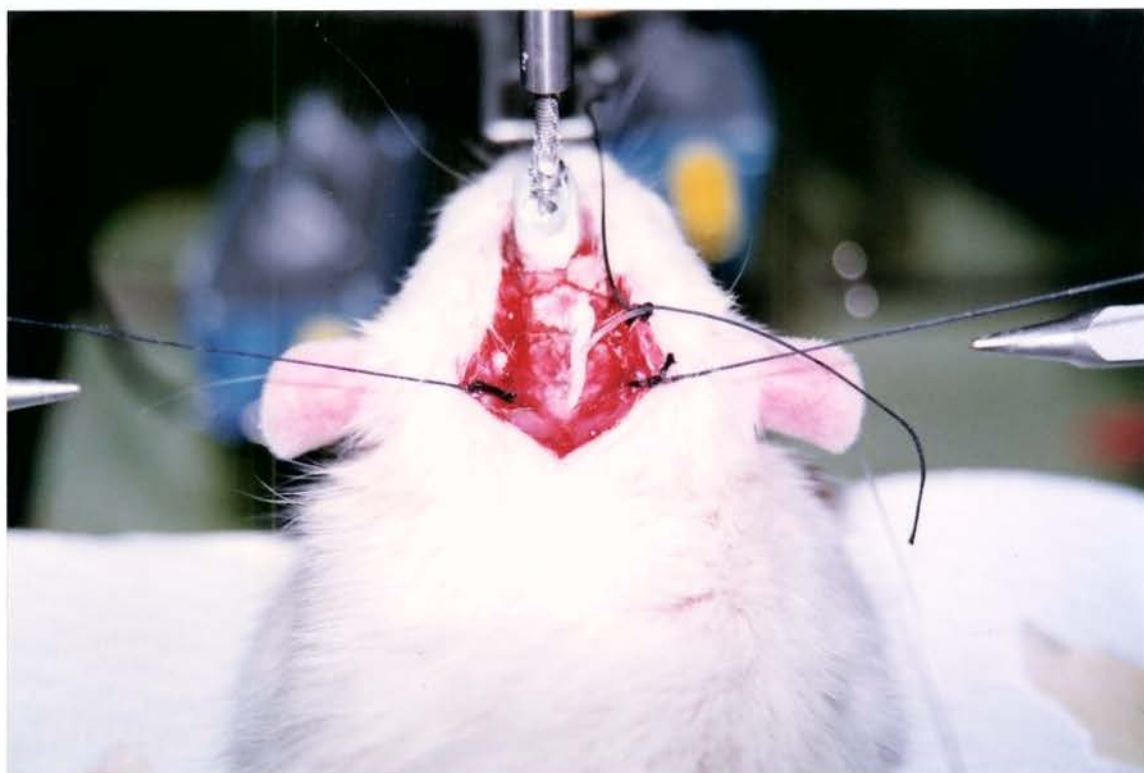


Figura 1 - Implantação de cateter para administração dos diferentes antagonistas opióides, via i.t..

Para a remoção das barras de ouvido e incisal, utilizadas para a fixação inicial do animal no estereotáxico, dois parafusos foram inseridos na superfície dorsal exposta do crânio, e um cilindro de metal conectado ao estereotáxico, foi posicionado em contato com os parafusos e fixado no local com resina acrílica.

Em seguida, um outro par de eletrodo eletromiográfico bipolar foi inserido nos músculos masseter direito e esquerdo. A localização dos eletrodos foi confirmada através de dissecação pós morte, realizada imediatamente após cada experimento.

Para administração do OM (20% alil isotiocianato, BDH, Poole, dissolvido em óleo mineral, 20 μ l) uma agulha de calibre 30 conectada a uma seringa de microlitro Hamilton (25 μ l) através de um tubo de polietileno PE₅₀, foi introduzida na cápsula da ATM esquerda e mantida no local (Figura 2). Para isso, a borda póstero-inferior do arco zigomático foi apalpada, e a agulha inserida na porção inferior da mesma, sendo avançada em direção anterior até contactar a porção póstero - lateral do côndilo. Tal contato era verificado, movendo-se a agulha e a mandíbula simultaneamente. Como procedimento de rotina, o sítio de aplicação do OM foi confirmado, pós-morte, através de indicadores de inflamação, tais como edema e extravasamento plasmático do corante Azul de Evans a 1% (20mg/Kg,i.v.) injetado 10 minutos antes do animal ser sacrificado por uma injeção letal de Pentobarbital (i.v., 0,4 ml). Como o corante Azul de Evans se liga as proteínas plasmáticas, o local da injeção de OM foi identificado, visualmente, de acordo com a aparência do corante extravasado (YU *et al.*,1994).



Figura 2 - Implantação de cateter na cápsula da ATM para administração de OM.

Após todo o preparo cirúrgico, a concentração de halotano foi reduzida à 0,8%, de forma que, pressionando-se a pata traseira do animal com uma pinça, pudesse ser observado um pequeno reflexo extensor (FALINOWER *et al.*,1994).

A frequência cardíaca, a pressão arterial e a temperatura corporal foram continuamente monitoradas e mantidas dentro de níveis fisiológicos de 330-430 batimentos/minutos, 90-120 mmHg e 37-37,5°C, respectivamente.

3.2 - REGISTRO DA ATIVIDADE ELETROMIOGRÁFICA.

A atividade eletromiográfica de cada músculo foi amplificada (ganho de 10.000-50.000 vezes, amplitude de banda: 30-3000 Hz), observada em Osciloscópio e registrada através de um sistema de aquisição e processamento de dados composto por: um computador, CED 1401 Plus hardware e software "Spike 2"; CED, Cambridge; (velocidade de amostragem 2000Hz).

A atividade eletromiográfica dos músculos digástricos e masseteres foi registrada num período total de 100 minutos.

Nos animais em que o OM foi administrado, a atividade eletromiográfica basal foi registrada inicialmente por 20 minutos. A seguir, o OM foi administrado na ATM, e a atividade eletromiográfica registrada por mais 30 minutos. Após esse período, a naloxona, ou um dos antagonistas opióides específicos para os subtipos de receptores opióides *mu*, *delta* ou *capa*, foi administrado via i.t., e a atividade eletromiográfica, registrada por mais 50 minutos. Devido a possibilidade de que os antagonistas opióides pudessem alterar o padrão da resposta eletromiográfica, na ausência de um estímulo facilitatório, como o OM, cada um deles foi administrado via i.t. isoladamente, como grupo controle. Nesses grupos experimentais, a atividade eletromiográfica basal foi registrada por um período de 50 minutos, seguido pela administração de naloxona ou de um dos antagonistas opióides específicos para os receptores *mu*, *delta* ou *capa*, e posterior registro da atividade eletromiográfica por mais 50 minutos.

3.3 - DROGAS UTILIZADAS:

1 - Óleo de Mostarda (alil isotiocianato) 20%, dissolvido em Óleo Mineral, (*Fonte: Sigma*) e utilizado num volume de 20 µl.

2 - Antagonistas Opióides:

Os antagonistas opióides foram administrados intratecalmente num volume total de 30 µl, durante um período de 60 seg.. As concentrações dos antagonistas opióides específicos dos receptores *mu*, *delta* e *capa* utilizadas no presente trabalho, foram baseadas no estudo de GUIRIMAND *et al.* (1994).

Dentre eles incluem-se:

2.1 - Antagonista opióide não seletivo **naloxona(-)**, 30 µg, SEO *et al.*, 1994, (*Fonte:RBI, Natick, MA*);

2.2 - Antagonista opióide não seletivo **naloxona(+)**, isômero inativo, 30 µg, (*Fonte: Research Triangle Institute, USA*);

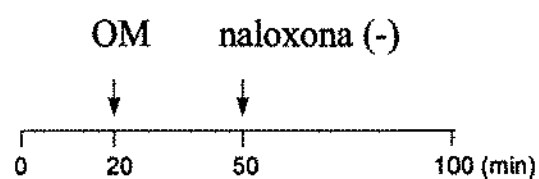
2.3 - Antagonista opióide específico do receptor *mu*, Cys³Tyr³Orn⁶Pen⁷-amido (CTOP), em 3 concentrações, 0,06; 0,18; 0,60 µg (*Fonte:Peninsula Lab., Belmont, CA*);

2.4 - Antagonista opióide específico do receptor *delta*, Naltrindole (NTI) em 2 concentrações, 0,1; 0,5 mg (*Fonte:RBI*);

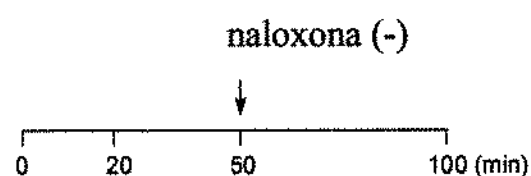
2.5 - Antagonista opióide específico do receptor *capa*, norbinaltrophimine HCl (**norBNI**), 15 µg, (*Fonte:RBI, Natick, MA*).

3.4 - PROTOCOLO UTILIZADO:

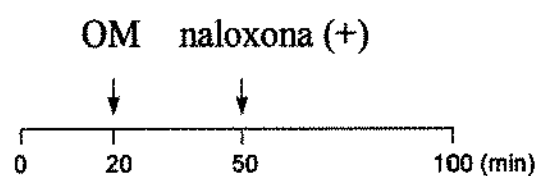
1 - OM na ATM + naloxona(-), 30 μ g, i.t.



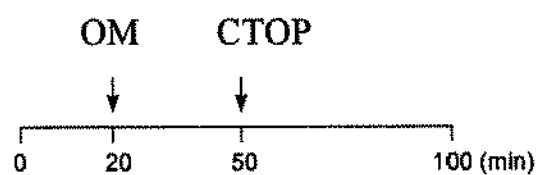
2 - naloxona(-), 30 μ g, isoladamente, i.t.



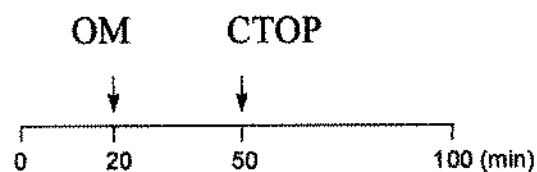
3 - OM na ATM + naloxona (+, inativa), 30 μ g, i.t.



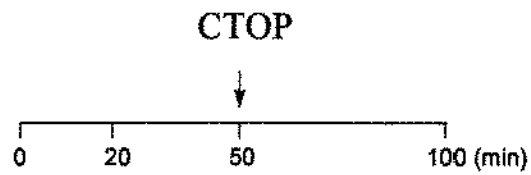
4 - OM na ATM + CTOP, 0,06 μ g, i.t.



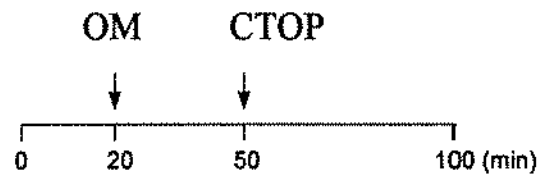
5 - OM na ATM + CTOP, 0,18 μ g, i.t.



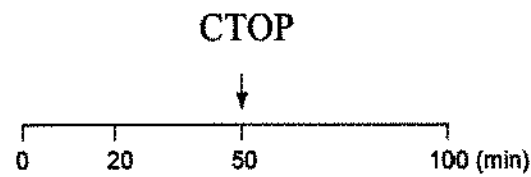
6 - CTOP, 0,18 μ g, isoladamente, i.t.



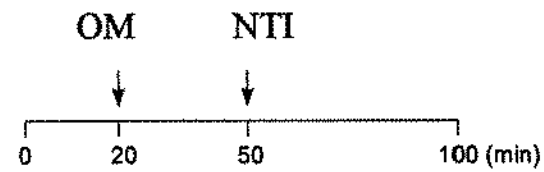
7 - OM na ATM + CTOP 0,60 μ g, i.t.



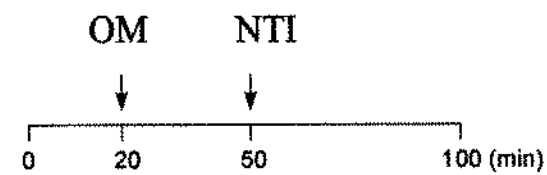
8 - CTOP 0,60 μ g, isoladamente, i.t.



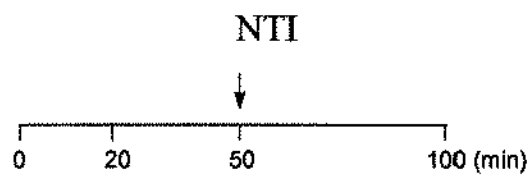
9 - OM na ATM +NTI, 0,1 mg, i.t.



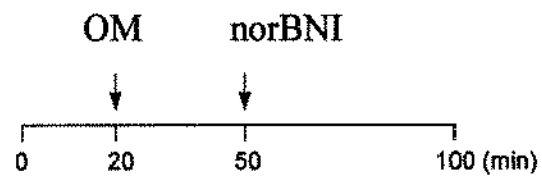
10 - OM na ATM +NTI, 0,5mg, i.t.



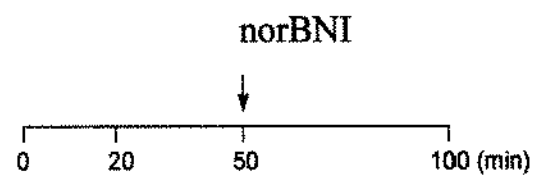
11 -NTI, 0,5mg, isoladamente, i.t.



12 - OM na ATM + norBNI, 15 μ g.



13 - norBNI, 15 μ g, isoladamente, i.t.



3.5 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ELETROMIOGRÁFICA.

Após registro e processamento da resposta eletromiográfica no CED 1401 Plus software “Spike 2”, o sinal eletromiográfico foi retificado e integrado em blocos de 1 minutos para posterior análise.

O efeito da administração do OM na ATM, assim como o da administração i.t. dos diferentes antagonistas opióides, foi avaliado pelas alterações desencadeadas pelos mesmos, na atividade eletromiográfica basal.

Esse nível basal, por sua vez, corresponde à atividade eletromiográfica registrada no período precedente à administração do OM ou de um dos diferentes antagonistas opióides, no caso dos animais controles, que não receberam o OM.

O nível basal de atividade eletromiográfica foi obtido calculando-se a média dessa atividade nos 20 minutos ou 50 minutos iniciais de registro, que precederam a administração de OM ou de um dos antagonistas opióides, respectivamente.

Os valores correspondentes à atividade eletromiográfica integrada por minuto, foram normalizados em relação ao nível basal de atividade de cada músculo e expressos como valor percentual da média do nível basal de atividade eletromiográfica.

As alterações na atividade eletromiográfica observadas após a administração de OM ou de um dos antagonistas opióides, foram consideradas significativamente aumentadas, quando um dos valores , agrupados nos blocos de 1 minuto, ultrapassassem 2 desvios padrão em relação a média de nível basal de atividade eletromiográfica.

Para comparar a magnitude da resposta desencadeada pelos antagonistas opióides, após a administração do OM, com os possíveis efeitos desencadeados apenas pela administração isolada dos mesmos, assim como,

para avaliar os efeitos desencadeados pelos diferentes antagonistas entre si, calculou-se a área (soma) dos valores de atividade eletromiográfica, normalizados em relação ao nível basal, durante os 50 minutos de registro posteriores à administração dos antagonistas opióides.

O período de tempo, decorrente entre o início da administração de cada droga até a obtenção de aumento significativo da atividade eletromiográfica, foi designado como latência da resposta, e o período de tempo, decorrente entre o aumento da atividade eletromiográfica e retorno ao nível basal de atividade, foi designado como duração da resposta.

3.6 - ANÁLISE ESTATÍSTICA.

Para comparar o efeito desencadeado pelo OM e pelos diferentes antagonistas opióides em relação a atividade eletromiográfica basal, utilizou - se o teste Wilcoxon.

Para comparar o efeito dos diferentes antagonistas entre si os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA ON RANKS), com nível de significância igual ou menor a 0,05 para rejeição de nulidade. Na presença de significância na ANOVA, procedeu -se a análise de contrastes entre as médias aplicando-se o teste Dunn. O teste Mann-Whitney foi utilizado para identificar os níveis de significância, se 0,05 como indicado pelo teste Dunn ou 0,01 ou mesmo 0,001, e para comparar cada grupo com seu respectivo grupo controle.

Para realização dos cálculos estatísticos utilizou - se o programa Jandel Scientific composto pelo Sigma Stat e Sigma Plot.

O teste Fisher foi utilizado para comparar a incidência do aumento de atividade eletromiográfica entre os músculos após a administração dos diferentes antagonistas opióides.

4 - RESULTADOS

Conforme observado nas figuras 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 e 11 não houve variação significativa na atividade eletromiográfica basal de nenhum dos músculos estudados dos animais dos 13 grupos experimentais, durante o período de 20 ou 50 minutos que precederam à administração do OM ou de um dos diferentes antagonistas opióides, respectivamente.

Os resultados da atividade eletromiográfica dos músculos digástricos e masseteres foram analisados utilizando-se dois parâmetros, o pico da resposta de cada 5 minutos dos 100 minutos de registro de atividade eletromiográfica e a área da resposta representada pela soma dos 30 ou 50 minutos de atividade eletromiográfica posteriores à administração do OM ou de um dos diferentes antagonistas opióides, respectivamente.

Os picos da resposta, assim como o desenvolvimento temporal da mesma, estão ilustrados nas figuras 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11.

4.1 - EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DO OM NA ATIVIDADE ELETROMIOGRÁFICA DOS MÚSCULOS DIGÁSTRICOS E MASSETERES.

As figuras 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 e 11, mostram que a administração de OM na ATM de ratos, promoveu um aumento significativo, acima do nível de atividade basal, na atividade eletromiográfica dos músculos digástrico e masseter ipsilateral e contralateral ao sítio da injeção, em todos os grupos experimentais nos quais ele foi administrado (grupos: 1, 3, 4, 5, 7, 9, 10, 12) com exceção no músculo masseter contralateral à administração do OM dos animais do grupo 9 (OM + NTI, 0,1 mg). Como observado, o aumento reflexo na atividade eletromiográfica dos músculos digástrico e masseter ipsilateral e contralateral à administração do OM, possui uma latência e duração de aproximadamente 1 e 20 minutos, respectivamente.

Na figura 3 e tabela 1, observa-se que a média da área de atividade eletromiográfica, dos músculos digástricos e masseteres, dos 30 minutos posteriores à administração do OM na ATM, não diferiu significativamente ($p > 0,05$, teste Dunn) entre os grupos nos quais o mesmo foi administrado.

ALTERAÇÕES ELETROMIOGRÁFICAS RELATIVAS A
ATIVIDADE ELETROMIOGRÁFICA BASAL (100%)

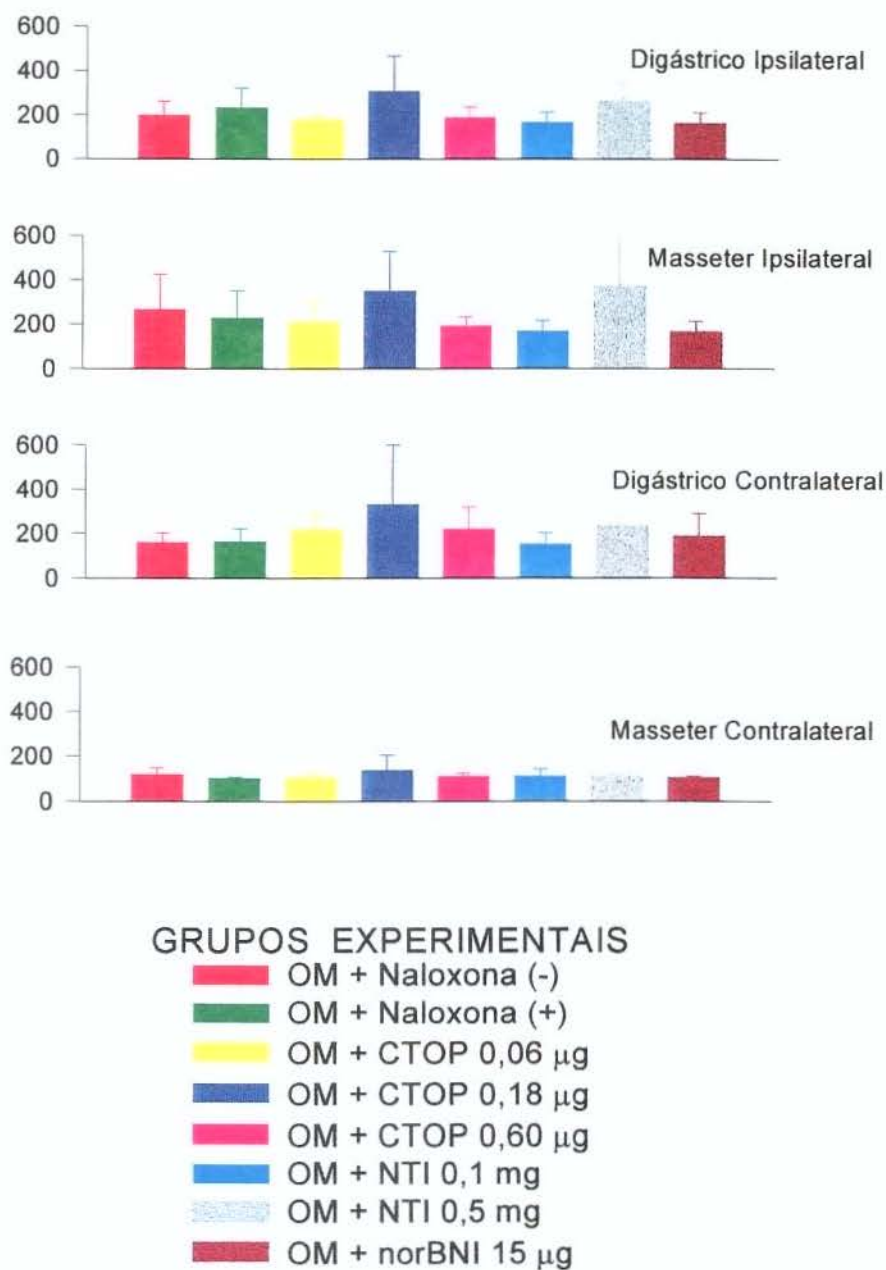


FIGURA 3 - Alterações eletromiográficas desencadeadas pela administração de OM na ATM, nos diferentes grupos experimentais . Cada coluna representa a média $\pm$ DP da área (soma) da atividade eletromiográfica dos 30 minutos posteriores a administração do OM relativa a atividade eletromiográfica basal (100%). Não houve diferença significativa entre os grupos, quando o teste Dunn foi aplicado ($p > 0,05$).

TABELA 1- Alterações eletromiográficas induzidas pela administração de OM na ATM, nos diferentes grupos. Os dados expressos como média $\pm$ DP são valores normalizados da média da área dos 30 minutos posteriores à administração de OM, relativos a média da atividade eletromiográfica basal (100%). Valores entre parênteses indicam o número de ratos em cada grupo.

GRUPOS	Digástrico ipsilateral a administração de OM	Masseter ipsilateral a administração de OM	Digástrico contralateral a administração de OM	Masseter contralateral a administração de OM
OM + Naloxone(-) 30 μ g/30 μ l (n=7)	196,4 $\pm$ 19,6 %	266,1 $\pm$ 47,3 %	160,3 $\pm$ 12,2 %	119,3 $\pm$ 8,7 %
OM + Naloxone (+) 30 μ g/30 μ l (n=6)	231,5 $\pm$ 27,5 %	226,0 $\pm$ 37,8 %	162,7 $\pm$ 17,4 %	101,1 $\pm$ 1,3%
OM +CTOP 0,60 μ g/30 μ l (n=10)	187,78 $\pm$ 13,8 %	190,0 $\pm$ 12,6 %	220,1 $\pm$ 29,4 %	109,4 $\pm$ 4,4 %
OM + CTOP 0,18 μ g/30 μ l (n=7)	308,3 $\pm$ 47,1 %	349,9 $\pm$ 53,3 %	332,6 $\pm$ 79,7 %	137,1 $\pm$ 19,7 %
OM + CTOP 0,06 μ g/30 μ l (n=6)	178,84 $\pm$ 7,0 %	209,4 $\pm$ 27,7 %	215,9 $\pm$ 26,0 %	104,4 $\pm$ 3,7 %
OM + NTI 0,5 mg/30 μ l (n=7)	263,7 $\pm$ 26 %	370,4 $\pm$ 98,8 %	231,5 $\pm$ 13,4 %	105,0 $\pm$ 3,1 %
OM + NTI 0,1 mg/30 μ l (n=7)	168,7 $\pm$ 13,4 %	168,7 $\pm$ 13,4 %	150,3 $\pm$ 15,4 %	109,8 $\pm$ 9,8 %
OM + norBNI 15 μ g/30 μ l (n=6)	165,7 $\pm$ 13,7 %	165,7 $\pm$ 13,7 %	187,0 $\pm$ 31,1 %	103,3 $\pm$ 2,1 %

p>0,05, teste Dunn.

4.2 - EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO I.T. DO ANTAGONISTA OPIÓIDE INESPECÍFICO, NALOXONA, NA ATIVIDADE ELETROMIOGRÁFICA DOS MÚSCULOS DIGÁSTRICOS E MASSETERES.

Trinta minutos após a administração do OM na ATM, a atividade eletromiográfica dos músculos digástrico e masseter ipsilateral e contralateral ao sítio da injeção, já havia retornado próximo ao nível basal.

Como observado na figura 4, a administração i.t. de naloxona (-) induziu no período de 2 a 10 minutos após a administração da mesma, uma recorrência de aumento de atividade eletromiográfica, significativa ($p < 0,05$, teste Wilcoxon), nos músculos digástrico e masseter ipsilateral e contralateral à administração do OM na ATM. O efeito recorrente foi observado nos músculos digástrico ipsilateral e contralateral de todos os animais do grupo e, em 6 de 7 animais, nos músculos masseter ipsilateral e contralateral à administração do OM (tabela 2).

Com o objetivo de investigar possíveis efeitos excitatórios da administração i.t. de naloxona(-) sobre a atividade dos músculos digástricos e masseteres na ausência do estímulo facilitatório desencadeado pelo OM, a naloxona foi administrada isoladamente nos animais do grupo 2 .

A administração i.t. isolada de naloxona(-) não promoveu aumento significativo ($p > 0,05$, teste Wilcoxon) acima do nível de atividade basal, na atividade eletromiográfica dos músculos estudados (figura 4).

Com relação à incidência da resposta, a tabela 2 mostra que apenas 1 dos 7 animais do grupo, apresentou um aumento de atividade eletromiográfica nos músculos digástrico direito e esquerdo.

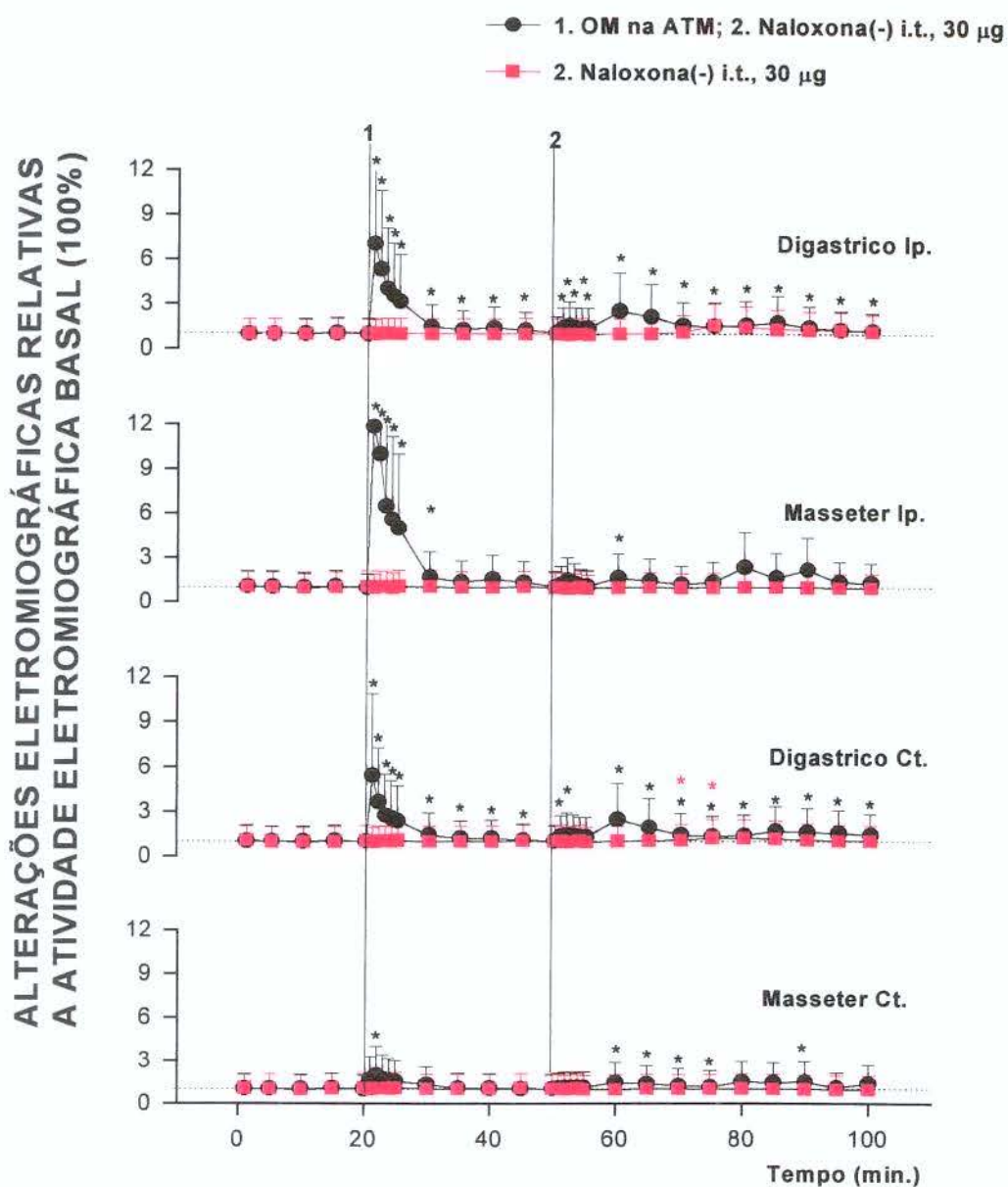


Figura 4 - Alterações eletromiográficas induzidas pela administração i.t. de naloxona (-) 30 minutos após a administração de OM na ATM (● grupo 1), e isoladamente (■ grupo 2). Cada ponto de dado representa a média $\pm$ DP do pico de atividade eletromiográfica dos valores normalizados relativos a atividade eletromiográfica basal. A linha horizontal pontilhada indica a atividade eletromiográfica basal. O pico de atividade eletromiográfica é mostrado em intervalos de 5 minutos, exceto os registrados nos 5 minutos imediatamente após a administração de OM na ATM e de naloxona(-), via i.t., que são mostrados para cada minuto. * $p < 0,05$ (teste Wilcoxon) indica que a injeção de OM na ATM, e a administração i.t. de naloxona(-) após o OM promoveu um aumento significativo na atividade eletromiográfica dos músculos indicados. * $p < 0,05$ (teste Wilcoxon) indica que a administração i.t. isolada de naloxona (-) promoveu um aumento significativo na atividade eletromiográfica do músculo Digastrico Ct. (Ip.- ipsilateral, Ct.- contralateral).

TABELA 2 - Incidência dos efeitos recorrente ou excitatório da administração i.t. de naloxona na atividade dos músculos digástricos e masseteres. Valores entre parênteses () indicam o número de ratos em cada grupo; valores entre chaves [], indicam o número de ratos que apresentaram um aumento significativo de atividade eletromiográfica (Pico eletromiográfico maior que 2 desvios padrão da média do nível basal) em cada músculo.

GRUPO	Digástrico ipsilateral a administração de OM	Masseter ipsilateral a administração de OM	Digástrico contralateral a administração de OM	Masseter contralateral a administração de OM
OM+ naloxona (-)	**	**	**	**
30µg/30µl (n=7)	100% [7] ^{###}	85,7 % [6] ^{##}	100% [7] ^{###}	85,7% [6] ^{##}
naloxona (-)				
30µg/30µl (n=8)	12,5% [1]	0 % [0]	12,5% [1]	0% [0]
OM + naloxona (+)				
30µg/30µl (n=6)	0% [0]	0% [0]	0% [0]	0% [0]

** p< 0,01, (teste Fisher), indica diferença significativa em relação a **naloxona (-)**,
 ## p<0,01, ### p<0,001, (teste Fisher), indica diferença significativa em relação a **OM +naloxona (+)**,

A especificidade do efeito recorrente desencadeado pela administração i.t. de naloxona (-) 30 minutos após o OM, foi demonstrada pela inefetividade da administração i.t. de seu par estereoisométrico, não antagonista, inativo naloxona(+), também 30 minutos após a administração do OM, período em que o aumento de atividade eletromiográfica desencadeado pelo mesmo, já havia retornado aos níveis basais (figura 5).

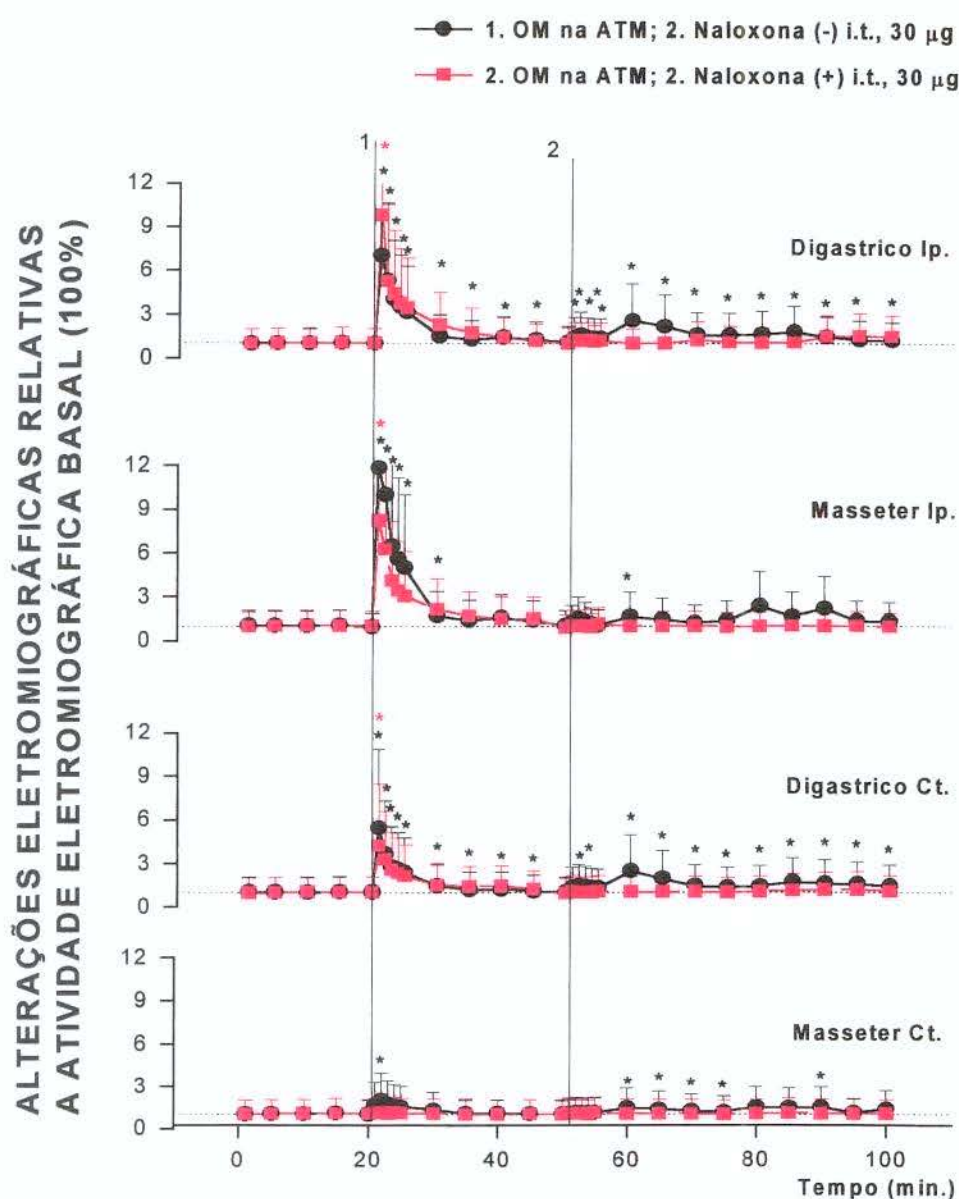


Figura 5 - Alterações eletromiográficas induzidas pela administração i.t. de naloxona (-) (● grupo 1) e naloxona (+) (■ grupo 3) 30 minutos após a administração de OM na ATM. Cada ponto de dado representa a média $\pm$ DP do pico de atividade eletromiográfica dos valores normalizados relativos a atividade eletromiográfica basal. A linha horizontal pontilhada indica a atividade eletromiográfica basal. O pico de atividade eletromiográfica é mostrado em intervalos de 5 minutos, exceto os registrados nos 5 minutos imediatamente após a administração do OM na ATM e de naloxona, via i.t., que são mostrados para cada minuto * $p < 0,05$ (teste Wilcoxon) indica que a administração de OM na ATM, e na sequência, a i.t. de naloxona (-), promoveu um aumento significativo na atividade eletromiográfica dos músculos indicados. * $p < 0,05$ (teste Wilcoxon) indica que a injeção de OM na ATM dos animais do grupo 3, promoveu um aumento significativo na atividade eletromiográfica dos músculos indicados. (Ip.- ipsilateral, Ct.- contralateral).

Tanto a magnitude da resposta, ou seja, o aumento de atividade eletromiográfica representado pela área (soma) dos 50 minutos posteriores à administração de naloxona (-) (tabela 3), como a incidência da mesma (tabela 2), foram significativamente maior ($p < 0,05$, teste Mann-Whitney) nos músculos digástricos e masseteres dos animais do grupo no qual ela foi administrada 30 minutos após o OM (tabela 3).

TABELA 3 - Caracterização das alterações eletromiográficas induzidas pela administração i.t de naloxona. Os dados expressos como média $\pm$ DP são valores normalizados da média da área dos 50 minutos posteriores à administração de um dos diferentes antagonistas opióides, relativos a média da atividade eletromiográfica basal (100%). Valores entre parênteses indicam o número de ratos em cada grupo.

GRUPO	Digástrico ipsilateral a administração de OM	Masseter ipsilateral a administração de OM	Digástrico contralateral a administração de OM	Masseter contralateral a administração de OM
OM+naloxona(-) 30 μ g/30 μ l (n=7)	167,4 $\pm$ 19,2 % ^{***}	153,1 $\pm$ 27,3 % ^{**}	161,7 $\pm$ 21,9 % ^{***++}	124,6 $\pm$ 12,7 % ^{***+}
naloxona(-) 30 μ g/30 μ l (n=7)	122,3 $\pm$ 28,5 %	98,2 $\pm$ 2,9 %	109,3 $\pm$ 6,7 %	98,4 $\pm$ 1,5 %
OM+naloxona(+) 30 μ g/30 μ l (n=6)	110,60 $\pm$ 9,6 %	97,7 $\pm$ 2,5 %	104,1 $\pm$ 5,7 %	102,2 $\pm$ 0,7 %

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ (teste Mann-Whitney) indica diferença significativa quando OM+naloxona (-) é comparado com naloxona (-), + $p < 0,05$, ++ $p < 0,01$ (teste Mann-Whitney) indica diferença significativa quando OM+naloxona (-) é comparado com OM+naloxona (+).

4.3 - EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO I.T. DO ANTAGONISTA OPIÓIDE ESPECÍFICO PARA OS RECEPTORES *MU*, CTOP, NA ATIVIDADE ELETROMIOGRÁFICA DOS MÚSCULOS DIGÁSTRICOS E MASSETERES.

4.3.1 - CTOP (0,06 µg)

A administração i.t. do antagonista opióide específico para o receptor *mu*, CTOP, na concentração mais baixa utilizada, 0,06 µg, 30 minutos após a administração do OM na ATM, mostrou-se ineficaz em produzir o efeito recorrente (figura 6), embora 1 dos 6 animais do grupo tenha apresentado um aumento na atividade eletromiográfica do músculo digástrico ipsilateral à administração do OM (tabela 4).

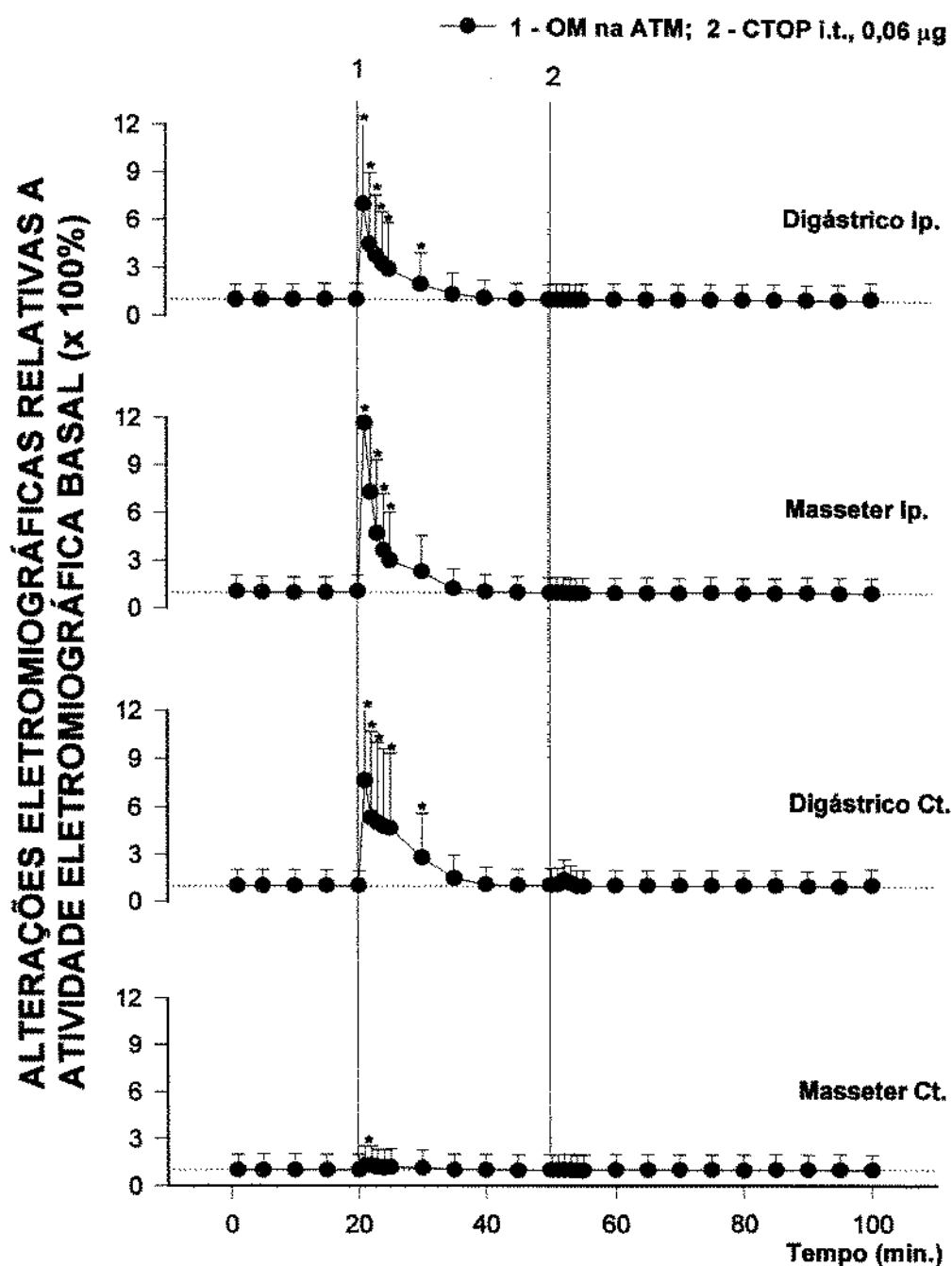


Figura 6 - Alterações eletromiográficas induzidas pela administração i.t. de CTOP, 0,06 µg, 30 minutos após a administração de OM na ATM. Cada ponto de dado representa a média $\pm$ DP do pico de atividade eletromiográfica dos valores normalizados relativos a atividade eletromiográfica basal. A linha horizontal pontilhada indica a atividade eletromiográfica basal. O pico de atividade eletromiográfica é mostrado em intervalos de 5 minutos, exceto os registrados nos 5 minutos imediatamente após a administração do OM na ATM e de CTOP (0,06 µg), via i.t., que são mostrados para cada minuto. * $p < 0,05$ (teste Wilcoxon) indica que a injeção de OM na ATM, promoveu um aumento significativo na atividade eletromiográfica dos músculos indicados. (Ip.- ipsilateral; Ct.- contralateral).

4.3.2 - CTOP (0,18 µg)

A administração de CTOP na concentração de 0,18 µg, nas mesmas circunstâncias, induziu uma recorrência de aumento de atividade eletromiográfica significativa ($p < 0,05$, teste Wilcoxon) nos músculos digástrico ipsilateral e contralateral e masseter ipsilateral à administração do OM na ATM (figura 7). Todos os animais do grupo apresentaram um aumento na atividade eletromiográfica nos músculos masseter ipsilateral e digástrico contralateral, 6 de 7, no digástrico ipsilateral e 3 de 7, no masseter contralateral (tabela 4).

A administração isolada de CTOP (0,18 µg) induziu um aumento significativo ($p < 0,05$, teste Wilcoxon) acima do nível de atividade basal na atividade eletromiográfica dos músculos digástrico ipsilateral e contralateral e masseter ipsilateral à administração de OM na ATM (figura 7). Dos 7 animais do grupo, 4 apresentaram um aumento de atividade eletromiográfica no músculo digástrico ipsilateral, 3 no masseter ipsilateral e 2 no digástrico contralateral (tabela 4).

Além disso, a magnitude da resposta, ou seja, o aumento de atividade eletromiográfica representado pela área dos 50 minutos posteriores à administração de CTOP foi significativamente maior ($p < 0,05$, teste Mann-Whitney) nos músculos digástrico e masseter ipsilateral e digástrico contralateral à administração de OM, dos animais do grupo no qual ele foi administrado 30 minutos após o OM, quando comparada com a de seu grupo controle, ou seja, o grupo de animais no qual ele foi administrado isoladamente (tabela 5). A incidência da resposta desencadeada pelo CTOP após à administração de OM também foi significativamente maior nos

músculos masseter ipsilateral e digástrico contralateral à administração de OM quando comparada com a de seu grupo controle (tabela 4).

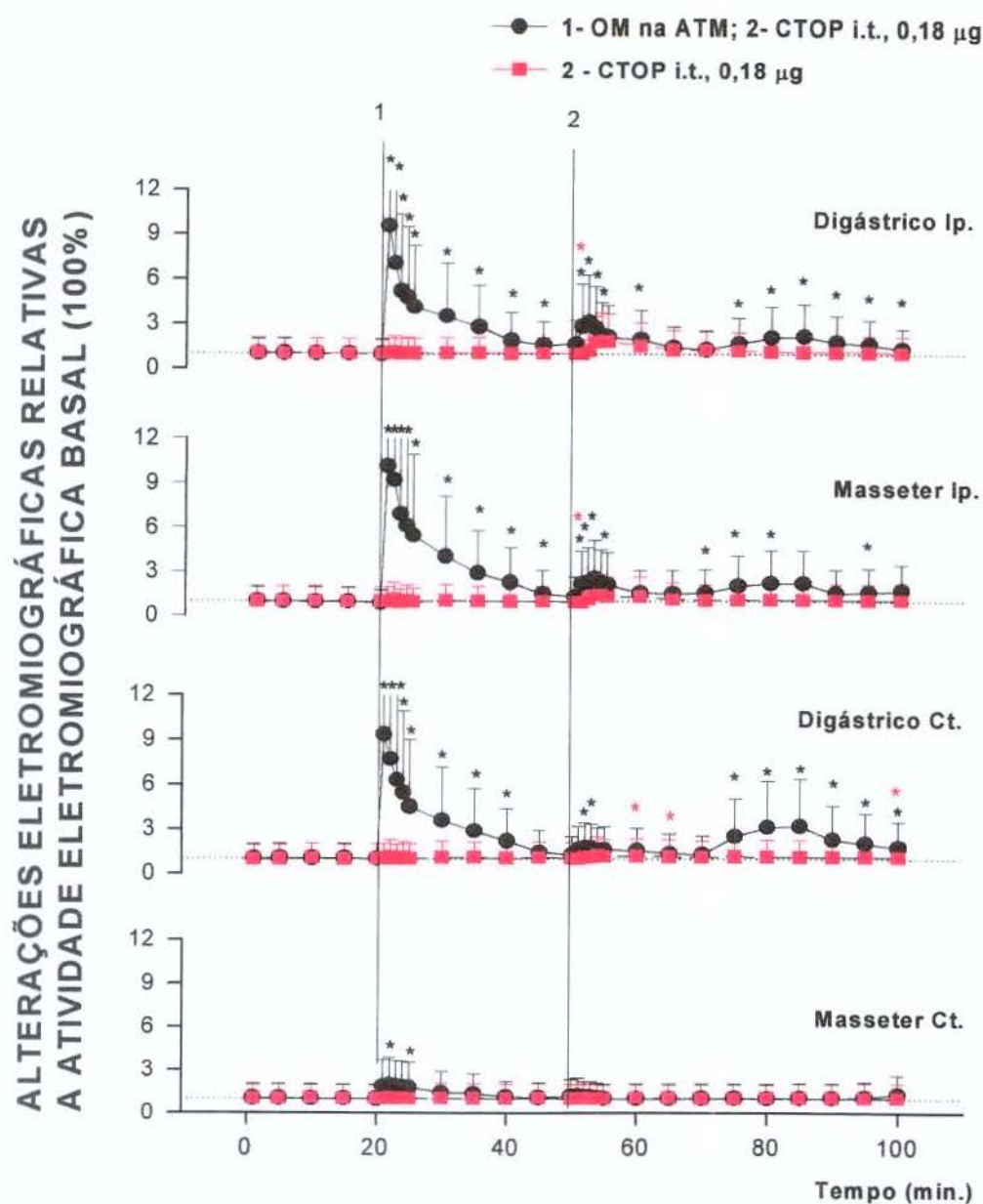


Figura 7 - Alterações eletromiográficas induzidas pela administração i.t. de CTOP, 0,18 µg, 30 minutos após a administração de OM na ATM (● grupo 5), e isoladamente (■ grupo 6). Cada ponto de dado representa a média $\pm$ DP do pico de atividade eletromiográfica dos valores normalizados relativos a atividade eletromiográfica basal. A linha horizontal pontilhada indica a atividade eletromiográfica basal. O pico de atividade eletromiográfica é mostrado em intervalos de 5 minutos, exceto os registrados nos 5 minutos imediatamente após a administração do OM na ATM e de CTOP, 0,18 µg, via i.t., que são mostrados para cada minuto. * $p < 0,05$ (teste Wilcoxon) indica que a administração de OM na ATM, e na sequência, a i.t. de CTOP nessa concentração, promoveu um aumento significativo na atividade eletromiográfica dos músculos indicados. * $p < 0,05$ (teste Wilcoxon) indica que a administração isolada de CTOP, nessa concentração, também promoveu um aumento significativo na atividade eletromiográfica dos músculos indicados. (Ip.- ipsilateral, Ct.- contralateral).

4.3.3 - CTOP (0,60 µg)

Aumentando - se a concentração para 0,60 µg, a administração i.t. de CTOP 30 minutos após a administração de OM na ATM, induziu uma recorrência de aumento de atividade eletromiográfica significativa ($p < 0,05$, teste Wilcoxon) nos músculos digástrico ipsilateral e contralateral (figura 8). Dos 10 animais do grupo, 9 apresentaram um aumento de atividade eletromiográfica nos músculos digástrico ipsilateral e contralateral e 5 no masseter ipsilateral e contralateral à administração do OM (tabela 4).

A administração i.t. isolada de CTOP (0,60 µg) não induziu um aumento significativo ($p > 0,05$, teste Mann-Whitney,) acima do nível de atividade basal, na atividade eletromiográfica de nenhum dos músculos estudados (figura 8) embora dos 7 animais do grupo, 3 tenham apresentado um aumento de atividade eletromiográfica nos músculos digástrico e masseter ipsilateral e digástrico contralateral e 1 no masseter contralateral à administração do OM na ATM (tabela 4).

A magnitude da resposta, ou seja, o aumento de atividade eletromiográfica, representado pela área dos 50 minutos posteriores à administração de CTOP, não foi significativamente maior ($p > 0,05$, teste Mann-Whitney) em nenhum dos músculos dos animais do grupo no qual CTOP, 0,60 µg, foi administrado 30 minutos após a administração do OM, quando comparada com a de seu grupo controle, ou seja, o grupo de animais no qual ele foi administrado isoladamente nessa concentração (tabela 5), o mesmo ocorrendo com a incidência da resposta (tabela 4).

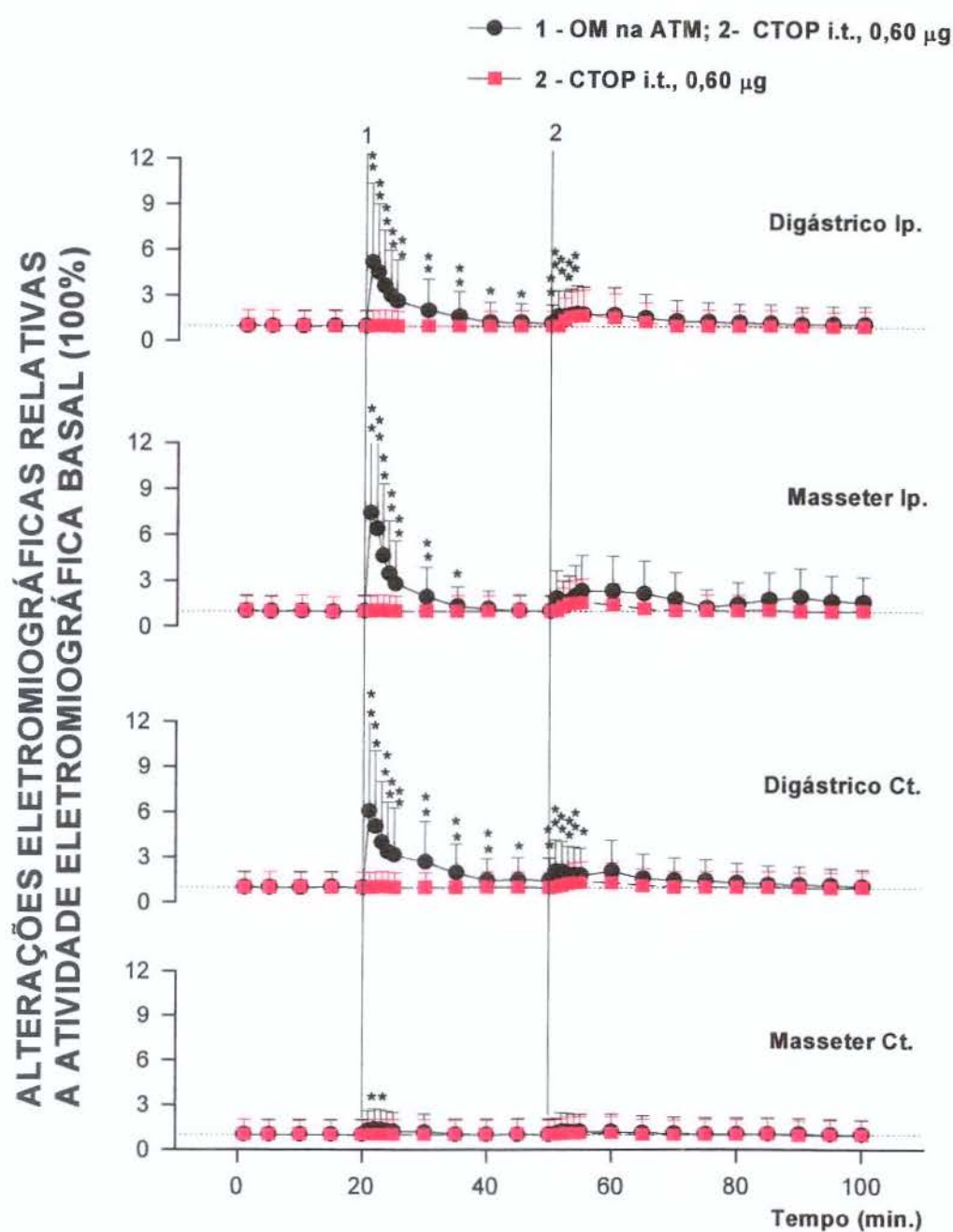


Figura 8 - Alterações eletromiográficas induzidas pela administração i.t. de CTOP, 0,60 µg, 30 minutos após a administração de OM na ATM (● grupo 7), e isoladamente (■ grupo 8). Cada ponto de dado representa a média $\pm$ DP do pico de atividade eletromiográfica dos valores normalizados relativos a atividade eletromiográfica basal. A linha horizontal pontilhada indica a atividade eletromiográfica basal. O pico de atividade eletromiográfica é mostrado em intervalos de 5 minutos, exceto os registrados nos 5 minutos imediatamente após a administração do OM na ATM e de CTOP, 0,60 µg, via i.t., que são mostrados para cada minuto. * $p < 0,05$ (teste Wilcoxon) indica que a administração de OM na ATM, e na sequência, a i.t. de CTOP nessa concentração, promoveu um aumento significativo na atividade eletromiográfica dos músculos indicados. (Ip.- ipsilateral, Ct.- contralateral).

TABELA 4 - Incidência dos efeitos recorrente ou excitatório da administração i.t. de CTOP em diferentes concentrações, na atividade eletromiográfica dos músculos digástricos e masseteres. Valores entre parênteses () indicam o número de ratos em cada grupo; valores entre chaves [], indicam o número de ratos que apresentaram um aumento significativo de atividade eletromiográfica (Pico eletromiográfico maior que 2 desvios padrão da média do nível basal) em cada músculo.

GRUPO	Digástrico ipsilateral a administração de OM	Masseter ipsilateral a administração de OM	Digástrico contralateral a administração de OM	Masseter contralateral a administração de OM
OM+CTOP 0,60µg/30µl (n=10)	90% [9] **	50% [5]	90% [9] ***	50% [5]
CTOP 0,60µg/30µl (n= 7)	42,8% [3]	42,8% [3]	42,8% [3]	16,6% [1]
OM+CTOP 0,18µg/30µl (n=7)	85,7% [6] *	100% [7] ***+	100% [7] *** +	42,8% [3]
CTOP 0,18µg/30µl (n=7)	57 % [4]	42,8 % [3]	28,6 % [2]	0% [0]
OM+CTOP 0,06µg/30µl (n=6)	16,6 % [1]	0% [0]	0% [0]	0% [0]

* p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001, (teste Mann-Whitney) indica diferença significativa quando comparado com **OM+CTOP 0,06 µg**

⁺ p<0,05, (teste Mann-Whitney) indica diferença significativa quando **OM+CTOP 0,18µg** é comparado com **CTOP 0,18 µg/30µl**.

TABELA 5 - Caracterização das alterações eletromiográficas induzidas pela administração i.t de CTOP. Os dados expressos como média $\pm$ DP são valores normalizados da média da área dos 50 minutos posteriores a administração de CTOP, relativos a média da atividade eletromiográfica basal (100%). Valores entre parênteses indicam o número de ratos em cada grupo.

GRUPO	Digástrico ipsilateral a administração de OM	Masseter ipsilateral a administração de OM	Digástrico contralateral a administração de OM	Masseter contralateral a administração de OM
OM+CTOP 0,18μg/30μl (n=7)	185,6 $\pm$ 24,0 % [#]	194,7 $\pm$ 59,5 % [#]	203,9 $\pm$ 66,9 % [#]	109,5 $\pm$ 11,6 %
CTOP 0,18μg/30μl (n=7)	122,2 $\pm$ 15,5 %	112,8 $\pm$ 11,7 %	112,4 $\pm$ 4,8 %	101,3 $\pm$ 2,2 %
OM+CTOP 0,60μg/30μl (n=10)	137,6 $\pm$ 18,9 %	175,7 $\pm$ 121,6 %	144,5 $\pm$ 27,2 %	108,5 $\pm$ 12,7 %
CTOP 0,60μg/30μl (n=6)	114,8 $\pm$ 10,8 %	109,8 $\pm$ 7,4 %	107,5 $\pm$ 5,5 %	101,2 $\pm$ 3,7 %

p<0,05 (teste Mann-Whitney) indica diferença significativa quando **OM+CTOP 0,18 μ g/30 μ l** é comparado com **CTOP 0,18 μ g/30 μ l**

4.4 - EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO I.T. DO ANTAGONISTA OPIÓIDE ESPECÍFICO PARA O RECEPTOR *DELTA*, NTI, NA ATIVIDADE ELETROMIOGRÁFICA DOS MÚSCULOS DIGÁSTRICOS E MASSETERES.

A administração i.t. do antagonista opióide específico para o receptor *delta*, NTI, na concentração de 0,1 mg (grupo 9) ou 0,5 mg (grupo 10), 30 minutos após a administração de OM, mostrou-se ineficaz em produzir o efeito recorrente (figuras 9, 10). Como observado na tabela 6, apenas 1 dos 7 animais do grupo 9 apresentou um aumento de atividade eletromiográfica nos músculos digástrico ipsilateral e contralateral e 2 no masseter ipsilateral, 2 animais dos 7 do grupo 10 nos músculos digástrico e masseter ipsilateral, 3 no digástrico contralateral e 1 no masseter contralateral à administração do OM.

Como esperado, a administração i.t. isolada de NTI 0,5 mg, também não produziu um aumento significativo na atividade eletromiográfica dos músculos estudados (figura 10). Como observado na tabela 6, 3 dos 8 animais do grupo apresentaram um aumento na atividade eletromiográfica no músculo digástrico ipsilateral, 1 nos masseteres ipsilateral e contralateral e 4 no digástrico contralateral.

Os efeitos desencadeados pela administração i.t. de NTI (0,1 mg; 0,5 mg) 30 minutos após a administração de OM na ATM e pela administração i.t isolada de NTI (0,5 mg) não diferiram estatisticamente, $p > 0,05$, teste Mann-Whitney (tabelas 6, 7).

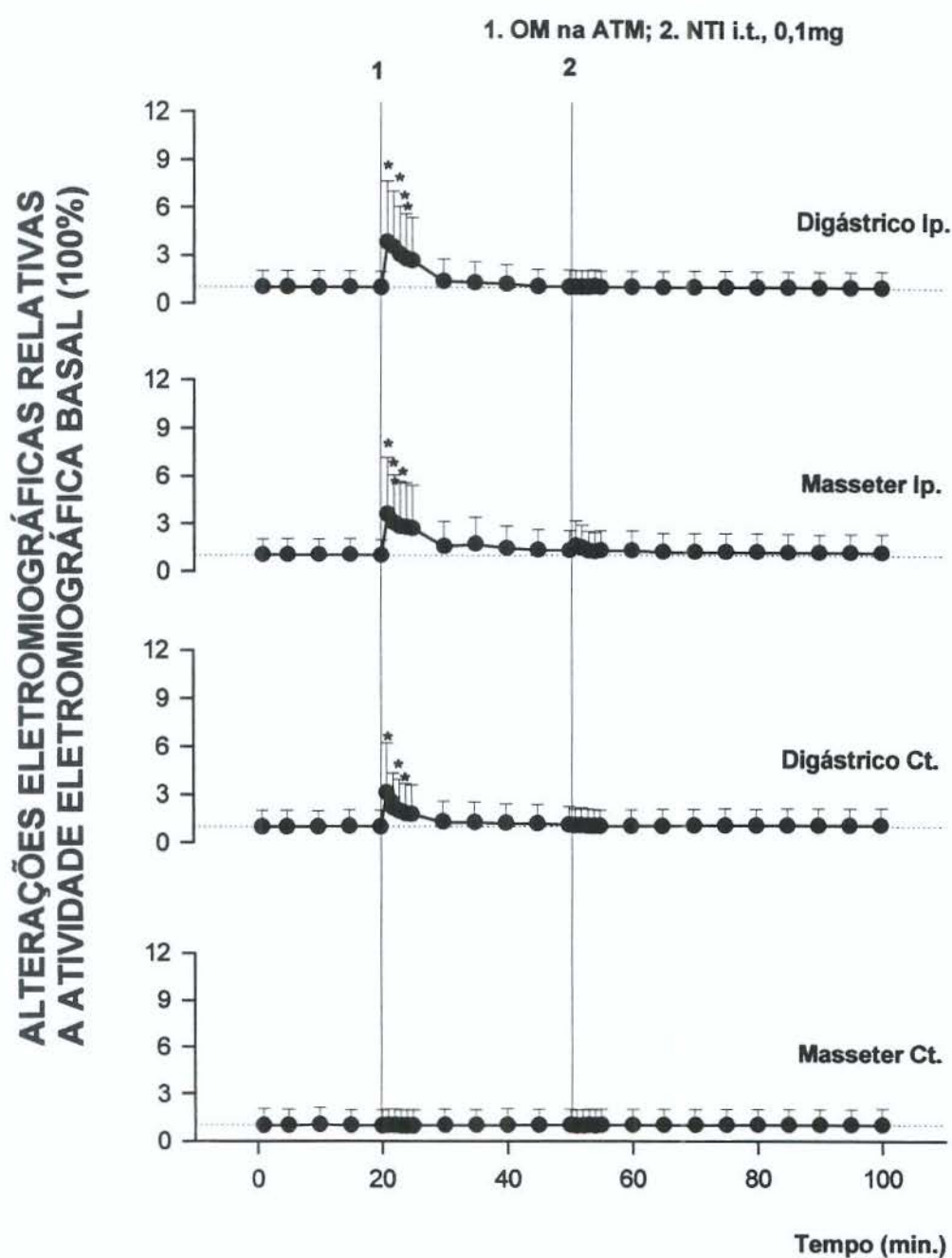


Figura 9 - Alterações eletromiográficas induzidas pela administração i.t. de NTI, 0,1 mg, 30 minutos após a administração de OM na ATM. Cada ponto de dado representa a média $\pm$ DP do pico de atividade eletromiográfica dos valores normalizados relativos a atividade eletromiográfica basal. A linha horizontal pontilhada indica a atividade eletromiográfica basal. O pico de atividade eletromiográfica é mostrado em intervalos de 5 minutos, exceto os registrados nos 5 minutos imediatamente após a administração do OM na ATM e de NTI i.t., que são mostrados para cada minuto. * $p < 0,05$ (teste Wilcoxon) indica que a administração de OM na ATM, promoveu um aumento significativo na atividade eletromiográfica dos músculos indicados. (Ip.- ipsilateral, Ct.- contralateral).

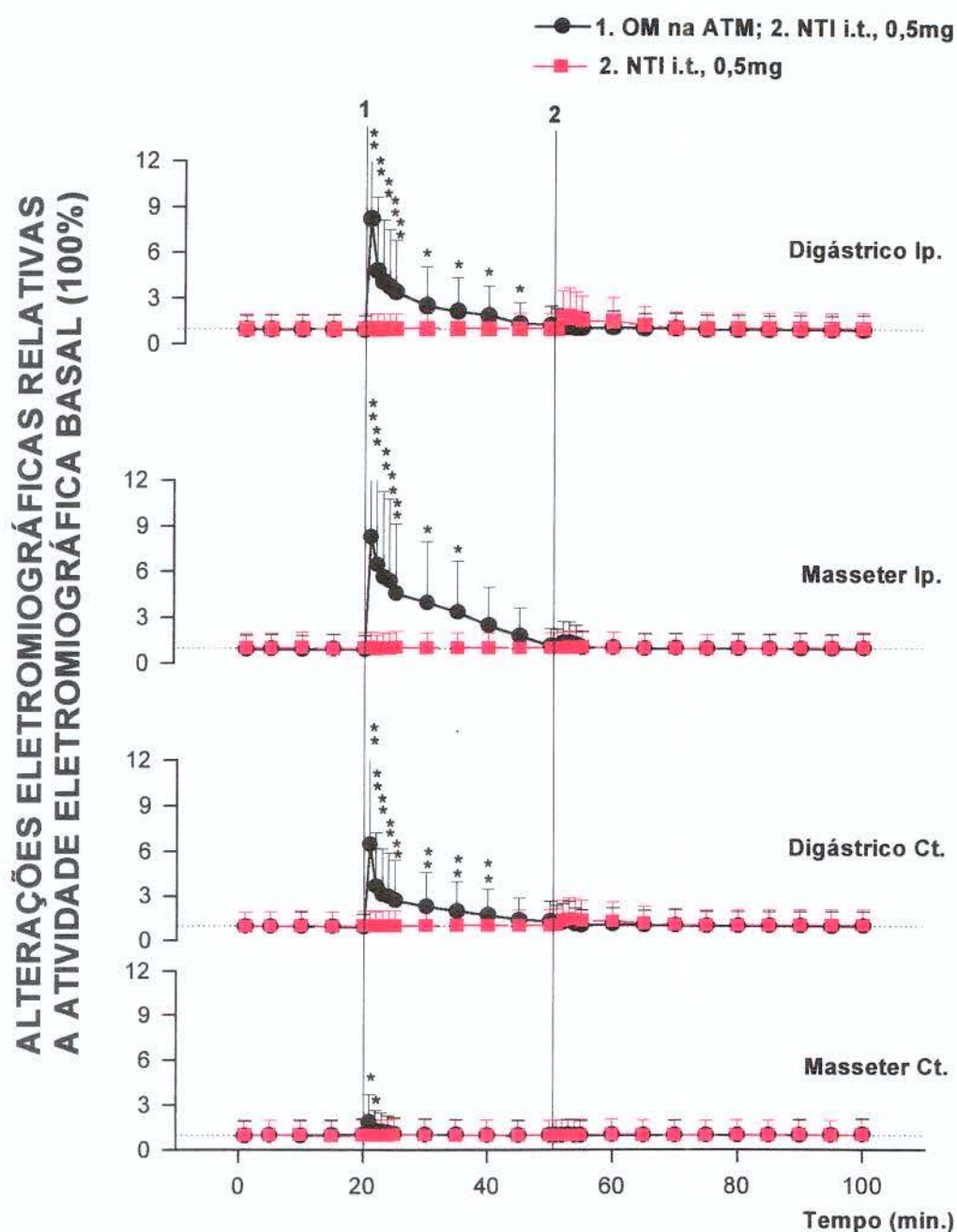


Figura 10 - Alterações eletromiográficas induzidas pela administração i.t. de NTI, 0,5 mg, 30 minutos após a administração de OM na ATM (● grupo 10), e isoladamente (■ grupo 11). Cada ponto de dado representa a média $\pm$ DP do pico de atividade eletromiográfica dos valores normalizados relativos a atividade eletromiográfica basal. A linha horizontal pontilhada indica a atividade eletromiográfica basal. O pico de atividade eletromiográfica é mostrado em intervalos de 5 minutos, exceto os registrados nos 5 minutos imediatamente após a administração do OM na ATM e de NTI, via i.t., que são mostrados para cada minuto. * $p < 0,05$ (teste Wilcoxon) indica que a administração de OM na ATM promoveu um aumento significativo na atividade eletromiográfica dos músculos indicados. (Ip.- ipsilateral; Ct.- contralateral).

TABELA 6 - Incidência dos efeitos recorrente ou excitatório da administração i.t. de NTI em diferentes concentrações, na atividade eletromiográfica dos músculos digástricos e masseteres. Valores entre parênteses () indicam o número de ratos em cada grupo; valores entre chaves [], indicam o número de ratos que apresentaram um aumento significativo de atividade eletromiográfica (Pico eletromiográfico maior que 2 desvios padrão da média do nível basal) em cada músculo.

GRUPO	Digástrico ipsilateral a administração de OM	Masseter ipsilateral a administração de OM	Digástrico contralateral a administração de OM	Masseter contralateral a administração de OM
OM + NTI 0,5mg/30µl (n=7)	28,6 % [2]	28,6 % [2]	42,8 % [3]	14,3 [1]
NTI 0,5mg/30µl (n=8)	37,5 % [3]	12,5 % [1]	50% [4]	12,5 % [1]
OM + NTI 0,1mg/30µl (n=7)	14,3 % [1]	28,6 % [2]	14,3 % [1]	0% [0]

p>0,05 (teste Fisher)

TABELA 7 - Caracterização das alterações eletromiográficas induzidas pela administração i.t de NTI. Os dados expressos como média $\pm$ DP são valores normalizados da média da área dos 50 minutos posteriores à administração de NTI, relativos a média da atividade eletromiográfica basal (100%). Valores entre parênteses indicam o número de ratos em cada grupo.

GRUPO	Digástrico ipsilateral a administração de OM	Masseter ipsilateral a administração de OM	Digástrico contralateral a administração de OM	Masseter contralateral a administração de OM
OM+NTI 0,1 mg/30 μ l (n=7)	101,7 $\pm$ 0,9 %	120,5 $\pm$ 21,6 %	105,4 $\pm$ 4,2 %	99,3 $\pm$ 3,4 %
OM+ NTI 0,5 mg /30 μ l (n=7)	104,4 $\pm$ 3,7 %	108,9 $\pm$ 9,2 %	107,1 $\pm$ 3,1 %	100,9 $\pm$ 2,2 %
NTI 0,5 mg /30 μ l (n=8)	114,3 $\pm$ 15,5 %	96,8 $\pm$ 1,3 %	109,3 $\pm$ 8,6 %	99,7 $\pm$ 1,6 %

p>0,05 (teste Mann-whitney)

4.5 - EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO I.T. DO ANTAGONISTA OPIÓIDE ESPECÍFICO PARA O RECEPTOR *CAPA*, norBNI, NA ATIVIDADE ELETROMIOGRÁFICA DOS MÚSCULOS DIGÁSTRICOS E MASSETERES.

A administração i.t. do antagonista opióide específico para o receptor *capa*, norBNI, na concentração de 15 µg, 30 minutos após a administração do OM na ATM, induziu a uma recorrência de aumento de atividade eletromiográfica significativa ($p < 0,05$, teste Wilcoxon), nos músculos digástrico ipsilateral e contralateral e masseter ipsilateral à administração do OM (figura 11). Todos os 6 animais do grupo apresentaram um aumento de atividade eletromiográfica nos músculos digástrico ipsilateral, 3 no masseter ipsilateral, 4 no digástrico contralateral e 2 no masseter contralateral (tabela 8).

A administração i.t. isolada do mesmo, não induziu um aumento significativo ($p > 0,05$, teste Wilcoxon) em nenhum dos músculos estudados (figura 10), embora dos 6 animais do grupo, 4 tenham apresentado um aumento na atividade eletromiográfica dos músculos digástrico ipsilateral e contralateral, 3 no masseter ipsilateral e 2 no masseter contralateral (tabela 8).

A magnitude da resposta, ou seja, o aumento de atividade eletromiográfica representado pela área dos 50 minutos posteriores à administração de norBNI, do grupo de animais no qual o norBNI foi administrado 30 minutos após a administração do OM, foi significativamente maior ($p < 0,05$, teste Mann-Whitney) no músculo digástrico ipsilateral à administração de OM, quando comparada com a de seu grupo controle, ou seja, o grupo no qual ele foi administrado isoladamente (tabela 9).

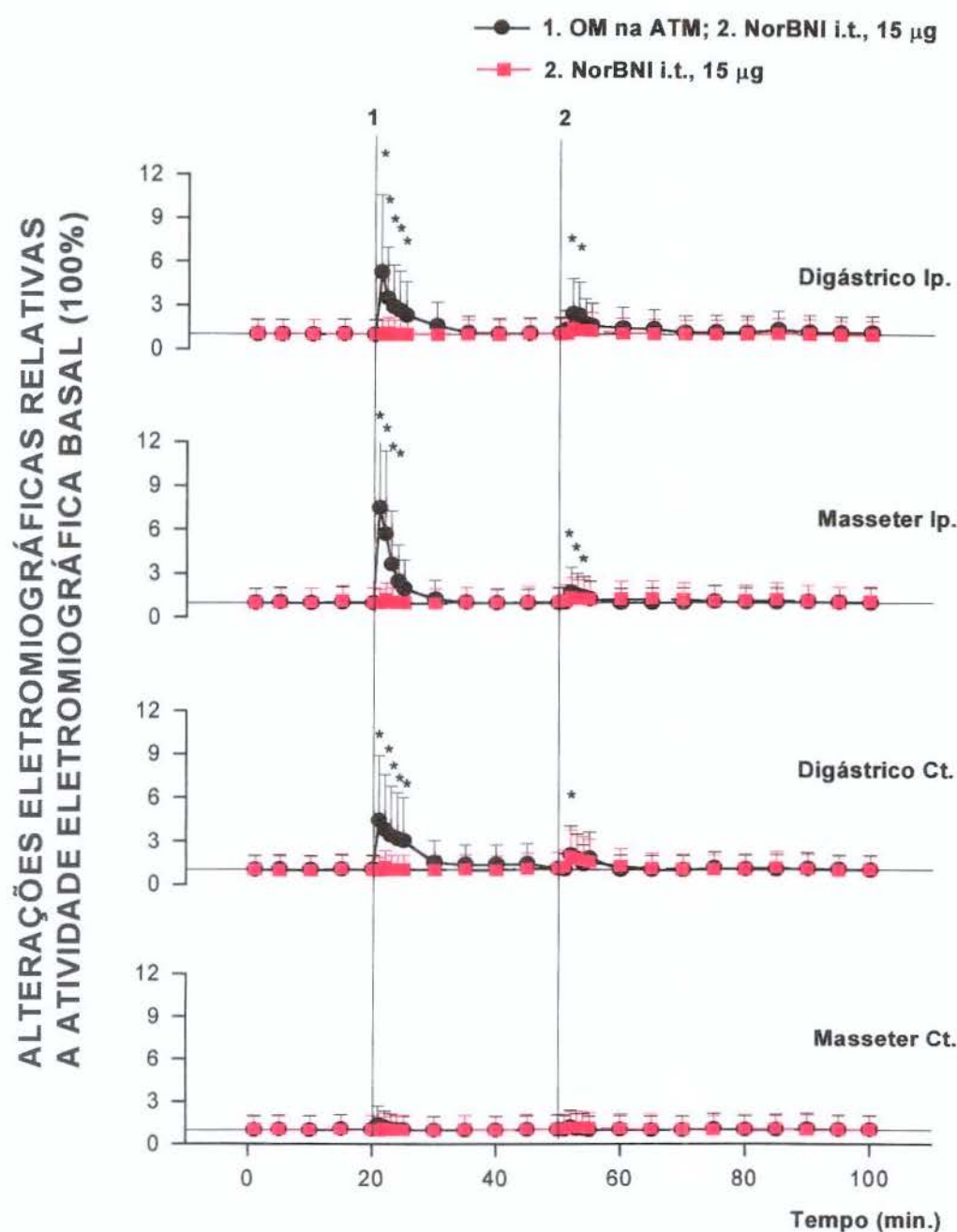


Figura 11 - Alterações eletromiográficas induzidas pela administração i.t. de norBNI, 15 µg, 30 minutos após a administração de OM na ATM (● grupo 12), e isoladamente (■ grupo 13). Cada ponto de dado representa a média $\pm$ DP do pico de atividade eletromiográfica dos valores normalizados relativos a atividade eletromiográfica basal. A linha horizontal pontilhada indica a atividade eletromiográfica basal. O pico de atividade eletromiográfica é mostrado em intervalos de 5 minutos, exceto os registrados nos 5 minutos imediatamente após a administração do OM na ATM e de norBNI, via i.t., que são mostrados para cada minuto. * $p < 0,05$ (teste Wilcoxon) indica que a injeção de OM na ATM e a administração i.t. de norBNI nessa concentração após o OM, promoveu um aumento significativo na atividade eletromiográfica dos músculos indicados. (Ip.- ipsilateral; Ct.- contralateral).

TABELA 8 - Incidência dos efeitos recorrente ou excitatório da administração i.t. de norBNI, na atividade eletromiográfica dos músculos digástricos e masseteres. Valores entre parênteses () indicam o número de ratos em cada grupo; valores entre chaves [], indicam o número de ratos que apresentaram um aumento significativo de atividade eletromiográfica (Pico eletromiográfico maior que 2 desvios padrão da média do nível basal) em cada músculo.

GRUPO	Digástrico ipsilateral a administração de OM	Masseter ipsilateral a administração de OM.	Digástrico contralateral a administração de OM	Masseter contralateral a administração de OM
OM + norBNI 15µg/30µl (n=6)	100% [6]	50% [3]	66,7 % [4]	33,3 % [2]
norBNI 15µg/30µl (n=6)	66,7 % [4]	50% [3]	66,7 % [4]	33,3 % [2]

p>0,05 (teste Fisher)

TABELA 9 - Caracterização das alterações eletromiográficas induzidas pela administração i.t de norBNI. Os dados expressos como média $\pm$ DP são valores normalizados da média da área dos 50 minutos posteriores à administração de norBNI, relativos a média da atividade eletromiográfica basal (100%). Valores entre parênteses indicam o número de ratos em cada grupo.

GRUPO	Digástrico ipsilateral a administração de OM	Masseter ipsilateral a administração de OM	Digástrico contralateral a administração de OM	Masseter contralateral a administração de OM
OM + norBNI 15μg/30μl (n=6)	130,9 $\pm$ 11,0 % *	110,1 $\pm$ 4,4 %	107,8 $\pm$ 6,1 %	103,2 $\pm$ 1,9 %
norBNI 15μg/30μl (n=6)	103,1 $\pm$ 1,7 %	113,7 $\pm$ 8,5 %	111,4 $\pm$ 8,9 %	103,4 $\pm$ 5,0 %

* $p < 0,05$ (teste Mann-Whitney) indica diferença significativa quando **OM+norBNI 15 μ g/30 μ l** é comparado com **norBNI 15 μ g/30 μ l**.

4.6 - EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO I.T. DOS DIFERENTES ANTAGONISTAS OPIÓIDES.

Como observado na tabela 10, figura 12, CTOP (0,18 µg) foi o antagonista opióide mais potente em produzir o efeito recorrente de aumento de atividade eletromiográfica após a administração de OM na ATM, sendo seguido pela naloxona, norBNI e NTI.

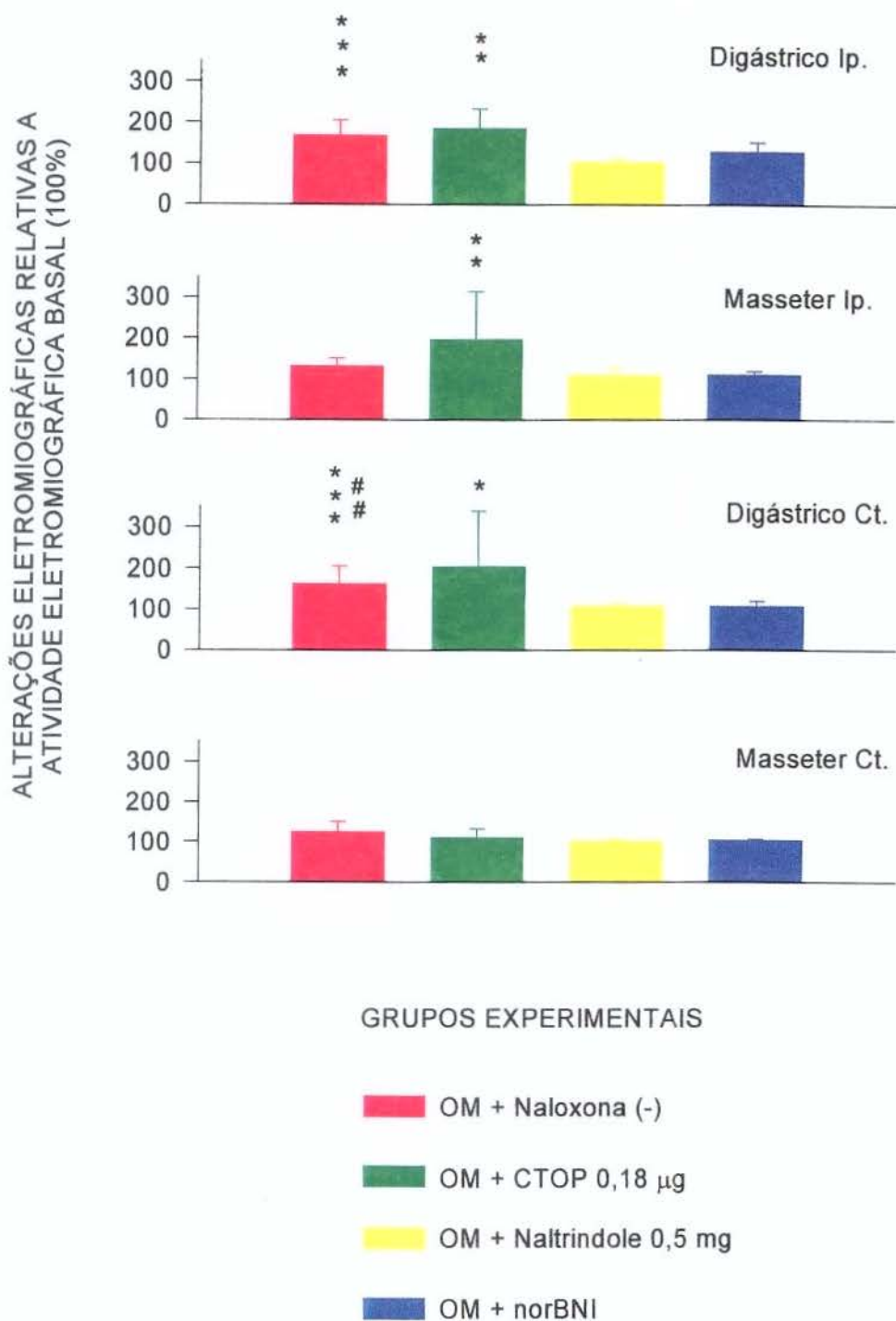


Figura 12- Comparação do efeito recorrente desencadeado pelos diferentes antagonistas opióides. Cada coluna representa a média $\pm$ DP da área da atividade eletromiográfica dos 50 minutos posteriores à administração dos mesmos, relativa a atividade eletromiográfica basal (100%). ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ (teste Mann-Whitney) indica diferença significativa em relação ao grupo OM+ NTI 0,5 mg. ## $p < 0,01$ (teste Mann-Whitney) indica diferença significativa em relação ao grupo OM + norBNI. (Ip.- ipsilateral; Ct.- contralateral).

Tabela 10 - Comparação do efeito recorrente desencadeado pelos diferentes antagonistas opióides. Os dados expressos como média $\pm$ DP são valores normalizados da média da área dos 50 minutos posteriores à administração de um dos antagonistas opióides relativos a atividade eletromiográfica basal (100%). Valores entre parênteses indicam o número de ratos em cada grupo.

GRUPO	Digástrico ipsilateral a administração de OM	Masseter ipsilateral a administração de OM	Digástrico contralateral a administração de OM	Masseter contralateral a administração de OM
OM+naloxona(-)	***		***	
30 μ g/30 μ l (n=7)	167,4 $\pm$ 19,2 %	153,1 $\pm$ 27,3 %	161,7 $\pm$ 21,9 % ^{##}	124,6 $\pm$ 12,7 %
OM +CTOP				
0,18 μ g/30 μ l (n=7)	185,6 $\pm$ 24,0 %**	194,7 $\pm$ 59,5 %**	203,9 $\pm$ 66,9 %*	109,5 $\pm$ 11,6 %
OM + NTI				
0,5 mg/30 μ l (n=7)	104,4 $\pm$ 3,7 %	108,9 $\pm$ 9,2 %	107,1 $\pm$ 3,1 %	100,9 $\pm$ 2,2 %
OM + norBNI				
15 μ g/30 μ l (n=6)	130,9 $\pm$ 11,0 %	110,1 $\pm$ 4,4 %	107,8 $\pm$ 6,1 %	103,2 $\pm$ 1,9 %

*p<0,05, **p<0,01, ***P<0,001 (teste Mann-Whitney) indica diferença significativa em relação ao grupo OM+ NTI 0,5 mg,

##p<0,01 (teste Mann-Whitney) indica diferença significativa em relação ao grupo OM+ norBNI.

5 - DISCUSSÃO

Existem vários métodos tradicionais para estudo dos mecanismos neurais e farmacológicos da dor. Dentre eles incluem-se o método comportamental e o eletrofisiológico.

O método comportamental (retirada da cauda, vocalização, reflexo de flexão, WOOLF, 1992) que corresponde àquele no qual um tratamento como estimulação elétrica ou drogas é aplicado no animal acordado para examinar as variáveis comportamentais do mesmo, propicia a obtenção de amostras grandes, e é um método de rápida execução, mas não esclarece precisamente os mecanismos celulares envolvidos no fenômeno estudado.

Por outro lado, os métodos eletrofisiológicos de registro da atividade neuronal, esclarecem os mecanismos celulares e fornecem detalhes dos mecanismos sensoriais com a desvantagem de consumirem muito tempo e de requererem a utilização de muitos animais, devido as dificuldades metodológicas.

O método utilizado no presente trabalho, de registro de atividade eletromiográfica induzida pelo OM, representa uma resposta neuromuscular integrada à uma população de neurônios nociceptivos ativados pelo OM, e não a atividade de neurônios isolados, sendo uma medida da integração motor-sensorial. Além disso, favorece a obtenção de amostras num período de tempo mais viável que os métodos eletrofisiológicos.

A utilização da mistura de O_2/NO_2 /halotano induziu a uma preparação estável e a uma atividade eletromiográfica basal também estável, consistente com estudos anteriores. (HU *et al.*, 1993).

A aplicação do agente inflamatório e estimulante de fibras C, OM na ATM, promoveu um aumento reflexo, reversível de atividade eletromiográfica nos músculos mastigatórios (figura 3, tabela 1) em uma latência e uma duração semelhantes as descritas por HU *et al.* (1994).

Por outro lado, em virtude de estudos anteriores (YU *et al.*, 1994a) terem demonstrado ausência de aumento significativo de atividade eletromiográfica após a administração de óleo mineral, o veículo utilizado para diluir o OM, na ATM, dispensou-se a utilização do mesmo como grupo controle.

Há uma série de evidências indicando que o efeito excitatório desencadeado pelo OM, corresponde a uma resposta reflexa mediada centralmente. Por exemplo, o aumento de atividade eletromiográfica desencadeado pelo OM é bloqueado pela pré administração de lidocaina (1,4 mg/Kg) na ATM (YU *et al.*, 1994a) e também por lesões químicas ou pela transecção cirúrgica do sc (TSAI *et al.*, 1994). Além disso, o aumento de atividade eletromiográfica também ocorre nos músculos contralaterais ao sítio de administração.

A administração i.t. de naloxona 30 µg (SEO *et al.*, 1995) em 30 µl promoveu uma recorrência de aumento de atividade eletromiográfica significativa em todos os músculos estudados (figura 4). A magnitude e o desenvolvimento temporal do efeito recorrente documentado é consistente com os dados referentes aos efeitos desencadeados pela administração sistêmica (1,3 mg/Kg, i.v.) de naloxona, 30 minutos após a injeção de OM na ATM (YU *et al.*, 1994) e, com os efeitos da naloxona em antagonizar os efeitos modulatórios e as respostas neuronais a estímulos nocivos (SESSLE *et al.*, 1981, YU *et al.*, 1990).

A administração isolada de naloxona tem sido associada a um aumento de reflexos motores nociceptivos induzidos por estimulação elétrica (CATLEY *et al.*, 1983; GOLDFARB & HU, 1976).

No entanto, no presente trabalho, assim como no de YU *et al.* (1994), a administração isolada de naloxona não induziu a uma recorrência de aumento de atividade eletromiográfica, significativo, indicando que a mesma é dependente dos efeitos desencadeados pelo OM. (figura 4).

Além disso, conforme observado na tabela 3, a magnitude da resposta desencadeada pela administração i.t. de naloxona(-) 30 minutos após a administração de OM na ATM foi significativamente maior que a magnitude da resposta desencadeada pela administração isolada da mesma ou pela administração de seu isômero inativo naloxona(+) na mesma situação, o mesmo ocorrendo com a incidência da resposta (tabela 2).

Isso sugere que a administração de OM na ATM ativa um mecanismo opióide supressor que limita o aumento de atividade eletromiográfica desencadeado pelo mesmo, o qual consequentemente pode recorrer após a administração de naloxona. Em outras palavras, a Sensibilização Central induzida pelo OM, parece ser acompanhada por um aumento compensatório reflexo, na liberação de opióides endógenos.

A especificidade do efeito recorrente de aumento de atividade eletromiográfica, produzido pela administração i.t. de naloxona (-), na concentração de 30 µg, 30 minutos após a administração de OM, foi demonstrada pela ineficácia da administração i.t. de seu isômero inativo naloxona (+), na mesma concentração, o qual por não atuar em receptor opióide, não produziu tal efeito (figura 5). Isso indica que na concentração utilizada, a naloxona (-) parece atuar especificamente em receptores

opióides, sugerindo que o efeito recorrente é opióide específico, ou seja, que os receptores opióides são os receptores críticos envolvidos.

CTOP é um peptídeo análogo da somatostatina, e um antagonista altamente seletivo dos receptores opióides *mu*. (HAWKINS *et al.*, 1988).

A administração i.t. de CTOP (0,18 µg) promoveu uma recorrência de aumento de atividade eletromiográfica nos músculos digástrico ipsilateral e contralateral e masseter ipsilateral. A menor concentração de CTOP, necessária para o efeito de recorrência, parece ser ao redor de 0,18 µg, uma vez que na concentração de 0,06 µg, o mesmo mostrou - se ineficaz (figura 6).

A resposta desencadeada pelo CTOP (0,18 µg) de aumento de atividade eletromiográfica ocorreu em duas fases. A primeira fase foi observada imediatamente após a administração i.t. do mesmo e a segunda de 20 a 25 minutos após (figura 7).

Embora o mecanismo responsável por esse comportamento bifásico da resposta seja desconhecido, é possível que a primeira fase, esteja mais relacionada ao fator de concentração da droga, e a segunda, mais especificamente a resposta opióide.

O fator de concentração refere-se a uma suposta irritação que a droga poderia causar quando administrada intratecalmente nessa concentração ou em concentrações maiores, como no caso de 0,60 µg, e não à uma resposta desencadeada por estímulo volumétrico do tecido, uma vez que a administração da referida droga, no mesmo volume, entretanto numa concentração 3 vezes inferior, não produziu tal resposta (figura 6).

Tanto os mecanismos opióides central como periférico, têm sido implicados na modulação da transmissão nociceptiva associada a injúria ou inflamação dos tecidos periféricos (BESSON & CHAOUCH, 1987).

Ao contrário da naloxona, que é um alcalóide altamente lipofílico, CTOP apresenta natureza hidrofílica (XU *et al.*, 1992). Assim sendo, é bem provável que este, uma vez administrado intratecalmente, permaneça nas proximidades do local onde foi administrado, sugerindo que o sítio de liberação dos opióides endógenos em resposta à administração de OM na ATM poderia ser no sc.

Tal hipótese é reforçada pelo estudo eletrofisiológico de HU *et al.* (1994), no qual foi demonstrado que a administração de naloxona (1,3 mg/Kg, i.v.) 30 minutos após a injeção de OM no músculo da língua, período em que a expansão inicial do campo receptivo já havia desaparecido, provocava uma segunda expansão no campo receptivo de 3 dos 5 neurônios nociceptivos caudalis testados.

Tanto os resultados eletromiográficos deste trabalho, referentes a administração i.t. de antagonistas opióides, especialmente o antagonista opióide específico para o receptor *mu*, CTOP, como os dados provenientes da atividade neuronal descritos na literatura, sugerem o envolvimento de mecanismos opióides centrais.

A questão do envolvimento de mecanismos opióides centrais foi levantada anteriormente por YU *et al.* (1994b). Os autores observaram que a administração sistêmica do antagonista opióide periférico metilnaloxona (SCHROEDER *et al.* 1991), (20 mg/Kg, i.v.), era ineficaz em produzir o efeito recorrente.

No entanto, não podemos descartar a possibilidade de envolvimento de mecanismos opióides periféricos na modulação da resposta dolorosa desencadeada pela administração de OM na ATM. Dados da

literatura sugerem a participação de mecanismos opióides periféricos, especialmente no caso de processos inflamatórios (STEIN, 1992). Considerando ainda, que grande parte da síntese dos receptores opióides ocorre nas células ganglionares da raiz dorsal e que uma vez sintetizados, esses receptores são transportados tanto centralmente como periféricamente (RAMABADRAN, 1990), é bem possível que a ativação de receptores opióides periféricos possa induzir analgesia periférica.

Nossos resultados demonstram que o CTOP, foi mais potente que a naloxona em produzir o efeito recorrente, quando administrado intratecalmente 30 minutos após o OM (tabela 10), o mesmo ocorrendo em relação a sua administração isolada quando comparada com a administração isolada de naloxona.

A maior potência do CTOP, poderia ser influenciada por fatores farmacocinéticos.

Segundo MACQUAY *et al.* (1989), existe uma relação inversa entre lipofilidade e potência dos agonistas opióides, o que nos leva a especular que o mesmo fenômeno poderia ser aplicado aos antagonistas utilizados neste trabalho.

Devido a sua característica hidrofílica, o CTOP poderia permanecer nas proximidades do local onde foi administrado, via i.t., como mencionado anteriormente, enquanto que a naloxona por ser um alcalóide altamente lipofílico, poderia se ligar a sítios lipídicos não específicos, o que reduziria o número de moléculas que atingiriam os receptores específicos. Essas diferenças farmacocinéticas poderiam, pelo menos parcialmente, explicar a diferença de potência, entre esses antagonistas, observada no presente estudo.

Como observado (figura 7), a administração isolada de CTOP (0,18 µg) induziu um aumento significativo na atividade eletromiográfica dos

músculos digástrico ipsilateral e contralateral e masseter ipsilateral à administração de OM na ATM.

É possível que esse efeito esteja associado a uma provável ativação tônica do sistema opióide endógeno.

Dados da literatura sugerem que a atividade tônica do sistema opióide endógeno parece modular a informação nociceptiva visceral via receptor *mu* (BORGBJERG, 1996), a atividade de neurônios multireceptivos do corno posterior da substância cinzenta da medula espinhal de ratos portadores de artrite (LOMBARD & BESSON, 1989), como também reduzir o sinal doloroso desencadeado por estímulos nocivos induzidos pela administração de formalina (OSSIPOV *et al.*, 1996).

CTOP também tem sido associado a um aumento na atividade locomotora de ratos, em modelo experimental comportamental, quando administrado na área tegmental ventral (BADIANI *et al.*, 1995).

Por outro lado, a magnitude da resposta desencadeada pela administração de CTOP (0,18 µg) 30 minutos após o OM, foi significativamente maior do que a resposta desencadeada pela administração isolada do mesmo, na mesma concentração (tabela 5), sugerindo que o envolvimento dos receptores *mu* na modulação da transmissão nociceptiva é particularmente exacerbado em condições inflamatórias. Além disso, não só a magnitude da resposta, como também a incidência da mesma, foi significativamente maior no grupo em que o CTOP foi administrado 30 minutos após o OM quando comparada com a de seu grupo controle, no qual o mesmo foi administrado isoladamente (tabela 4).

Utilizado numa concentração maior (0,60 µg) o CTOP não produziu um aumento no efeito recorrente, tendo sido este na verdade, menor do que o observado na concentração de 0,18 µg, e restrito aos

músculos digástrico ipsilateral e contralateral no período imediatamente após a administração da droga (figura 8). No entanto, a magnitude da resposta desencadeada por CTOP a 0,18 μ g e a 0,60 μ g não foi significativamente diferente (tabela 5).

É possível que, essa diferença tivesse sido ainda menor se tivéssemos aumentado o tamanho da amostra de ambos os grupos experimentais, sugerindo que estaríamos no plato da curva dose resposta. Uma outra hipótese, seria de que na concentração de 0,60 μ g, o CTOP pudesse afetar outros sistemas e interagir com outros receptores, produzindo consequentemente, efeitos inespecíficos.

Embora a incidência da resposta desencadeada pela administração i.t. de CTOP 0,60 μ g, 30 minutos após a administração de OM, tenha sido relativamente maior do que a incidência da resposta desencadeada pela administração isolada do mesmo na mesma concentração, essa diferença não foi significativa (tabela 4). Similarmente, a magnitude da resposta também não diferiu significativamente (tabela 5).

Dessa forma, esse aparente efeito recorrente observado quando CTOP (0,60 μ g) foi administrado 30 minutos após o OM, pode não estar totalmente associado ao efeito facilitatório induzido pelo OM.

Nossos resultados demonstram que a administração do antagonista opióide específico para os receptores *delta*, NTI (0,1 mg, 0,5 mg), não promoveu um aumento significativo na atividade eletromiográfica dos músculos estudados quando administrado após o OM ou isoladamente (0,5 mg), (figuras 9, 10; tabelas 6, 7). Isso sugere que o processo de modulação da resposta dolorosa induzida pela administração de OM na ATM parece não envolver mecanismos opióides *delta*.

GRUDT & WILLIAMS (1994), demonstraram que os agonistas opióides *mu*, mas não os *delta*, inibem a atividade dos neurônios da substância gelatinosa do Sc do Sistema Trigeminal.

Ao contrário do NTI, norBNI (15µg), o antagonista opióide específico para o receptor *capa*, induziu uma recorrência de aumento de atividade eletromiográfica, significativo nos músculos digástrico e masseter ipsilateral e digástrico contralateral (figura 11). Apesar da administração isolada do mesmo não ter induzido um aumento de atividade significativo em nenhum dos músculos estudados, foi observado um efeito excitatório em alguns dos músculos de alguns dos animais (tabela 8). De qualquer forma, a magnitude do efeito recorrente foi significativamente maior que a magnitude do efeito excitatório, como observado no músculo digástrico ipsilateral, favorecendo a correlação da resposta com o efeito facilitatório induzido pelo OM (tabela 9). Tais resultados sugerem o envolvimento dos receptores *capa* na modulação da resposta dolorosa associada ao processo inflamatório.

STILLER *et al.* (1993), num estudo eletrofisiológico, também observaram um efeito excitatório após a administração iontoforética de norBNI em animais experimentais controles que não foram submetidos a indução de processo inflamatório. No entanto, demonstraram que tal efeito era significativamente maior, na resposta de neurônios medulares induzida pela aplicação de estímulo mecânico, após o desenvolvimento de processo inflamatório, reforçando a idéia de ativação do sistema opióide endógeno e do envolvimento de mecanismos opióides *capa*, na modulação da resposta dolorosa durante o estado inflamatório.

Por outro lado, segundo DUBNER & RUDA (1992), a indução de processo inflamatório na pata traseira de rato promove um aumento na expressão do RNAm da pró-dinorfina na medula espinhal e paralelamente

uma hiperalgesia comportamental associada a inflamação. No entanto, esse efeito hiperalgésico associado ao aumento da expressão de preprodinorfina foi observado 4 h após a indução do processo inflamatório. Diante disso, os autores propõem um modelo no qual a dinorfina, Substância P e o gene relacionado da calcitonina aumentam a excitabilidade dos receptores NMDA promovendo hiperexcitabilidade neuronal medular e consequentemente despolarização excessiva e excitotoxicidade.

Diante de tais observações é possível que a dinorfina apresente 2 efeitos distintos, um imediato a nível de receptor opióide onde ela modularia a resposta dolorosa, e um tardio potencializando a atividade dos aminoácidos excitatórios nos receptores NMDA o que promoveria consequentemente, uma hiperexcitabilidade neuronal.

Estudos eletrofisiológicos como o STANFA & DICKENSON, (1994) sugerem que a administração i.t. de norBNI, parece promover um aumento na liberação de dinorfina medular no estado inflamatório. No mesmo trabalho, utilizando-se Kelatorfan, um inibidor de peptidase para proteger as encefalinas contra degradação, as quais por sua vez atuam nos receptores *delta*, os autores não observaram alterações nos efeitos da droga no estado inflamatório, sugerindo que após a inflamação, parece não haver um aumento na potência das encefalinas, o que está de acordo com os nossos resultados obtidos com o NTL, um antagonista opióide específico para o receptor *delta*.

Estudando os efeitos antinociceptivos de opióides exógenos, GUIRIMAND *et al.* (1994), obtiveram resultados semelhantes aos do presente trabalho. Através de um estudo eletromiográfico, verificaram que a resposta reflexa do músculo bíceps femural induzida por estimulação elétrica de fibras C no território do nervo sural, era inibida pela administração i.t. de

morfina, e completamente revertida pela naloxona, CTOP , norBNI, e apenas parcialmente por NTI.

Ainda nesse mesmo trabalho, os autores demonstraram que a dose de norBNI que revertia o bloqueio da resposta reflexa induzido pela morfina, também revertia os efeitos de uma dose equipotente de DAMGO, um agonista opióide seletivo para os receptores *mu*, questionando dessa forma a seletividade de norBNI para com os receptores *capa*. Entretanto, o norBNI é amplamente utilizado como um antagonista seletivo para os receptores *capa* em inúmeros estudos “in vivo”, e o melhor disponível no momento.

Assim sendo, nossos resultados sugerem que a atividade muscular reflexamente induzida pela aplicação de estímulos nocivos na ATM, é modulada por um mecanismo opióide central, e apontam para o envolvimento específico do subtipo de receptor opióide *capa*, e especialmente *mu*, na modulação desse reflexo nociceptivo.

6 - CONCLUSÕES

- A modulação da atividade dos músculos digástricos e masseteres reflexamente desencadeada pela estimulação nociva da ATM envolve um mecanismo opióide central.
- Os resultados evidenciam o envolvimento específico do subtipo de receptor opióide *capa*, e especialmente *mu*, na modulação desse reflexo nociceptivo desencadeado pela administração de OM na ATM de ratos.

APÊNDICE

Tabelas suplementares dos resultados individuais da amostra.

Tabela 1.1 - Valores individuais do efeito desencadeado pela administração de OM na ATM de ratos do grupo OM+naloxona (-). Os valores apresentados correspondem a média da área de atividade eletromiográfica dos 30 minutos posteriores à administração OM.

Músculo	Digástrico ipsilateral a administração de OM	Masseter ipsilateral a administração de OM	Digástrico contralateral a administração de OM	Masseter contralateral a administração de OM
Animal				
1	53,96	49,66	37,02	30,66
2	63,50	56,71	42,36	30,08
3	94,33	171,20	72,78	36,77
4	63,87	110,49	52,64	53,47
5	62,73	83,80	49,81	39,67
6	38,91	41,06	41,28	30,63
7	35,23	45,95	40,76	29,19
média ± DP	58,9±19,6	79,8±47,3	48,09±12,17	35,78±8,7

Tabela 1.2 - Valores individuais do efeito desencadeado pela administração de OM na ATM de ratos do grupo OM+naloxona (+). Os valores apresentados correspondem a média da área de atividade eletromiográfica dos 30 minutos posteriores à administração OM.

Músculo	Digástrico ipsilateral a administração de OM	Masseter ipsilateral a administração de OM	Digástrico contralateral a administração de OM	Masseter contralateral a administração de OM
Animal				
1	98,52	49,49	34,22	31,33
2	97,86	136,80	59,64	30,27
3	85,06	70,84	42,47	30,31
4	36,83	35,33	77,54	30,93
5	49,76	76,64	47,80	31,14
6	48,68	37,65	31,19	27,86
média ± DP	69,5±27,5	67,8±37,8	48,8±17,4	30,3±1,3

Tabela 1.3 - Valores individuais do efeito desencadeado pela administração de OM na ATM de ratos do grupo OM+CTOP (0,06 µg). Os valores apresentados correspondem a média da área de atividade eletromiográfica dos 30 minutos posteriores à administração OM.

Músculo	Digástrico ipsilateral a administração de OM	Masseter ipsilateral a administração de OM	Digástrico contralateral a administração de OM	Masseter contralateral a administração de OM
Animal				
1	48,36	37,10	41,70	29,81
2	56,83	74,67	40,88	29,92
3	64,05	107,96	92,73	31,27
4	44,28	61,88	41,12	30,08
5	56,27	64,03	89,79	38,71
6	52,13	31,29	82,42	28,17
média ± DP	53,7±7,0	62,8±27,7	64,8±26,0	31,3±3,7

Tabela 1.4 - Valores individuais do efeito desencadeado pela administração de OM na ATM de ratos do grupo OM+CTOP (0,18 µg). Os valores apresentados correspondem a média da área de atividade eletromiográfica dos 30 minutos posteriores à administração OM.

Músculo	Digástrico ipsilateral a administração de OM	Masseter ipsilateral a administração de OM	Digástrico contralateral a administração de OM	Masseter contralateral a administração de OM
Animal				
1	62,33	75,09	44,34	31,11
2	119,24	194,80	261,52	53,30
3	75,12	90,13	64,51	33,06
4	189,35	158,09	82,10	81,35
5	67,76	98,09	144,97	30,66
6	61,72	39,01	36,66	29,01
7	71,94	79,62	64,35	29,53
média ± DP	92,5±47,1	105,0±53,3	99,8±79,7	41,1±19,7

Tabela 1.5 - Valores individuais do efeito desencadeado pela administração de OM na ATM de ratos do grupo OM+CTOP (0,60 µg). Os valores apresentados correspondem a média da área de atividade eletromiográfica dos 30 minutos posteriores à administração OM.

Músculo	Digástrico ipsilateral a administração de OM	Masseter ipsilateral a administração de OM	Digástrico contralateral a administração de OM	Masseter contralateral a administração de OM
Animal				
1	45,49	43,13	53,55	29,89
2	70,46	49,12	71,62	29,99
3	63,43	61,81	125,16	38,08
4	42,32	40,68	38,26	40,41
5	51,17	58,34	53,11	29,38
6	83,94	64,09	52,66	31,01
7	51,26	49,17	58,98	30,53
8	42,52	84,19	50,97	29,88
9	45,39	57,36	112,68	38,77
10	61,12	62,27	43,42	30,40
média ± DP	55,7±13,8	57,0±12,6	66,0±29,4	32,8±4,4

Tabela 1.6 - Valores individuais do efeito desencadeado pela administração de OM na ATM de ratos do grupo OM+NTI (0,1 mg). Os valores apresentados correspondem a média da área de atividade eletromiográfica dos 30 minutos posteriores à administração OM.

Músculo	Digástrico ipsilateral a administração de OM	Masseter ipsilateral a administração de OM	Digástrico contralateral a administração de OM	Masseter contralateral a administração de OM
Animal				
1	32,14	30,04	31,34	29,32
2	53,0	56,51	54,87	54,71
3	53,06	53,85	45,14	29,84
4	55,10	37,56	34,96	25,49
5	33,63	51,72	43,83	29,92
6	69,87	151,46	74,12	31,30
7	57,50	33,99	31,40	30,06
média ± DP	50,6±13,4	50,6±13,4	45,1±15,4	32,9±9,8

Tabela 1.7 - Valores individuais do efeito desencadeado pela administração de OM na ATM de ratos do grupo OM+NTI (0,5 mg). Os valores apresentados correspondem a média da área de atividade eletromiográfica dos 30 minutos posteriores à administração OM.

Músculo	Digástrico ipsilateral a administração de OM	Masseter ipsilateral a administração de OM	Digástrico contralateral a administração de OM	Masseter contralateral a administração de OM
Animal				
1	86,42	50,72	77,43	32,09
2	59,99	75,77	70,85	30,45
3	61,16	42,22	55,86	29,80
4	62,18	106,28	57,57	37,32
5	133,01	57,33	82,73	27,25
6	68,71	120,21	54,86	31,08
7	82,41	325,35	86,80	32,60
média ± DP	79,1±26	111,1±98,8	69,4±13,4	31,5±3,1

Tabela 1.8 - Valores individuais do efeito desencadeado pela administração de OM na ATM de ratos do grupo OM+norBNI (15 µg). Os valores apresentados correspondem a média da área de atividade eletromiográfica dos 30 minutos posteriores à administração OM.

Músculo	Digástrico ipsilateral a administração de OM	Masseter ipsilateral a administração de OM	Digástrico contralateral a administração de OM	Masseter contralateral a administração de OM
Animal				
1	70,50	35,70	113,91	29,84
2	32,66	29,45	30,38	29,71
3	49,19	49,82	48,15	30,18
4	57,10	60,76	67,09	35,06
5	37,16	57,90	38,87	31,35
6	51,65	68,64	38,14	29,81
média ± DP	49,7±13,7	49,7±13,7	56,1±31,0	31,0±2,1

Tabela 3.1 - Valores individuais do efeito desencadeado pela administração i.t. de naloxona(-) na atividade dos músculos mastigatórios induzida pela administração de OM na ATM. Os valores apresentados correspondem a média da área de atividade eletromiográfica dos 50 minutos posteriores à administração de naloxona.

Músculo	Digástrico ipsilateral a administração de OM	Masseter ipsilateral a administração de OM	Digástrico contralateral a administração de OM	Masseter contralateral a administração de OM
Animal				
1	93,20	42,97	63,72	52,64
2	92,61	59,59	113,48	66,93
3	115,31	105,85	108,15	87,70
4	88,52	88,21	77,19	55,05
5	67,58	57,37	59,76	62,07
6	65,25	116,28	80,12	61,93
7	63,49	65,67	63,41	49,95
média±DP	87,70±19,2	76,56±27,3	80,83±21,9	62,32±12,7

Tabela 3.2 - Valores individuais do efeito desencadeado pela administração i.t. isolada de naloxona(-) na atividade dos músculos mastigatórios. Os valores apresentados correspondem a média da área de atividade eletromiográfica dos 50 minutos posteriores à administração de naloxona.

Músculo	Digástrico ipsilateral a administração de OM	Masseter ipsilateral a administração de OM	Digástrico contralateral a administração de OM	Masseter contralateral a administração de OM
Animal				
1	125,76	42,99	69,67	46,22
2	47,96	48,78	50,52	49,33
3	50,95	51,99	52,23	49,94
4	52,07	49,94	52,25	51,19
5	50,58	49,37	52,05	49,15
6	49,93	50	51,57	48,99
7	50,92	50,56	54,52	49,71
média ± DP	61,16±28,5	49,09±2,9	54,68±6,7	49,21±1,5

Tabela 3.3 - Valores individuais do efeito desencadeado pela administração i.t. de naloxona(+) na atividade dos músculos mastigatórios induzida pela administração de OM na ATM. Os valores apresentados correspondem a média da área de atividade eletromiográfica dos 50 minutos posteriores à administração de naloxona.

Músculo	Digástrico ipsilateral a administração	Masseter ipsilateral a administração	Digástrico contralateral a administração	Masseter contralateral a administração
Animal	de OM	de OM	de OM	de OM
1	60,76	48,38	50,42	51,54
2	71,8	50,74	60,82	50,52
3	53,48	45,18	50,36	50,26
4	45,3	50,48	43,62	51,08
5	51,46	51,6	52,16	51,14
6	49,02	46,78	54,82	52,22
média $\pm$ DP	55,30 $\pm$ 9,6	48,86 $\pm$ 2,5	52,03 $\pm$ 5,7	51,12 $\pm$ 0,7

Tabela 5.1 - Valores individuais do efeito desencadeado pela administração i.t. de CTOP (0,06 μ g) na atividade dos músculos mastigatórios induzida pela administração de OM na ATM. Os valores apresentados correspondem a média da área de atividade eletromiográfica dos 50 minutos posteriores à administração de CTOP.

Músculo	Digástrico ipsilateral a administração	Masseter ipsilateral a administração	Digástrico contralateral a administração	Masseter contralateral a administração
Animal	de OM	de OM	de OM	de OM
1	48,49	48,31	51,97	50,35
2	52,13	52,81	53,07	50,31
3	50,45	48,6	49,71	49,91
4	58,78	48,04	46,65	49,91
5	48	45,22	48,20	47,56
6	48,86	43,43	47,07	46,93
média $\pm$ DP	48,92 $\pm$ 7,0	45,62 $\pm$ 5,7	65,18 $\pm$ 43,9	47,04 $\pm$ 5,0

Tabela 5.2 - Valores individuais do efeito desencadeado pela administração i.t. de CTOP (0,18 µg) na atividade dos músculos mastigatórios induzida pela administração de OM na ATM. Os valores apresentados correspondem a média da área de atividade eletromiográfica dos 50 minutos posteriores à administração de CTOP.

Músculo	Digástrico ipsilateral a administração de OM	Masseter ipsilateral a administração de OM	Digástrico contralateral a administração de OM	Masseter contralateral a administração de OM
Animal				
1	93,29	89,52	72,81	50,14
2	126,95	226,06	246,26	80,96
3	56,30	56,64	51,67	49,46
4	102,86	85,20	76,26	51,53
5	69,03	65,28	95,75	50,40
6	110,80	55,87	59,10	50,52
7	90,94	102,70	111,77	50,28
média ± DP	92,78±24,0	97,32±59,5	101,94±66,9	54,75±11,6

Tabela 5.3 - Valores individuais do efeito desencadeado pela administração i.t. isolada de CTOP (0,18 µg) na atividade dos músculos mastigatórios. Os valores apresentados correspondem a média da área de atividade eletromiográfica dos 50 minutos posteriores à administração de CTOP.

Músculo	Digástrico ipsilateral a administração de OM	Masseter ipsilateral a administração de OM	Digástrico contralateral a administração de OM	Masseter contralateral a administração de OM
Animal				
1	89,51	80,94	62,93	48,23
2	57,12	50,26	59,10	50,14
3	76,07	53,32	60,37	54,94
4	51,62	60,74	53,41	50,17
5	49,56	45,81	50,11	48,68
6	52,26	51,84	52,54	50,51
7	51,59	52,02	53,70	51,49
média ± DP	61,10±15,5	56,41±11,7	56,02±4,8	50,59±2,2

Tabela 5.4 - Valores individuais do efeito desencadeado pela administração i.t. de CTOP (0,60 µg) na atividade dos músculos mastigatórios induzida pela injeção de OM na ATM. Os valores apresentados correspondem a média da área de atividade eletromiográfica dos 50 minutos posteriores à administração de CTOP.

Músculo	Digástrico ipsilateral a administração de OM	Masseter ipsilateral a administração de OM	Digástrico contralateral a administração de OM	Masseter contralateral a administração de OM
Animal				
1	54,38	46,50	56,31	49,80
2	78,33	40,03	77,61	51,14
3	69,35	40,37	103,16	53
4	97,57	59,97	66,65	51,14
5	53,34	48,65	57,49	48,25
6	101,66	52,40	70,10	50,34
7	53,25	50,74	51,82	50,91
8	73,68	433,34	134,87	86,36
9	49,36	48,51	48,44	51,07
10	57	58,03	55,93	50,30
média ± DP	68,79±18,9	87,85±121,6	72,23±27,2	55,11±12,7

Tabela 5.5 - Valores individuais do efeito desencadeado pela administração i.t. isolada de CTOP (0,60 µg) na atividade dos músculos mastigatórios. Os valores apresentados correspondem a média da área de atividade eletromiográfica dos 50 minutos posteriores à administração de CTOP.

Músculo	Digástrico ipsilateral a administração de OM	Masseter ipsilateral a administração de OM	Digástrico contralateral a administração de OM	Masseter contralateral a administração de OM
Animal				
1	49,67	48,54	49,81	50,02
2	76,11	62,25	63,77	57,58
3	49,80	51,21	51,36	50,09
4	49,90	49,30	48,57	48,07
5	54,55	51,81	54,34	47,24
6	64,24	63,40	54,58	50,79
média ± DP	57,37±10,8	54,91±7,4	53,73±5,5	50,63±3,7

Tabela 7.1 - Valores individuais do efeito desencadeado pela administração i.t. de NTI (0,1 mg) na atividade dos músculos mastigatórios induzida pela administração de OM na ATM. Os valores apresentados correspondem a média da área de atividade eletromiográfica dos 50 minutos posteriores à administração de NTI.

Músculo	Digástrico ipsilateral a administração de OM	Masseter ipsilateral a administração de OM	Digástrico contralateral a administração de OM	Masseter contralateral a administração de OM
Animal				
1	50,53	49,17	48,04	48,80
2	51,95	55,43	53,79	53,59
3	50,10	50,19	49,29	50,32
4	50,10	55,23	49,64	42,75
5	52,01	51,72	57,34	49,89
6	51,50	108,99	58,98	51,99
7	49,91	51,06	51,78	50,39
média ± DP	50,87±0,9	60,25±21,6	52,69±4,2	49,67±3,4

Tabela 7.2 - Valores individuais do efeito desencadeado pela administração i.t. de NTI (0,5 mg) na atividade dos músculos mastigatórios induzida pela administração de OM na ATM. Os valores apresentados correspondem a média da área de atividade eletromiográfica dos 50 minutos posteriores à administração de NTI.

Músculo	Digástrico ipsilateral a administração de OM	Masseter ipsilateral a administração de OM	Digástrico contralateral a administração de OM	Masseter contralateral a administração de OM
Animal				
1	51,04	49,91	52,72	51,38
2	50,85	49,09	55,50	49,97
3	48,61	52,93	51,43	50,66
4	50,93	74,05	56,70	48,71
5	52,38	46,20	48,47	47,13
6	60,27	54,97	57,23	54,09
7	51,47	53,80	52,83	51,08
média ± DP	52,22±3,7	54,42±9,2	53,55±3,1	50,43±2,2

Tabela 7.3 - Valores individuais do efeito desencadeado pela administração i.t. isolada de NTI (0,5 mg) na atividade dos músculos mastigatórios. Os valores apresentados correspondem a média da área de atividade eletromiográfica dos 50 minutos posteriores à administração de NTI.

Músculo	Digástrico ipsilateral a administração de OM	Masseter ipsilateral a administração de OM	Digástrico contralateral a administração de OM	Masseter contralateral a administração de OM
Animal				
1	54,38	49,71	54,11	49,48
2	95,14	49,32	74,39	48,03
3	50,32	46,73	49,98	48,35
4	53,99	48,99	55,08	49,80
5	50,15	46,19	55,42	53,35
6	50,40	49,13	46,55	50,01
7	53,60	48,61	52,56	50,76
8	49,26	48,67	49,03	49,22
média ± DP	57,15±15,5	48,41±1,3	54,64±8,6	49,87±1,6

Tabela 9.1 - Valores individuais do efeito desencadeado pela administração i.t. de norBNI (15µg) na atividade dos músculos mastigatórios induzida pela administração de OM na ATM. Os valores apresentados correspondem a média da área de atividade eletromiográfica dos 50 minutos posteriores à administração de norBNI.

Músculo	Digástrico ipsilateral a administração de OM	Masseter ipsilateral a administração de OM	Digástrico contralateral a administração de OM	Masseter contralateral a administração de OM
Animal				
1	59,27	50,87	62,60	49,95
2	78,99	59,19	54,89	51,14
3	59,75	53,96	58,43	51,27
4	51,28	61,61	45,52	55,41
5	65,69	53,82	51,50	51,46
6	77,84	50,85	50,61	50,38
média ± DP	65,47±11,0	55,05±4,4	53,92±6,1	51,60±1,9

Tabela 9.2 - Valores individuais do efeito desencadeado pela administração i.t. isolada de norBNI (15µg) na atividade dos músculos mastigatórios. Os valores apresentados correspondem a média da área de atividade eletromiográfica dos 50 minutos posteriores à administração de norBNI.

Músculo	Digástrico ipsilateral a administração de OM	Masseter ipsilateral a administração de OM	Digástrico contralateral a administração de OM	Masseter contralateral a administração de OM
Animal				
1	51,83	53,93	50,96	52,27
2	49,52	48,73	48,72	48,73
3	51,28	49,02	52,99	46,99
4	52,12	56,94	48,04	48,45
5	54,47	61,15	69,05	60,72
6	50,23	71,26	64,52	53,18
média ± DP	51,57±1,7	56,83±8,5	55,7±8,9	51,72±5,0

SUMMARY

It has been previously shown that systemic (YU *et al.*, 1994b) as well intrathecal (SEO *et al.*, 1995) administration of the non-selective opioid antagonist naloxone induces a “rekindling” of increased electromyographic (EMG) activity reflexly evoked in jaw muscles by injection of the C-fibre excitant and inflammatory irritant, mustard oil (MO), into the temporomandibular joint (TMJ) of rats.

The purpose of this study was to test the stereospecificity of Naloxone effects and the specific involvement of *mu*, *delta* and *kappa* opioid mechanisms in this rekindling effect. In 90 rats anaesthetized with halothane/NO₂/O₂, EMG activity was recorded bilaterally from digastric (DIG) and masseter (MASS) muscles for 20 minutos, and then MO (20%, 20µl) was injected into the TMJ region. The inespecific opioid antagonist, Naloxone(-) (30µg); its ineffective isomer Naloxone(+) (30µg); the specific *mu* opioid antagonist, CTOP (0.06, 0.18, 0.60 µg); *kappa* antagonist nor-BNI DIHYDROCHLORIDE (15µg) or *delta* antagonist NTI HYDROCHLORIDE (0.1, 0.5mg) was applied (30µl, intrathecal) 30 minutos after MO application and the EMG activity was continuously recorded for another 50 minutos Post-Naloxone(-), Naloxone(+), CTOP, NTI HYDROCHLORIDE or norBNI DIHYDROCHLORIDE EMG activity was statistically ($p < 0.05$, Mann-Whitney test) compared with baseline EMG activity (100%). The intratecal administration of the inespecific opioid antagonist, Naloxone(+), induced a significant stereospecific rekindling effect in IP-DIG ($167,4 \pm 19,2\%$), CL-DIG ($161,7 \pm 21,9\%$) and IP-MASS ($153,1 \pm 27,3\%$), CT-MASS ($124,6 \pm 12,7\%$). The intrathecal administration of the specific *mu* opioid antagonist, CTOP (0.18µg), produced a significant

rekindling in IP-MASS (194.6 ± 59.5 %) and CL-DIG (203.9 ± 66.9 %) and 6 in IP-DIG (185.6 ± 24.0). At the lowest concentration, $0.06\mu\text{g}$, CTOP was ineffective and at the highest, 0.60 , there was no additional increase over $0.18\mu\text{g}$. norBNI DIHYDROCHLORIDE produced a significant rekindling in IP-DIG (131.0 ± 11.0 %) and in IP-MASS (110.1 ± 4.4 %). The intrathecal administration of the specific *delta* antagonist, NTI HYDROCHLORIDE, did not induce a significant rekindling effect in any of the muscles studied.

These data provide evidence for a centrally based opioid modulation of jaw muscle activity reflexly evoked by noxious stimulation of the TMJ, and further point to the specific involvement of the *kappa* and specially *mu* opioid receptor subtype in the modulation of this nociceptive reflex.

Key words: *opioids, TMJ, mustard oil, inflammation*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMANO, N., HU, J.W., SESSLE, B.J. Responses of neurons in feline trigeminal subnucleus caudalis (medullary dorsal horn) to cutaneous, intraoral and muscle afferent stimuli. **J. Neurophysiol.**, Bethesda, v.55, 227-243, 1986.
2. BADIANI, A., LEONE, P., STEWART, J. Intra VTA injections of the mu opioid antagonist CTOP enhance locomotor activity. **Brain Res.**, Amsterdam, v.690, n.1, p.112-116, Aug. 1995.
3. BAKKE, M., HU, J.W., SESSLE, B.J. Involvement of NK-1 and NK-2 receptor mechanisms in jaw muscles activity reflexly evoked by inflammatory irritant application to the temporomandibular joint. In: 8th World Congress on Pain Abstracts, Seattle: IASP Press, 1996. p.232.
4. BESSE, D. et al. Pre and postsynaptic distribution of *mu*, *delta* and *kappa* opioid receptors in the superficial layers of the cervical dorsal horn of the rat spinal cord. **Brain Res.**, Amsterdam, v.521, p.15-22, 1991.
5. BESSON, J.M., CHAOUCH, A. Axonal and dendritic development of substantia gelatinosa neurons in the lumbosacral spinal cord of the rat. **J. comp. Neurol.**, New York, v.226, p.508-522, 1987.

6. BORGBJERG, F.M., FRIGAST, C., MADSEN, J.B. Tonic endogenous opioid inhibition of visceral noxious information in rabbits. **Gastroenterology**, New York, v.111, n.1, p.78-84, July, 1996.

7. BROTON, J.G., HU, J.W., SEESLE, B.J. Convergent temporomandibular joint and cutaneous intraoral afferent inputs to trigeminal (V) subnucleus caudalis (medullary dorsal horn) neurones. **J. Neurophysiol.**, Bethesda, v.59, n.5 , p.1577-1589, May, 1988.

8. CAPRA, N. Localization and central projections of primary aferents nerves that innervate the temporomandibular joint in cats. **Somatosensory Res.**, New York, p.201-213, 1987.

9. CATLEY, D.M., CLARKE, R.W., PASCOE, J.E. Naloxone enhancement of spinal reflex in the rabbit. **J. Physiol.**, Cambridge, v.339, p.61-73, June, 1983.

10. CERVERO, F., LAVID, J.M.A & POZO, MA. Selective changes of receptive field properties of spinal nociceptive neurones induced by visceral noxious stimulation in the cat. **Pain**, v.51, p.335-342, 1992.

11. CHIANG, C.Y., HU, J.W., SESSLE, B.J. Parabrachial area and nucleus raphe magnus-induced modulation of nociceptive and nonnocipetive trigeminal subnucleus caudalis neurons activated by cutaneous or deep inputs. **J. Neurophysiol.**, Bethesda, v.71, p.2430-2445, 1994.

12. CHIANG, C.Y., SESSLE, B.J., HU, J.W. Parabrachial area and nucleus raphe magnus - induced modulation of electrically evoked trigeminal sub nucleus caudalis neuronal responses to cutaneous or deep A - fiber and C - fiber inputs in rat. **Pain**, Amsterdam, v.62, p.61-68, 1995.

13. COOPER, B.Y., SESSLE, B.J. Anatomy, physiology and pathophysiology of trigeminal system paresthesias and dysesthesias. **Oral Maxillofac. Surg. Clin.**, v.4, p.297-322, 1992.

14. DICHIARA, G., NORTH, R.A. Neurobiology of opiate abuse. **Trends Pharmac. Sci.**, Amsterdam, v.131, p.185-192, 1992.

15. DICKENSON, A.H. Platicity: Implications for opioids and other pharmacological interventions in specific pain states, 1997. *In Press*.

16. DICKENSON, A.H. Where and how do opioids act? In: PROCEEDINGS OF THE WORLD CONGRESS ON PAIN: PROGRESS IN PAIN RESEARCH AND MANAGEMENT, 7., 1993, Paris. **Anais...** Seattle: IASP, 1994. v.2, p.525-552.

17. DOSTROVSKY, J.O., DAVIS, K.D., KAWAKITA, K. Central mechanisms of vascular headaches. **Can. J. Physiol. Pharmac.**, Ottawa, v.69, p.652-658, 1991.

18. DUBNER, R. Pain control in dentistry: the anatomic and physiologic basis of orofacial pain. **Pain**, Amsterdam, v.8, p. 409-416, 1986.

19. DUBNER, R., BENNET, G.J. Spinal and trigeminal mechanisms of nociception. **Ann. Rev. Neurosci.**, v.6, p.381-418, 1983.
20. _____, RUDA, M.A. Activity-dependent neuronal plasticity following tissue injury and inflammation. **Trends Neurosci.**, Amsterdam, v.15, n.3 , p.96-103, 1992.
21. DUGGAN, A.W., NORTH, R.A. Electrophysiology of opioids. **Pharmac. Rev.**, Baltimore, v.35, p.219-281, 1984.
22. EBERSBERGER, A. et al. Morphine, 5-HT₂ and 5HT₃ receptor antagonists reduce c-fos expression in the trigeminal nuclear complex following noxious chemical stimulation of the rat nasal mucosa. **Brain Res.**, Amsterdam, v.676, n. 2 , p.336-342, Apr., 1995.
23. FALLINOVER, S. et al. AC-fiber reflex modulated by heterotopic noxious somatic stimuli in the rat. **J. Neurophysiol.**, Bethesda, v.72, p.194-213, 1994.
24. FIELDS, H., BASBAUM, A.I. Central nervous system mechanisms of pain modulation. In: WALL, P.D., MELZACK, R., ed. **Textbook of pain**. 3.ed. Edinburg: Churchill Livingstone, 1994, p.243-257.

25. FITZGERALD, M., WOOLF, C. The stereospecific effect of naloxone on rat dorsal horn neurons: inhibition in superficial laminae and excitation in deeper laminae. **Pain**, Amsterdam, v.9 , n.5 , p.293-306, Dec.,1980.
26. GOLDFARB, J., HU, J.W. Enhancement of reflexes by naloxone in spinal cat. **Neuropharmacology**, Gt. Britain, v.15, p.785-792, 1976.
27. GOLSTEIN, A. et al. Dynorphin (1-13), an extraordinarily potent opioid peptide. Proceedings of the National Academy of Sciences (USA), v.76, p.6666-6670, 1979.
28. GRUDT, T.J., WILLIAMS, J.T. μ opioid agonist inhibit spinal trigeminal substantia gelatinosa neurons in guinea pig and rat. **J. Neurosci.**, v.14, n.3 , p.1646-1654, Mar.,1994.
29. GUIRIMAND, F. et al. Effects of *mu*, *delta* and *kappa* opioid antagonists on the depression of a c-fiber reflex by intrathecal morphine and dago in the rat. **J. Pharmac. exp. Ther.**, Baltimore, v.269, n.3 , p.1007-1020, 1994.
30. HAAS, D.A. et al. Development of an orofacial model of acute inflammation in the rat. **Archs oral Biol.**, Oxford, v.37, n.5, p.417-422, 1992.

31. HANDWERKER, H.O., REEH, P.W. Pain and Inflammation. In: PROCEEDINGS OF THE 5th WORLD CONGRESS ON PAIN: PAIN RESEARCH AND CLINICAL MANAGEMENT, Amsterdam: Elsevier, 1988. v.3, p.59-70.
32. HANNAM, A.G., SESSLE, B.J. Temporomandibular neurosensory and neuromuscular physiologu. In: ZARB, G. et al., ed. **Temporomandibular joint and maticatory muscle disorders.** Copenhagen: Munksgaard, 1994. p.67-100.
33. HAWKINS, K. et al. (3H)-(H-D-Phe-Cys-Tyr,D-Trp-Orn-Thr-Pen-Thr-NH₂) (3H) CTOP, a potent and highly selective peptide for mu opioid receptors in rat brainl. **J. Pharmac. exp. Ther.**, Baltimore, v.248, p.73-80, 1989.
34. HENRY, J.L. Effects of substance P on nociceptive and non-nociceptive trigeminal brain stem neurons. **Pain**, Amsterdam, v.8, n.1, p.33-45, 1980.
35. HOHEISEL, U. et al. Appearance of new receptive fields in rat dorsal horn neurons following noxious stimulation of skeletal muscle: A model for referral os muscle pain? **Neurosci. Lett.**, v.153, p.9-12, 1993.

36. HOFMAN, D.S. et al. Neuronal activity in meddulary dorsal horn of awake monkeys trained in a thermal discrimination task. I Response to innocuous and noxious thermal stimuli. **J. Neurophysiol.**, Bethesda, v.46, n., p.409-427, mes, 1981.
37. HOPE, P.J., FLEETWOOD-WALKER, S.M., MITCHELL, R. Distinct antinociceptive action mediated by different opioid receptors in the region of lamina I and lamina III-V of the dorsal horn of the rat. **Br. J. Pharmac.**, London, v.101, p.407-483, 1990.
38. HU, J.W. Response properties of nociceptive and non-nociceptive neurons in the rat's trigeminal subnucleus caudalis (medullary dorsal horn) related to cutaneous and deep craniofacial afferent stimulation and modulation by diffuse noxious inhibitory controls. **Pain**, Amsterdam, v.41, p.331-345, 1990.
39. _____, DOSTROVSKY, J.O., SESSLE, B.J. Functional properties of neurons in cat trigeminal subnucleus caudalis (medullary dorsal horn). I -Response to orofacial noxious and non noxious stimuli and projections to thalamus and subnucleus oralis. **J. Neurophysiol.**, Bethesda, v.45, p.173-192, 1981.
40. HU et al. Deep craniofacial pain: involvement of trigeminal subnucleus caudalis and modulation. In: PROCEEDINGS OF THE 8th WORLD CONGRESS ON PAIN: PROGRESS IN PAIN RESEARCH AND MANAGEMENT, Seatle: IASP, 1997. v.8, p.1-11.

41. HU et al. Electromyographic and trigeminal brainstem neuronal changes associated with inflammatory irritation of superficial and deep craniofacial tissues in rats. In: PROCEEDINGS OF THE 7th WORLD CONGRESS ON PAIN, PROGRESS IN PAIN RESEARCH AND MANAGEMENT, Seattle: IASP, 1994. v.2, p.325-336.
42. _____. et al. Excitatory effects on neck and jaw muscle activity of inflammatory irritant applied to cervical paraspinal tissues. **Pain**, Amsterdam, v.55, p.243-250, 1993.
43. HU, J.W. et al. Stimulation of craniofacial muscle afferents induces prolonged facilitatory effects in trigeminal nociceptive brainstem neurones. **Pain**, Amsterdam, v.48, p.53-60, 1992.
44. HUGHES J. et al. Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. **Nature**, v.258, p.577-579, 1975.
45. JACQUIN, M.F. Intersubnuclear connections within the rat trigeminal brainstem complex. **Somatosensory Res.**, New York, V.7, p.399-420, 1990.
46. HYLDEN, J.K.L. et al. Expansion of receptive fields of spinal laminal projection neurons in rats with unilateral adjuvant induced inflammation: the contribution of dorsal horn mechanisms. **Pain**, v.37, p.229-243, 1989.

47. JESSEL, T.M., KELLY, D.D. Pain and Analgesia. *Apud*: KANDEL, E.R., SCHWARTZ, J.H, JESSEL, T.M., ed. **Principles of Neural Science**. 3.ed. USA, 1991, p385-399.
48. JIANG, Q.A.E. Differential antagonism of opioid delta antinociception by [D-Ala 2, Leu 5, Cys6] enkephalin and naltrindole 5-isothiocyanate: Evidence for delta receptor subtypes. **J. Pharmac. exp. Ther.**, Baltimore, v.257, p.1069-1077, 1991.
49. KIDO, M.A. Distribution of substance P and calcitonin gene-related peptide like immunoreactive nerve fibers in the rat temporomandibular joint. **J. dent. Res.**, Washington, v.72, p.592-598, 1993.
50. KOJIMA, Y. Convergence patterns of afferent information from the temporomandibular joint and masseter muscle in the trigeminal subnucleus caudalis. **Brain Res. Bull.**, Fayetteville, v.24, p.609-616, 1990.
51. KOOB, G.F. Drugs of abuse: anatomy, pharmacology and function of reward pathways. **Trends Pharmac. Sci.**, Amsterdam, v.13, p.177-184, 1992.
52. LAMOTTE, R.H. Neurophysiological mechanisms of cutaneous secondary hyperalgesia in the primate. In: WILLIS, W.D., ed. **Hyperalgesia and allodynia**. New York: Raven, 1992, p.175-185.

53. LEBARS, D., DICKENSON, A.H., BESSON, J.M. Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). I. Effects on dorsal horn convergent neurones in the rat. **Pain**, v.6, p.283-304, 1979.
54. LOE, H. The significance of research on orofacial pain. **J. orofac. Pain**, v.7, p.101, 1993.
55. LOMBARD, M.C., BESSON, J.M. Electrophysiological evidence for a tonic activity of the spinal cord intrinsic opioid systems in a chronic pain model. **Brain Res.**, Amsterdam, v.477, p.48-56, Jan., 1989.
56. LUCCARINI, P. et al. Antinociceptive effect of morphine microinjection into the spinal trigeminal subnucleus oralis. **Neurol. Rep.**, Guildford, v.6, n.2, p.365-368, Jan., 1995.
57. MACMAHON, S.B., ABEL, C. A model for the study of visceral pain states. **Pain**, Amsterdam, v.28, p.109-127, 1987.
58. MACQUAY, H.J. et al. Intrathecal opioids, potency and lipophilicity. **Pain**, Amsterdam, v.36, p.111-115, 1989.
59. MAGNUSON, D.S.K., DICKENSON, A.H. Lanina-specific effects of morphine and naloxone in dorsal horn of rat spinal cord in vitro. **J. Neurophysiol.**, Bethesda, v.66, p.1941-1950, 1991.

60. MATTHEWS, M.A., HERNANDEZ, T.V., LILES, S.L.
Immunocytochemistry of enkephalin and serotonin distribution in
restricted zones of the rostral trigeminal spinal subnucleus:
comparison with subnucleus caudalis. **Synapse**, v.1, p.512-529,
1987.
61. MENSE, S. Nociception from skeletal muscle in relation to clinical
muscle pain. **Pain**, Amsterdam, v.54, p. 241-289, 1993.
62. MILLAN, M.J. Kappa-opioid receptor-mediated nociception in the
rat. I- Comparative actions of mu and kappa opioids against noxious
thermal, pressure and electrical stimuli. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**,
v.251, n.1, p.334-341, Oct., 1989.
63. MILLAN, M.J. Multiple opioid system and pain. **Pain**, Amsterdam,
v.68, p.303-347, 1986.
64. MIZUNO, N. et al. A light and electron microscopic study of premotor
neurons for the trigeminal motor nucleus. **J. comp. Neurol.**, New
York, v.215, p.290-298, 1983.
65. MOKHA, S.S. Differential influence of naloxone on the response of
nociceptive neurons in the superficial versus the deeper dorsal horn
of the medulla in the rat. **Pain**, Amsterdam, v.49, n.3 , p.405-413,
Jun., 1992.

66. NAZRUDDIN, S.S. et al. The cells of origin of the hypoglossal afferent nerves and central projections in the cat. **Brain Res.**, Amsterdam, v.490, p.219-235, 1989.
67. NEGUS, S.S. et al. Effect of antagonists selective for mu, delta and kappa opioid receptors on the reinforcing effects of heroin in rats. **J. Pharmac. exp. Ther.**, Baltimore, v.265, p.1245-1252, 1993.
68. NISHIMORI, T. et al. Preproenkephalin upregulation in nucleus caudalis: high and low intensity afferent stimulation differentially modulate early and late responses. **J. comp. Neurol.**, New York, v.302, n.4, p.1002-1018, Dec.,1990.
69. NORTH, R.A. Drug receptors and the inhibition of nerve cells. **Br. J. Pharmac.**, London, v.98, p.13-28, 1989.
70. OLIVEIRAS, J.L et al. Dorsal horn opiate administration attenuates the perceived intensity of noxious heat stimulation in behaving monkey. **Brain Res.**, v.371, n.2, p.368-371, Apr., 1986.
71. OSSIPOV et al. Opioid antagonists and antisera to endogenous opioids increase the nociceptive response to formalin: Demonstration of an opioid kappa and delta inhibitory tone. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v.277, n.2, p.784-788, May, 1996.
72. PASTERNAK, G.W., WOOD, P.J. Multiple *mu* receptors. **Life Sci.**, Elmsford, v.38, p.1889, 1986.

73. PERT, C.B., SNYDER, S.H. Opiate receptor demonstration: demonstration in nervous tissue. **Science**, v.179, n.1, p. 1011-1014.
74. PLANAS, M.E et al. Pharmacological evidence for the involvement of the endogenous opioids system in the response to local inflammation in the rat paw. **Pain**, v.60, n.1, p.67-71, Jan., 1995.
75. PRICE, D.D., DUBNER, R., HU, J.W. Trigeminothalamic neurons in nucleus caudalis responsive to tactile, thermal and nociceptive stimulation of the monkey's face. **J. Neurophysiol.**, Bethesda, v.39, n.5, p.936-953, Sep., 1976.
76. RAMABADRAN, K., BANSINATH, M. The role of endogenous opioid peptides in the regulation of pain. **Neurobiology**, Fayetteville, v.6, p.13-32, 1990.
77. REN, K. et al. The effects of a non competitive NMDA receptor antagonist MK-801, on behavioral hyperalgesia and dorsal horn neuronal activity in rats with unilateral inflammation. **Pain**, v.50, p.331-344, 1992.
78. SCHROEDER, R.L. et al. Methylnaloxonium diffuses out of the rat brain more slowly than naloxone after direct intracerebral injection. **Neurosci. letter**, Limerick, v.121, p.173-177, 1991.

79. SEO, K. et al. Rekindling effect of intrathecal injection of naloxone on jaw muscle activity evoked by mustard oil application to temporomandibular joint in rat: possible involvement of trigeminal subnucleus caudalis (Vc). **Neurosci. Abstr.**, Bethesda, n.457.9, p.1168, 1995.
80. SESSLE, B.J.. Brainstem mechanisms underlying craniofacial pain and its modulation. **Adv. Pain Res. Ther.**, New York, v.22, p.413-421, 1995a.
81. _____. Masticatory muscles disorders: basic science perspectives. temporomandibular disorders and related pain conditions. **Prog. Pain Res. Mgmt**, v.4, p.47-61, 1995b.
82. _____. Mechanisms of trigeminal and occipital pain. **Pain Rev.**, v.3, p.91-116, 1996.
83. _____. The neurobiology of facial and dental pain: present knowledge, future directions. **J. dent. Res.**, Washington, v.66, n.5, p.962-981, May, 1987.
84. _____. Recent developments in pain research: central mechanisms of orofacial pain and its control. **J. Endod.**, Baltimore, v.12, n.10, p.435-444, Oct., 1986.
85. _____, HU, J.W. Mechanisms of pain arising from articular tissues. **Can. J. Physiol. Pharmac.**, Ottawa, v.69, p.617-626, 1991.

86. SESSLE, B.J., HU, J.W. Raphe-induced suppression of the jaw opening reflex and single neurons in trigeminal subnucleus oralis, and single neurons in trigeminal subnucleus oralis, and influence of naloxone and subnucleus caudalis. **Pain**, Amsterdam, v.10, p.19-36, 1981.
87. _____, _____, YU, X.M. Brainstem mechanisms of referred pain and hyperalgesia in the orofacial and temporomandibular region. In: **New Trends in Referred Pain and Hyperalgesia**, p. 59-71. 1993.
88. _____. et al. Convergence of cutaneous, tooth pulp, visceral, neck and muscle afferents onto nociceptive and non nociceptive neurones in trigeminal subnucleus caudalis (medullary dorsal horn) and its implications for referred pain. **Pain**, Amsterdam, v.27, p.219-235, 1986.
89. _____. et al. Functional properties of neurons in cat trigeminal subnucleus caudalis (medullary dorsal horn). II. modulation of responses to noxious and nonnoxious stimuli by periaqueductal gray, nucleus raphe magnus, cerebral cortex, and afferent influences, and effect of naloxone. **J. Neurophysiol.**, Bethesda, v.45, n.2 , p.193-207, Feb., 1981.
90. SHIGENAGA, Y. et al. The central projection of masticatory afferent fibers to the trigeminal sensory nuclear complex and upper cervical cord. **J. comp. Neurol.**, New York, v.268, p.489-493, 1988.

91. STANFA, L.C., DICKENSON, A.H. Electrophysiological studies on the spinal roles of endogenous opioids in carageenan inflammation. **Pain**, Amsterdam, v.56, n.2, p.185-191, Feb. 1994.
92. STEIN, C. et al. Peripheral opioid receptors mediating antinociception in inflammation. Evidence for involvement of mu, delta and kappa receptors. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v.248, p. 1269-1275.
93. STILLER, R.U., GRUBB, B.D., SCHAIBLE, H.G. Neurophysiological evidence for increased kappa opioidergic control of spinal cord neurons in rats with unilateral inflammation at the ankle. **Eur. J. Neurosci.**, v.5, p.1520-1527, 1993.
94. SUNAKAWA, M. Jaw electromyographic (EMG) activity induced by application of algescic chemicals to the rat tooth pulp. **Neurosci. Abstr.**, Bethesda, v.19, p.1571, 1993.
95. TRAYNOR, J. Subtypes of the k opioid receptor. Fact or fiction? **Trends Pharmac. Sci.**, Amsterdam, v.10, p.52-53, 1989.
96. TSAI, C.-M., SESSLE, B.J., HU, J.W. Involvement of trigeminal subnucleus caudalis (Vc) in orofacial nociceptive reflex. **Neurosci. Abstr.**, Bethesda, v.20, p.549, 1994.
97. _____, _____, _____. Microstimulation on trigeminal subnucleus caudalis (Vc) produces excitatory effects on rat jaw muscles. **Neurosci. Abstr.**, Bethesda, v.21, p.1164, 1995.

98. UHL, G.R., CHILDERS, S., PASTERNAK, G. An opiate receptor gene family reunion. **Trends Pharmac. Sci.**, Amsterdam, v.17, p.89-93, 1994.
99. WATKINS, L.R., WIETELAK, E.P., MAIER, S.F. Kappa opiate receptors mediate tail-shock induced antinociception at spinal levels. **Brain Res.**, Amsterdam, v.582, p.1-9, 1992.
100. WIDENFALK, B., WIBERG, M. Origin of sympathetic and sensory innervation of the temporo mandibular joint. A retrograde axonal tracing study in the rat. **Neurosci. letter**, Limerick, v.109, p.30-35, 1990.
101. WOOLF, C.J. Excitability changes in central neurons following peripheral damage. Role of central sensitization in the pathogenesis of pain. In: WILLIS, W.D., ed. **Hyperalgesia and allodynia**. New York: Raven, 1992. p.221- 243.
102. _____, WALL, P. Relative effectiveness of C primary afferent fibres of different origins in evoking a prolonged facilitation of the flexor reflex in the rat. **J. Neurosci.**, v.6, p.1433-1442, 1986.
103. XU, J.Y., FUJIMOTO, J.M., TSENG, L.F. Involvement of supraspinal epsilon and mu opioid receptors in inhibition of the tail-flick response induced by etorphine in the mouse. **J. Pharmac. exp. Ther.**, Baltimore, v.263, n.1 , p.246-252,1992.

104. YAKSH, T.L., MALMBERG, A.B. Central pharmacology of nociceptive transmission. In: WALL, P.D., MELZACK, R., ed. **Textbook of pain**. 3.ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1994, p.165-200.

105. _____, STEVENS, C.W. Properties of the modulation of spinal nociceptive transmission by receptor selective agents. In: **PROCEEDINGS OF THE 5TH WORLD CONGRESS ON PAIN: PROGRESS IN PAIN, PAIN RESEARCH AND CLINICAL MANAGEMENT**, 1988, Amsterdam: Elsevier, 1988. v.3, p.417-435.

106. YOKOTA, T. Neural mechanisms of trigeminal pain. **Adv. Pain Res. Ther.**, New York, v.9, p.221-232, 1985.

107. YU, X.M., HUA, M., MENSE, S. The effect of intracerebroventricular injection of naloxone, phentolamine and methysergide on the transmission of nociceptive signals in rat dorsal neurons with convergent cutaneous deep input. **Neuroscience**, Elmsford, v.39, p.823-831, 1990.

108. _____, SESSLE, B.J., HU, J.W. Differential effects of cutaneous and deep application of inflammatory irritant on mechanoreceptive field properties of trigeminal brain stem nociceptive neurons. **J. Neurophysiol.**, Bethesda, v.70, n.4, p.1704-1707, Oct.,1993.

109. YU, X.M. et al. Administration of opiate antagonist naloxone induces recurrence of increased jaw muscle activities related to inflammatory irritant application to rat temporomandibular joint region. **J. Neurophysiol.**, Bethesda, v.72, n. 3 , p.1-4, Sep., 1994.
110. _____. et al. Effects of inflammatory irritant application to the rat temporomandibular joint on jaw and neck muscle activity. **Pain**, Amsterdam, v.00, p.143-149, 1994a.
111. _____. et al. Involvement of NMDA receptor mechanisms in jaw electromyographic activity and plasma extravasation induced by inflammatory irritant application to temporomandibular joint region of rats. **Pain**, Amsterdam, v.00, p.1-10, 1996.

De acordo com a NBR - 6023 da Associação Brasileira de Normas e Técnicas (ABNT), de 1989.

Abreviatura dos periódicos conforme o "World List of Scientific Periodical