



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS UFSCar/UNESP**

Lígia Renata Rodrigues Tavares

**OS SISTEMAS SEROTONÉRGICO, GABAÉRGICO E
ENDOCANABINOIDE DA AMÍGDALA MEDEIAM A EMPATIA
RELACIONADA À NOCICEPÇÃO EM CAMUNDONGOS**

**SÃO CARLOS, SP
2020**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS UFSCar/UNESP**

Lígia Renata Rodrigues Tavares

**OS SISTEMAS SEROTONÉRGICO, GABAÉRGICO E
ENDOCANABINOIDE DA AMÍGDALA MEDEIAM A EMPATIA
RELACIONADA À NOCICEPÇÃO EM CAMUNDONGOS**

Tese apresentada ao Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciências Fisiológicas.

**Orientação: Profa. Dra. Azair Liane Matos do Canto de Souza
Coorientação: Dra. Daniela Baptista de Souza**

**SÃO CARLOS, SP
2020**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas

Folha de Aprovação

Defesa de Tese de Doutorado da candidata Ligia Renata Rodrigues Tavares, realizada em 28/08/2020.

Comissão Julgadora:

Profa. Dra. Azair Liane Matos do Canto de Souza (UFSCar)

Profa. Dra. Christie Ramos Andrade Leite Panissi (USP)

Prof. Dr. Tarciso Tadeu Miguel (UFU)

Profa. Dra. Cleopatra da Silva Planeta (UNESP)

Prof. Dr. Marcelo Tadeu Marin (UNESP)

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas.]

AGRADECIMENTOS

À Deus, ao nosso Senhor Jesus Cristo e a Santa Rita de Cássia, por me amparar nos momentos difíceis, me dar serenidade e mostrar o caminho para superar as dificuldades.

À minha orientadora professora Dra. Azair, por abrir as portas de seu laboratório e acreditar em mim, quando muitos descreditaram. Obrigada por sua orientação, amizade, atenção e paciência.

À Dra. Daniela (minha querida Dani), pela coorientação, por me mostrar e auxiliar a desvendar os mistérios da ciência. Por nossas conversas, por seu companheirismo e amizade. Sou imensamente grata por sua ajuda.

Ao professor Dr. Ricardo Nunes de Souza, docente do departamento de farmacologia da UNESP/Araraquara por disponibilizar o laboratório para as análises de imunoistoquímica realizadas neste trabalho, pelo incentivo e pelas orientações profissionais.

Ao professor Dr. Francisco Guimarães, docente do departamento de medicina da USP/Ribeirão Preto (FMRP/USP) por disponibilizar a droga canabidiol utilizada nos experimentos deste trabalho.

Aos meus amigos de laboratório, Lara, Giovana, Isabela, Anna Cecília, Luiz, Leonardo, Gustavo e Paulo por todos os auxílios, pelas conversas, por todas as gordices e por sempre estarem ao meu lado dando força e apoio. Sou eternamente grata por todos os ensinamentos.

As minhas amigas Caroline, Aura e Marília e meu amigo Rimenez, que mesmo não estando mais no meu convívio diário fizeram parte da elaboração deste trabalho *“saudade, mais do que ausência é a vontade da presença.”*

Aos meus queridos amigos da Farmacologia da UNESP/Araraquara Lucas Gomes e William, por todo o apoio emocional, nos estudos e também por inúmeras conversas sobre nosso futuro incerto. A Tatiani Sorregotti, por toda ajuda, amizade e ensinamentos. Ao Diego, Gessy, Nathália, Leandro, Lilian, Lucas Barreto, Lucas Canto e Ricardo, pelos momentos de convívio e distração.

Aos meus pais maravilhosos; em especial ao meu Pai Alfredo, que durante o terceiro ano do meu doutorado esteve com a saúde um pouco fragilizada *“cicatrices são marcas de superação que só um verdadeiro guerreiro possui”*; minha mãe Rosane e irmã Érica agradeço pelo apoio incondicional.

Ao meu marido e companheiro Fabio, principalmente pela paciência, incentivo, e por sempre acreditar mais em mim do que eu mesma. Obrigada por fazer parte da minha vida!

Aos membros da banca examinadora, pela disposição para a leitura desta tese. Vocês são exemplos a serem seguidos.

Ao Alexandre (UFSCar) pela competência profissional e assistência prestada na secretaria da PIPGCF.

À Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), pelo espaço físico e equipamentos oferecidos para a realização deste trabalho.

Ao Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas (PIP-GCF-UFSCar/UNESP), pela oportunidade.

Ao CNPq (Processo nº153163/2016-0), pelo apoio financeiro concedido para desenvolver este trabalho e divulgá-lo em congressos científicos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Aos “sujeitos” utilizados na minha pesquisa de doutorado; sem eles nada disso seria possível *“A grandeza de uma nação pode ser julgada pelo modo que seus animais são tratados”* - Mahatma Gandhi.

E por último, porém não menos importante quero agradecer a mim, por eu não ter desistido *“Resiliência: a capacidade de dar a volta por cima sempre, não importa a situação.”*

EPÍGRAFE

*“Errei mais de 9.000 cestas e perdi quase 300 jogos.
Em 26 diferentes finais de partidas fui encarregado de jogar a bola que venceria o jogo...e
falhei. Eu tenho uma história repleta de falhas e fracassos em minha vida.
E é exatamente por isso que sou um sucesso.”*

Michael Jordan

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	12
1.1.	Componentes da nocicepção.....	13
1.2.	Empatia.....	18
1.3.	Amígdala.....	22
1.4.	Neurotransmissão serotonérgica.....	26
1.5.	Neurotransmissão GABAérgica.....	31
1.6.	Neurotransmissão Endocanabinoide.....	35
1.7.	Interação dos receptores serotonérgicos 5-HT ₃ e GABAérgicos.....	40
1.8.	Interação dos receptores serotonérgicos 5-HT ₃ e canabidiol.....	41
2.	OBJETIVOS.....	45
2.1.	Objetivo Geral.....	46
2.2.	Objetivos Específicos.....	46
3.	MATERIAL E MÉTODOS.....	47
3.1.	Sujeitos.....	48
3.2.	Drogas.....	48
3.3.	Cirurgia e administração de drogas.....	48
3.4.	Constricção do nervo ciático.....	50
3.5.	Teste da placa quente.....	51
3.6.	Teste nociceptivo.....	51
3.7.	Histologia.....	51
3.8.	Imunoistoquímica.....	52
3.9.	Procedimentos	53
3.9.1.	Experimento 1A.....	53
3.9.2.	Experimento 1B.....	55
3.9.3.	Experimento 1C.....	56
3.9.4.	Experimento 2.....	57
3.9.5.	Experimento 3.....	57
3.9.6.	Experimento 4.....	58
3.9.7.	Experimento 5.....	59
3.10.	Análise estatística.....	60
4.	RESULTADOS.....	61

4.1.	Placa quente.....	62
4.2.	Experimento 1A.....	62
4.3.	Experimento 1A.....	64
4.4.	Experimento 1B.....	66
4.5.	Experimento 1C.....	67
4.6.	Experimento 2.....	68
4.7.	Experimento 3.....	69
4.8.	Experimento 4.....	70
4.9.	Experimento 5.....	71
5.	DISCUSSÃO.....	73
6.	CONCLUSÃO.....	95
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	97
	ANEXO 1.....	127
	ANEXO 2.....	128
	ANEXO 3.....	130

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1: Delineamento do experimento 1A.....	50
FIGURA 2: Delineamento do experimento 1B.....	51
FIGURA 3: Delineamento do experimento 3.....	54
FIGURA 4: Corte representativo encéfalo.....	59
FIGURA 5: Corte representativo do núcleo basolateral da amígdala (BLA) e núcleo central da amígdala (CeA).....	59
FIGURA 6: Células positivas para 5-HT ₃ no BLA.....	60
FIGURA 7: Células positivas para 5-HT ₃ no CeA.....	61
FIGURA 8: Cortes coronais da amígdala.....	62
FIGURA 9: Gráfico do experimento 1B.....	63
FIGURA 10: Gráfico do experimento 1C.....	64
FIGURA 11: Gráfico do experimento 2.....	65
FIGURA 12: Gráfico do experimento 3.....	66
FIGURA 13: Gráfico do experimento 4.....	67
FIGURA 14: Gráfico do experimento 5.....	68

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	50
TABELA 2	51
TABELA 3	52
TABELA 4	53
TABELA 5	54
TABELA 6	55
TABELA 7	55
TABELA 8	58

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA	Análise de variância
BLA	Núcleo basolateral da amígdala
Ca²⁺	Cálcio
CeA	Núcleo central da amígdala
Cl	Cloro
Cl⁻	Cloreto
CNC	Animal que conviveu com o coespecífico em dor cônica
CS	Animal que conviveu com o coespecífico sham
COX	Enzima ciclooxygenase
GABA	Ácido gama-aminobutírico
I.P.	Intraperitoneal
IASP	Associação internacional de estudos para dor
K⁺	Potássio
LCE	Labirinto em cruz elevado
mCPBG	1(m-clorofenil) -biguanida, [1- (3-clorofenil) biguanida hidrocloreídrica]
Na⁺	Sódio
NaCl	Cloreto de Sódio
PBS	Phosphate buffered saline (salina tamponada com fosfato)
RNAm	Ácido ribonucleico mensageiro
SCP	Substância cinzenta periaquedutal
SNC	Sistema nervoso central
THC	Tetra-hidrocanabinol
TNF- α	Fator de necrose tumoral
TRPV1	Transient receptor potential cation channel subfamily V member 1 (membro transitório 1 da subfamília V do canal de cátions em potencial do receptor transitório)

TAVARES, L.R.R. **OS SISTEMAS SEROTONÉRGICO, GABAÉRGICO E ENDOCANABINOIDE DA AMÍGDALA MEDEIAM A EMPATIA RELACIONADA À NOCICEPÇÃO EM CAMUNDONGOS.** 130 FOLHAS. TESE (DOUTORADO) –UFSCAR – UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS. 2020.

RESUMO

Evidências demonstram uma relação recíproca entre dor crônica e os distúrbios emocionais, sendo que um exacerba a experiência do outro. O componente afetivo-emocional da dor pode ser ativado não só em quem sente dor, mas também em quem observa situações dolorosas, caracterizadas como empatia. Em camundongos, o convívio com dor crônica induz hipernocicepção, e a amígdala é uma das estruturas encefálicas que desempenha um papel essencial no controle emocional e nociceptivo. No entanto, as neurotransmissões envolvidas neste processo são desconhecidas. Este estudo investigou os sistemas serotonérgico, GABAérgico e endocanabinoide da amígdala no modelo de empatia pela nocicepção. Camundongos machos Suíço-albinos foram alojados em pares e, após 14 dias de convívio, um animal do par foi submetido à cirurgia de constrição do nervo ciático (constrito), ou não (Sham), voltando ao convívio com os animais observadores dos coespecíficos constritos (CNC) ou Sham (CS), por mais 14 dias. No 24º dia os grupos CNC e CS foram submetidos a cirurgia estereotáxica para implantação de cânulas na amígdala. No 28º dia os animais CNC e CS, após receberem injeções intra-amígdala de ondansetron (antagonista 5-HT₃), mCPBG (agonista 5-HT₃), midazolam (agonista GABA_A-Benzodiazepínico), e canabidiol (fitocanabinóide), foram submetidos ao teste de contorções abdominais, estímulo nociceptivo induzido por ácido acético 0,6%, intraperitoneal (i.p.). Os resultados demonstraram que convívio com coespecífico em dor crônica aumentou a expressão dos receptores 5-HT₃, nos núcleos central e basolateral do complexo amigdalóide em ambos os hemisférios. A administração de ondansetron (1,0 e 3,0 nmol), midazolam (3,0 e 30 nmol) e canabidiol (30 nmol) reverteram a hipernocicepção induzida pelo convívio; e o mCPBG (20 nmol) acentuou a nocicepção no observador CNC. O ondansetron (0,3 nmol, dose desprovida de efeito nociceptivo), seguido de midazolam ou canabidiol reverteu a antinocicepção produzida pelo midazolam e canabidiol, respectivamente, nos camundongos após convívio com coespecífico constrito. Os resultados demonstram o envolvimento das neurotransmissões serotonérgica, GABAérgica e endocanabinoide da amígdala e a interação entre estas neurotransmissões na hipernocicepção induzida pelo modelo de empatia pela nocicepção.

Palavras-chaves: Empatia, Nocicepção, Amígdala, Serotonina, GABA, Canabidiol, Camundongos.

TAVARES, L.R.R. **THE SEROTONERGIC, GABAERGIC AND ENDOCANNABINOID SYSTEMS WITHIN AMYGDALA MEDIATES EMPATHY RELATED TO NOCICEPTION IN MICE.** 130 FOLHAS. TESE (DOUTORADO) – UFSCAR – UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS. 2020.

ABSTRACT

Evidence shows a reciprocal relationship between chronic pain and emotional disorders, exacerbating the other's experience. The affective-emotional component of pain can be activated not only in those who feel the pain but also in those who observe painful situations, characterized as empathy. In mice, living with chronic pain makes hypernociception, and the amygdala is one of the brain structures that play an essential role in emotional and nociceptive control. However, the neurotransmissions involved in this process are unknown. This study investigates the serotonergic, GABAergic, and endocannabinoid systems of the amygdala in mice's nociception empathy model. Male Swiss-albino mice were housed in pairs and, after 14 days of living together, one animal of the pair underwent sciatic nerve constriction surgery (constriction), or not (Sham) and returning to living with observers of the constriction [CNC (cagemate nerve constriction)] or Sham [CS (cagemate sham)], for another 14 days. On the 24th day, the CNC and CS groups underwent stereotactic surgery for bilateral cannula implantation in the amygdala. On the 28th day, the CNC and CS animals, after receiving ondansetron intra-amygdala injections (5-HT₃ antagonist), mCPBG (5-HT₃ agonist), (midazolam (GABA_A-benzodiazepine agonist,) and cannabidiol (phytocannabinoid), were submitted to a nociceptive stimulus with acetic acid-induced writhing test [0.6% intraperitoneal (i.p.)]. The results reveal that living with chronic pain increased the expression of 5-HT₃ receptors in the central and basolateral nuclei of the amygdaloid complex in both hemispheres. The administration of ondansetron (1.0 and 3.0 nmol), midazolam (3.0 and 30 nmol), and cannabidiol (30 nmol) reversed the hypernociception induced by cohabited together; and mCPBG (20 nmol) accentuated nociception in the CNC observer. Ondansetron (0.3 nmol, dose devoid of nociceptive effect), followed by midazolam or cannabidiol, reversed the antinociception produced by midazolam and cannabidiol, respectively, in mice after lived with a conspecific constrict. The results exhibit the involvement of the serotonergic, GABAergic, and endocannabinoid neurotransmissions of the amygdala and the interplay between these neurotransmissions in the hypernociception induced by the nociception empathy model.

Keywords: Empathy. Nociception. Amygdala. Serotonin. GABA. Cannabidiol. Mice.

1. INTRODUÇÃO

1.1. COMPONENTES DA NOCICEPÇÃO

A detectar detecção de estímulos nocivos é essencial para a sobrevivência e o bem-estar de um organismo (BASBAUM et al., 2009). Em processos relacionados à sobrevivência, a dor apresenta valor adaptativo, sofrendo várias interferências de eventos que não envolvem somente a transmissão dos estímulos nociceptivos, mas também do seu processamento sensorial e emocional (HUYSER; PARKER, 1999; MILLAN, 1999). Desta maneira, devido a sua natureza essencialmente desagradável, a dor tem a função adaptativa de alarme, que estimula o indivíduo a evitar e a reconhecer objetos e situações que possam causá-la, prevenindo o agravamento ou o surgimento de novas lesões (WALL et al., 1991), alertando sobre estímulos que podem provocar lesão tecidual (estímulos nocivos), permitindo assim que sejam adotados mecanismos de defesa ou fuga (MILLAN, 1999).

Segundo a Associação Internacional de Estudos para a Dor (IASP, 1978) a dor é descrita como uma "experiência sensorial e emocional desagradável, associada a dano presente ou potencial, ou descrita em termos de tal dano"; entretanto recentemente em 2020 foi atualizada pela IASP para "uma experiência sensitiva e emocional desagradável associada a uma lesão tecidual real ou potencial, ou descrita nos termos de tal lesão" (IASP, 2020). Sendo assim, o fenômeno doloroso pode ser caracterizado como uma experiência subjetiva e multidimensional (NEUGEBAUER et al., 2009), sendo que a percepção e o processamento de um estímulo doloroso são produtos de uma combinação de componentes perceptivos, sensoriais e afetivo-emocionais (PLOGHAUS et al., 2003). Sugere-se que a dor possui componentes e aspectos ligados à experiência da dor, entre eles, destacam-se os componentes sensorial-discriminativo e afetivo-motivacional. O componente sensorial-discriminativo remete-se à capacidade de localizar a origem, a escala temporal e a intensidade dos danos efetivos ou potenciais ao tecido. O componente afetivo-motivacional remete-se a vivência da dor em emoções e comportamentos, incluindo a hipervigilância e luta ou fuga, aumentando a probabilidade da autopreservação (BASBAUM et al., 2009).

Esses componentes são ativados por terminações nervosas livres de fibras de neurônios ganglionares espinais denominadas nociceptores. Os nociceptores podem ser definidos como receptores sensoriais que são ativados por estímulos nocivos e, correspondem a parte mais distal de um neurônio aferente de primeira ordem (MESSLINGER, 1997). Os corpos celulares dos nociceptores estão localizados nos gânglios da raiz dorsal e no gânglio trigêmeo da face e possuem um ramo axonal periférico e central que inervam o órgão-alvo e a medula espinal, respectivamente. Os nociceptores são excitados apenas quando as intensidades do estímulo

atingem a faixa nociva, sugerindo que possuem propriedades biofísicas e moleculares que lhes permitem detectar seletivamente e responder a estímulos potencialmente prejudiciais (BASBAUM et al., 2009).

Existem duas classes principais de nociceptores (MEYER et al., 2008). A primeira inclui aferentes mielinizados de diâmetro médio, fibras A δ (delta), consideradas de maior calibre (2-6 μ m de diâmetro) que conduzem estímulos nocivos térmicos e mecânicos com uma velocidade em torno de 5 a 30 m/s, promovendo sensação de dor cortante e bem localizada que mediam a dor aguda, a chamada primeira dor caracterizada pela condução rápida do estímulo nociceptivo. Essas aferências mielinizadas diferem consideravelmente do diâmetro maior e das fibras A β de condução rápida que respondem à estimulação mecânica inócua (toque leve). A segunda classe de nociceptores inclui fibras C amielinizadas, de menor calibre (0,4-1,2 μ m de diâmetro), de baixa velocidade de condução (menor que 2 m/s), conhecidas como nociceptores polimodais porque respondem tanto a estímulos nocivos mecânicos (pressão intensa), térmicos (acima de 45°C) e químicos de alta intensidade (formalina, ácido acético), e a estímulos não nocivos, como o toque, estímulo mecânico leve ou até mesmo alodínia, causada por um estímulo que normalmente não produziria dor, a chamada segunda dor que apresenta condução lenta da informação dolorosa (WILLIS, 1985, WILLIS; WESTLUND, 2001; MILLAN, 1999; JULIUS; BASBAUM, 2001, BASBAUM et al., 2009).

A caracterização neuroanatômica e molecular dos nociceptores apresenta uma subdivisão para as fibras C: população "peptidérgica" de nociceptores C libera os neuropeptídeos, substância P e peptídeo relacionado ao gene da calcitonina, eles também expressam o receptor de neurotrofina TrkA, que responde ao fator de crescimento nervoso. A população não peptidérgica de nociceptores C expressam o receptor de neurotrofina, que é direcionado pelo fator neurotrófico derivado da glia (BASBAUM et al., 2009).

As fibras A δ e C chegam de uma maneira altamente organizadas no corno dorsal da medula espinal, através da divisão lateral da raiz posterior dos nervos espinais. As fibras A δ e C dividem-se e avançam, ascendente, de um a três segmentos espinais. Os corpos celulares dos neurônios que recebem as primeiras aferências nociceptivas situam-se no corno dorsal da medula nas zonas mais superficiais. As lâminas I e II recebem fibras C e algumas fibras A δ . Outras fibras A δ penetram mais profundamente no corno dorsal (lâmina V). As células presentes nas lâminas I e V dão origem as principais vias de projeção do corno dorsal para o tálamo (KANDEL et al., 2000; BASBAUM et al., 2009).

De modo geral, a informação é transmitida através das fibras aferentes primárias para o corno dorsal da medula espinal e, em seguida, para regiões encefálicas através de vias principais de comunicação, como por exemplo, o trato espinotalâmico, trato espinomesencefálico, espinoparabraquial, espinohipotálamico e trato espinoreticular, todas denominadas vias ascendentes da dor (MILLAN, 1999). Dentre estas vias, os tratos espinotalâmico, espinoreticular e espinomesencefálico são considerados as vias mais relevantes na transmissão aferente da informação nociceptiva (D'MELLO; DICKENSON, 2008).

O trato espinotalâmico envolve o feixe neoespinotalâmico, mais recente evolutivamente e o trato espinoreticular envolve o feixe paleoespinotalâmico, mais antigo evolutivamente. Há evidências de que as projeções do trato paleoespinotalâmico e do feixe espinoreticular com conexões com a substância cinzenta periaquedutal (SCP), tálamo, córtex e outras estruturas límbicas estão mais envolvidas nos aspectos afetivo-emocionais da dor do que em seu caráter sensorio-discriminativo (PRICE; DUBNER, 1977). Já a via neoespinotalâmica envia projeções diretamente para o tálamo e córtex sensorial, onde ocorre a percepção e o processamento da dor, contribuindo para o componente sensorial da dor (BASBAUM et al., 2009). Posteriormente, a atenção concentrou-se nas projeções da medula espinal na região parabraquial da ponte, pois o resultado dessa região fornece uma conexão muito rápida com a amígdala, uma região importante no processamento de informações relevantes às propriedades aversivas da experiência da dor (BASBAUM et al., 2009).

Algumas das estruturas corticais que fazem parte dessas vias são o córtex somatossensorial, córtex cingulado anterior, insula, córtex pré-frontal e tálamo. Além dessas, estruturas subcorticais também compõem as vias nociceptivas, como SCP, bulbo rostral ventromedial e amígdala, constituindo, assim, a matriz da dor (NEUGEBAUER et al., 2009; BUSHNELL et al., 2013).

Assim, enquanto projeções ascendentes processam a transmissão da dor para estruturas superiores do sistema nervoso central (SNC), vias descendentes modulatórias da dor fazem o caminho inverso das projeções ascendentes e podem levar à inibição ou facilitação da dor (BOLLES; FANSELOW, 1980; VANDERAH, 2007). As vias descendentes são constituídas por projeções que originam-se de todo o encéfalo, e posteriormente para regiões do tronco encefálico, como o bulbo rostral ventromedial e em seguida, enviam projeções para a medula espinal. Uma vez que a SCP também integra impulsos originados em regiões límbicas, fatores como alerta, expectativa e atenção podem regular o processamento da dor, demonstrando o aspecto emocional da dor (D'MELLO; DICKENSON, 2008).

Entre os tipos de dor, a dor aguda caracteriza-se por uma resposta protetora ao organismo, pois alerta o indivíduo para uma lesão iminente ou real dos tecidos, induzindo ao surgimento de respostas reflexas e comportamentais conduzidas, com o propósito de manter a injúria tecidual contida (WOOLF; MANNION, 1999). No entanto, quando a dor passa a se repetir ou manter-se por período prolongado, deixa de apresentar vantagens biológicas e passa a causar sofrimento, sendo classificada como dor crônica a qual é gerada por impulsos de pequena magnitude produzidos por atividade neuronal anormal (MELZACK, 1999; VANDERAH, 2007).

A dor crônica pode estar associada com a continuação da patologia ou persistir após a recuperação da doença ou lesão. Se a dor crônica for devido à doença orgânica, ela é efetivamente curada ao se tratar a desordem de base (MILLAN, 1999). Geralmente não é bem localizada e tende a ser dolorosa, contínua ou recorrente, e é dividida em nociceptiva e neuropática (MERSKEY; BOGDUK, 1994). A dor nociceptiva baseia-se na estimulação contínua de nociceptores, seja térmico, químico ou mecânico, decorrendo ativação constante das vias centrais da dor e pode ser identificada em pessoas com câncer, herpes zoster, entre outras (MILLAN, 1999). Já a dor neuropática, segundo a Associação Internacional de Estudos para Dor (IASP), é definida como uma dor causada ou iniciada por uma lesão primária ou por disfunção do SNC e/ou sistema nervoso periférico. Esta desordem pode ser provocada por compressão, transecção, infiltração, isquemia, injúria metabólica de corpos celulares de neurônios ou uma combinação desses fatores (GALLUZZI, 2007).

Pacientes com dor neuropática descrevem disestesias que são caracterizadas por sensação desagradável em resposta a um estímulo normal, incluindo alodinia (resposta de dor frente a um estímulo normalmente não doloroso), hiperalgesia (dor exacerbada frente a um estímulo normalmente doloroso), dor espontânea (dor sem estímulo conhecido) e dor fantasma (dor em um membro ausente), sendo que respostas emocionais à dor podem influenciar ainda mais a percepção da dor (WIECH; TRACEY, 2009).

Os estudos atuais tentam elucidar a complexa relação entre os mecanismos fisiológicos e emocionais presentes nos vários tipos de dor, através do uso de roedores como modelos para a compreensão dos aspectos multidimensionais da dor, uma vez que os distúrbios crônicos da dor parecem não ter causa óbvia nociva e são altamente influenciados por fatores sociais e ambientais (SMITH et al., 2016).

Assim, na busca pela compreensão dos aspectos emocionais e comportamentais do controle da dor, neurocientistas têm mostrado em seus estudos que, a dor não depende

exclusivamente do grau de lesão (LOVALLO, 2015). Em vez disso, a intensidade e o caráter da dor que se sente são também influenciados pelas experiências anteriores, pelas recordações que delas se tem e a capacidade de compreender as suas causas e consequências (BLUCK et al., 2013). Sendo assim, o grau de atenção e a ansiedade influenciam o sistema da dor promovendo um aumento na percepção dolorosa para um determinado estímulo de mesmo grau de intensidade (MELZACK; CASEY, 2013), indicando que o componente afetivo da dor sensibiliza e fornece caráter emocional e afetivo a estímulos dolorosos (ROME et al., 2000; VOGT, 2005).

Deste modo, o modelo biopsicossocial de dor sugere uma relação entre os fatores biológicos, psicológicos e sociais, demonstrando que o processamento da dor e os distúrbios de caráter afetivo coexistem e que uma condição agrava a outra (LUMLEY et al., 2011). Assim, embora os mecanismos biológicos possam iniciar, manter e modular a dor, fatores psicológicos atuam na percepção da dor e no comportamento em resposta à dor (WIDERSTRÖM-NOGA et al., 2013).

1.2. EMPATIA

O componente afetivo-emocional da dor pode ser ativado não apenas em quem sente a dor, mas também naquele que está observando situações dolorosas ou potencialmente dolorosas, sendo que a habilidade de perceber a dor também possui valor claramente adaptativo e evolutivo (WILLIAMS, 2002; GOUBERT et al., 2005; CRAIG, 2009). Quando a situação potencialmente dolorosa é identificada, o observador pode tentar escapar da situação (fuga, comportamento defensivo) ou então auxiliar (luta, comportamento pró-social) aquele que está com dor (SHAMAY-TSOORY, 2011). Com isso, a propriedade de percepção, consciência e compreensão dos estados sensoriais e emocionais de outras pessoas, incluindo os processos dolorosos é denominada empatia (GU et al., 2012, 2015), processo afetivo e cognitivo de modulação social das respostas emocionais (LAMM et al., 2004).

Apesar do termo empatia ser amplamente usado, ele costuma ser erroneamente empregado pois é muitas vezes confundido com conceitos como compaixão, simpatia, teoria da mente, entre outros (SINGER; DECETY, 2009). De fato, é considerado um tema chave que desperta grande interesse de pesquisadores da área da neurociência, sendo que mesmo sem uma definição única, resume-se a capacidade de um indivíduo entender o estado mental do outro. Na década de 80, a habilidade empática era compreendida como uma experiência de se colocar no lugar do outro e um construto multidimensional que combina componentes cognitivos e

afetivos (DAVIS, 1983), e pesquisas sobre as bases neurais da empatia têm contribuído consideravelmente para sua definição (KENNEDY; ADOLPHS, 2012).

Estudos anteriores envolvendo os mecanismos encefálicos da empatia apresentam algumas hipóteses interessantes sobre a percepção de si mesmo e dos outros estarem relacionadas (GALLESE et al., 2004). O modelo desenvolvido por Preston e De Waal (2002), para compreensão da empatia foi apoiado no modelo de percepção-ação, no qual quando imaginamos ou quando observamos o estado mental de outra pessoa, nosso sistema nervoso automaticamente reage promovendo ativação de redes neurais semelhantes à circuitaria ativa no observador. Isso foi constatado em estudos posteriores com ressonância magnética funcional, em que se observou uma ativação compartilhada de redes neuronais específicas durante experiências sofridas em si e no outro. Keysers et al. (2004) observaram uma ativação do córtex somatossensorial quando os colaboradores eram tocados e quando observavam o toque feito no outro. Isso sugere que a observação de um estado motor, perceptivo ou emocional desenvolvido por um indivíduo, ativa as mesmas estruturas e processos neurais no observador, como quando este desenvolve esta mesma ação ou experimenta esta mesma emoção (MOYA-ALBIOL et al., 2010).

Após o modelo proposto por Preston e de Waal em 2002, outros autores propuseram outro modelo que divide a empatia entre duas dimensões, emocional e cognitiva (SHAMAY-TSOORY et al., 2009). A primeira dimensão envolve o compartilhamento de emoções entre as pessoas (experiência do contágio emocional) e a outra dimensão permite o entendimento dos pensamentos e intenções dos outros a partir do movimento de acolher o ponto de vista do outro, que possibilita conclusões precisas sobre o que se passa com o outro (DECETY; JACKSON, 2004; SHAMAY-TSOORY et al., 2009). Essa habilidade tem um papel crucial no processo de interação social, permitindo a conexão entre os indivíduos, uma vez que favorece a compreensão da intenção da ação do outro, suas emoções, sentimentos e de pensamentos (SINGER; DECETY, 2009; DECETY; SVETLOVA, 2012).

Posteriormente, Zaki e Ochsner (2012) propuseram a divisão da empatia em três grandes faces: o mentalizar, caracterizado pela capacidade de perceber e entender o estado emocional do outro; o compartilhamento de experiências, como a habilidade de sentir o que o outro está sentindo e, o comportamento pró-social, que é a capacidade e propensão para pensar e agir frente ao estado do outro (ZAKI; OCHSNER, 2012).

Evidências demonstram que estruturas como córtex pré-motor e parietal são ativadas durante a execução de uma determinada ação e durante a observação da mesma ação realizada

pelo outro (CATTANEO; RIZZOLATTI, 2009). Isto sugere que o sistema nervoso é capaz de representar ações observadas nos outros, porém em seu próprio sistema motor. Esse reflexo perante a ação do outro evidencia o papel de um grupo específico de neurônios conhecidos como neurônios espelho, que atuam não só na codificação dos atos motores observados, mas também permite ao observador entender as intenções do outro, por meio de mecanismos de aprendizagem observacional (MOYA-ALBIOL et al., 2010).

Trabalhos envolvendo neuroimagem demonstram a existência de dois principais sítios cerebrais com propriedades espelho: o primeiro formado pelo lobo parietal, o córtex pré-motor e o giro frontal inferior (sistema espelho parietofrontal), envolvido no reconhecimento de comportamentos voluntários (movimento e percepção); e, o segundo formado pela insula e o córtex frontal medial anterior (sistema espelho límbico), relacionado ao reconhecimento de comportamentos afetivos e ao uso da linguagem (CATTANEO. RIZZOLATTI, 2009). Além das clássicas regiões espelho, foi demonstrado que, estruturas subcorticais também possuem propriedades espelho, como é o caso do complexo amigdalóide (MOLENBERGHS et al., 2012). Dessa forma, por meio dos sistemas espelho, a reação emocional do indivíduo pode levar a ativação do circuito de representatividade neuronal compartilhada no observador, gerando nesse uma representação emocional semelhante, convergente e apropriada à do observado, ou seja, é um sistema pré-requisito que possibilita a capacidade de empatia (GALLESE et al., 2004; SHAMAY-TSOORY, 2011).

Hein et al. (2010) em pesquisa realizada com humanos mostrou o favoritismo do comportamento pró-social para pessoas que estavam designadas no mesmo grupo, quando comparado com o comportamento para pessoas de grupos diferentes. Neste sentido, Loggia et al. (2008) sugerem que quem altera a percepção do estímulo doloroso é a própria empatia e não necessariamente a observação dos comportamentos de dor. Eles indicam ainda que a empatia para a dor ativa áreas corticais e subcorticais relativas ao sentimento de compaixão frente ao indivíduo em situação de angústia.

Além das relações de convívio entre os seres vivos, a modulação da dor também recebe interferência do perfil de cada indivíduo. Por exemplo, foi demonstrado a ligação entre a dor e o comportamento agressivo de atletas. Os resultados sugerem que os jogadores que tinham ações agressivas possuíam como característica a insensibilidade a estímulos nocivos, ou seja, naquelas pessoas o limiar para dor se revelou mais elevado que em outras com atributos diferentes. Além disso, o processamento cortical dos contextos aversivos também se apresentou reduzido nos indivíduos com comportamento antissocial (RING et al, 2016).

Alguns autores apontam que essa habilidade empática está presente não só em humanos como também em animais. Assim, experimentos realizados com roedores revelaram a capacidade de reconhecimento de respostas emocionais em sujeitos da mesma espécie, e também alteração da sua sensibilidade à dor por motivos de familiaridade com o coespecífico (LANGFORD et al., 2006, 2010; SOTOCINAL et al., 2011; BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2015) evidenciando que animais da mesma espécie conseguem diferenciar expressões de dor das expressões neutras (NAKASHIMA et al., 2015).

Assim, as evidências mencionadas sugerem que apesar dos animais não poderem descrever sua dor, são capazes de manifestá-la por sinais fisiológicos e respostas comportamentais (TEIXEIRA et al., 2010), reconhecendo a dor em indivíduos da mesma espécie (NAKASHIMA et al., 2015) e exibindo um comportamento pró-social (DECETY; SVETLOVA, 2012). Bartal et al. (2011) demonstraram que ratos apresentam comportamento de empatia quando percebem que animais da mesma espécie estão em condições de aprisionamento e estresse não doloroso e agem de uma maneira determinada para acabar com esse sofrimento.

Em estudo do nosso grupo de pesquisa, Baptista-de-Souza et al. (2015) através de uma bateria de testes comportamentais e avaliação da nocicepção demonstraram que camundongos submetidos a um modelo de dor crônica, induzida pela constrição do nervo ciático, apresentaram comportamentos do tipo ansiogênico e hipernociceptivo em camundongos coespecíficos. Outros estudos evidenciaram que a interação social, ou empatia, induz alterações nas respostas nociceptivas, bem como afetivas, incluindo ansiedade em animais coespecíficos na condição de observadores (BARTAL et al., 2014; HADJISTAVROPOULOS et al., 2011; LANGFORD et al., 2006). O convívio com um coespecífico submetido ao estresse crônico por contenção também induz comportamento do tipo ansiogênico, hipernocicepção e alterações no comportamento defensivo (CARNEIRO-DE-OLIVEIRA et al., 2017).

Portanto, ainda que já tenha sido descrita a modulação social sobre a nocicepção em roedores (SINGER et al., 2004; LANGFORD et al., 2011), são poucas as evidências de quais estruturas encefálicas estão envolvidas nessa modulação e quais mecanismos são ativados quando o observador observa o coespecífico exibindo respostas relacionadas à nocicepção no período de teste (LANGFORD et al., 2006), e/ou quando é submetido ao convívio para o estabelecimento da familiaridade (LANGFORD et al., 2006; PHAM et al., 2010), promovendo respostas comportamentais para reduzir o estímulo aversivo do coespecífico (PRICE, 2000).

Sob o aspecto clínico, foi descrito que em humanos a observação de outros indivíduos com dor pode motivar o comportamento de ajuda (HEIN et al., 2010). A empatia pela dor em humanos também foi demonstrada no trabalho que avaliou a atividade de áreas como amígdala, córtex cingulado anterior, ínsula e tronco encefálico de mulheres que observavam seus parceiros amorosos levando um choque doloroso na mão. Essa pesquisa sugere que a empatia pela dor não necessita da participação de todos os locais envolvidos com o processo doloroso, porém ocorre através de áreas relativas ao componente afetivo-motivacional da dor (SINGER et al, 2004). Uma meta-análise realizada com estudos de ressonância magnética funcional para a empatia pela dor confirmou a ativação de regiões como a amígdala, ínsula anterior e giro frontal inferior quando um observador visualiza outros com dor (LAMM et al. 2011).

Alguns estudos demonstraram que áreas cerebrais da matriz da dor, como a amígdala e ínsula, são igualmente ativadas naqueles que estão apenas observando situações potencialmente dolorosas, sugerindo que a experiência de empatia frente à dor seria semelhante a uma primeira experiência de dor (SINGER et al., 2004; SINGER; LAMM, 2009; BUSHNELL et al., 2013). Estudos com imagem funcional em humanos têm associado estruturas do componente afetivo-emocional às experiências de empatia frente à dor, em que neurônios que respondem tanto ao estímulo doloroso quanto à observação de estímulos dolorosos aplicados em outros indivíduos estariam localizados nessas estruturas (HUTCHISON et al., 1999; SINGER et al., 2004), sugerindo, dessa forma, que apenas os componentes afetivo e cognitivo da dor estariam mediando essa resposta, com exceção de seu componente sensorial (SINGER et al., 2004). Ou seja, nenhuma injúria tecidual ou estímulo nocivo seria, de fato, necessário para a experiência de dor ou para a ativação das vias da dor nessa situação (BORSOOK; BECERRA, 2009; VACHON-PRESSEAU et al., 2011; BUSHNELL et al., 2013).

Evidentemente, identificar quais áreas encefálicas estão envolvidas no comportamento empático é uma peça chave na psicopatologia de transtornos emocionais, além de uma avaliação mais distinta das estruturas que modulam os diferentes componentes da dor, visto que poucos estudos têm demonstrado quais os mecanismos envolvidos nesta modulação, faz-se necessário investigar quais áreas corticais e subcorticais estão relacionadas com o processamento da empatia pela dor.

1.3. AMÍGDALA

Dentre as áreas límbicas responsáveis pela modulação da nociceção, o complexo amigdalóide destaca-se por receber aferências nociceptivas diretas vindas da medula espinal e do tronco encefálico (NEUGEBAUER et al, 2004, NEUGEBAUER, 2007), estando envolvida no processamento central da dor, participando da via ascendente e descendente da nociceção (NEUGEBAUER et al., 2004), sendo considerada como um substrato neural de interações entre dor e emoção (HEINRICHER et al., 1999; FIELDS, 1999; RHUDY; MEAGHER, 2000).

Evidências eletrofisiológicas, comportamentais e bioquímicas apontam a amígdala como uma importante área de modulação da nociceção (LARIVIERE; MELZACK, 2000; ULRICH-LAI et al., 2006; JI et al., 2007) e uma das principais regiões encefálicas envolvidas no processamento de estímulos aversivos e nas respostas emocionais relacionadas ao medo, como a antinociceção, congelamento e luta ou fuga com o predador (LEDOUX, 2000; LEITE-PANISSI et al., 2004; TAVARES et al., 2018).

A amígdala é composta de grupos heterogêneos e complexos de núcleos e está localizada bilateralmente ao lobo temporal anterior do encéfalo, próximo à formação hipocampal (AMARAL; BASSETT, 1989; AMARAL; INSAUSTI, 1992). De acordo com a classificação de Price et al. (1987) os núcleos da amígdala são divididos em três grupos; 1) o grupo profundo ou basolateral, que inclui o núcleo lateral, o núcleo basal e o núcleo basal acessório; 2) o grupo superficial ou tipo cortical, que inclui os núcleos corticais e o núcleo do trato olfatório lateral; e 3) o grupo centromedial composto pelos núcleos medial e central. A amígdala recebe informações de todas as modalidades: olfativa, somatossensorial, gustativa, visceral, auditiva e visual (SAH et al., 2003). As informações sensoriais chegam na amígdala principalmente através do núcleo lateral, e as vias de saída principalmente pelo núcleo central através de informações já processadas pelos outros núcleos amigdalóides, tais como o núcleo basolateral (NEUGEBAUER, 2004).

Estudos em modelos animais de dor neuropática relataram a presença de lateralização do hemisfério direito sobre o hemisfério esquerdo do complexo amigdalóide, dependente de entradas mediadas por fibras C. Alterações bioquímicas e eletrofisiológicas foram observadas apenas no hemisfério direito da amígdala em modelos de dor inflamatória (JI; NEUGEBAUER 2009). Já na dor neuropática, foi observado um aumento transitório da atividade do hemisfério esquerdo, entretanto uma alteração persistente no hemisfério direito da amígdala. No entanto,

os mecanismos de lateralização relacionada à nocicepção na amígdala ainda são conflitantes (GONCALVES; DICKENSON, 2012; NEUGEBAUER, 2015).

Fibras polimodais, altamente responsivas, de relevância afetiva e cognitiva alcançam a amígdala via tálamo e áreas corticais superiores (SHI; DAVIS, 1999; LEDOUX, 2000). Através de prolongamentos das vias do sistema espinohipotalâmico e espinotalâmico, o circuito correspondente ao núcleo lateral, basolateral e central recebe informações referentes à dor provenientes do tálamo e córtex insular (MILLAN, 1999; LEDOUX, 2000). Além das entradas indiretas via tálamo, que chegam ao núcleo lateral e basolateral, existem entradas nociceptivas diretas vindas da medula espinal e do tronco encefálico para a parte latero-capsular do núcleo central (NEUGEBAUER et al, 2004). O complexo amigdalóide também recebe informações nociceptivas específicas da medula espinal e do tronco cerebral através da via da dor espinoparabraquioamigdalóide (GAURIAU; BERNARD 2002), bem como através de projeções diretas da medula espinal (NEUGEBAUER et al, 2004).

A amígdala é uma das estruturas que faz parte do sistema límbico em conjunto com outras do SNC que participa da modulação do comportamento emocional (FIELDS, 1999). Denominada amígdala nociceptiva, por apresentar grande quantidade de neurônios nociceptivos, além de estar implicada na modulação da nocicepção, aumentando (hiperalgesia) ou diminuindo (hipoalgesia) a percepção nociceptiva, também modula a analgesia quando a sensibilidade é suprimida, executando um papel crucial no controle inibitório descendente da nocicepção (NEUGEBAUER et al., 2004).

Em relação à empatia, um trabalho realizado com camundongos, em que um animal tem a possibilidade de ver o coespecífico receber choque nas patas, demonstrou a ativação de estruturas do sistema límbico, como a amígdala, modulando comportamentos relacionados à empatia, ou seja, os camundongos (observadores) apresentaram comportamento de congelamento (freezing) quando observaram outros camundongos (demonstradores) recebendo choque nas patas. Os observadores apresentaram aumento das respostas ao medo quando os demonstradores eram considerados coespecíficos sociais, como irmãos ou parceiros de acasalamento (JEON et al., 2010). Nesse sentido, esses autores propõem que a aprendizagem observacional da natureza aversiva da situação, bem como as alterações comportamentais adaptativas frente a uma situação dolorosa (NEUGEBAUER et al., 2009; JEON et al., 2010), são transmitidas ao núcleo lateral da amígdala por meio do sistema medial da nocicepção. O sistema medial da dor representa a dimensão afetiva ou emocional da dor e envolve a percepção desagradável da dor. Nesse sistema, as entradas nociceptivas projetam-se para os núcleos

talâmicos da linha média e intralaminar, incluindo núcleos talâmicos parafasciculares e mediodorsais, prosseguindo para as áreas límbicas (JEON et al., 2010).

Estudos demonstram ainda, que a ativação do núcleo central da amígdala aumenta a resposta visceromotora à distensão colorretal (MYERS; GREENWOOD-VANMEERVELD, 2009), enquanto que a desativação desse mesmo núcleo diminui comportamentos nociceptivos, defensivos e afetivos relacionados à dor (NEUGEBAUER et al., 2009).

Esse conjunto de resultados demonstra o complexo papel da amígdala na relação entre dor e emoções (SAH et al., 2003; HEINRICHER et al., 2009). Além disso, estímulos nociceptivos, por meio da amígdala e da SCP, induzem um conjunto de alterações hormonais, comportamentais e autonômicas, entre elas a analgesia (NUNES-DE-SOUZA et al., 2000; BAPTISTA et al., 2009; HEINRICHER et al., 2009), demonstrando a importância dessa estrutura no controle descendente inibitório da dor (SAH et al., 2003; MCGARAUGHTY et al., 2004) e seu envolvimento em diferentes componentes da dor (VILLANUEVA; FIELDS, 2004; NEUGEBAUER et al., 2009).

Comportamentos relacionados à empatia sobre percepção dolorosa foram investigados por nosso grupo de pesquisa. Os estudos utilizaram um protocolo de convivência de 14 dias com um coespecífico submetido a dor crônica, induzida pela constrição do nervo ciático. Os resultados obtidos por Pelarin e Canto-De-Souza (2014) ao investigar o papel da amígdala na modulação da empatia pela nocicepção, mostraram que o convívio com animal em dor crônica produz hipernocicepção no camundongo observador. O efeito hipernociceptivo foi acentuado após a inativação da amígdala com cloreto de cobalto, salientando o importante papel do complexo amigdalóide na expressão de empatia pela nocicepção em camundongos.

Recentemente, Baptista-de-Souza et al. (2018), visando mapear substratos neurais e áreas encefálicas envolvidas na modulação da empatia pela nocicepção em animais que conviveram com coespecífico em dor crônica observaram através da expressão de deltaFosB, um marcador de atividade neuronal, menor ativação do núcleo central da amígdala de camundongos. Neste estudo utilizou-se a proteína FosB e sua variante truncada deltaFosB, pois acumulam em regiões específicas do cérebro após exposição repetida a diferentes estímulos (estímulo crônico), diferente da proteína c-Fos e da maioria das outras proteínas relacionadas a Fos que são altamente instáveis e, por isso, desaparecem rapidamente (aproximadamente 2 h) após o fim do estímulo (NESTLER et al., 1999; BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2018).

A amígdala contém diversos neurotransmissores e respectivos receptores com importantes implicações em estados emocionais; além da ampla modulação neuroquímica

presente nesta importante estrutura (DAVIS, 1983; MCGAUGH, 2004; NEUGEBAUER et al., 2009). Dentre os neurotransmissores que modulam a resposta nociceptiva, a serotonina destaca-se por ser um neurotransmissor abundante no SNC, além de participar no processo de neuroplasticidade em neurônios serotoninérgicos, assim como no processo de desenvolvimento e maturação de diversos sistemas neuronais (MAZER et al., 1997; WHITAKER-AZMITIA et al., 1995).

Além disso, o complexo amigdalóide está envolvido nos principais circuitos serotoninérgicos que regulam as emoções, uma vez que este é um dos principais sítios pós-sinápticos que recebe projeções serotoninérgicas provenientes do núcleo dorsal da rafe através dos tratos periventricular e prosencefálico (DEAKIN; GRAEFF, 1991; HOYER; MARTIN, 1997).

1.4. NEUROTRANSMISSÃO SEROTONÉRGICA

A serotonina (5-hidroxitriptamina) é amina biogênica do grupo das indolaminas descoberta há quase 70 anos e está amplamente distribuída no SNC (NICHOLS; NICHOLS, 2008). A neurotransmissão serotoninérgica origina-se no mesencéfalo, precisamente nos núcleos da rafe, região caracterizada por apresentar alta densidade de corpos neuronais serotoninérgicos e projetar aferências para outras áreas do encéfalo (HOYER; MARTIN, 1997). É um neurotransmissor evolutivamente antigo e implicado numa grande variedade de processos comportamentais (DELL'OSSO et al., 2016; CARHART-HARRIS; NUTT, 2017).

O precursor da serotonina é o triptofano, um aminoácido derivado da proteína proveniente do organismo, cujo nível plasmático varia de modo considerável, de acordo com a ingestão de alimentos e o momento do dia. O maior nível de serotonina no organismo está presente pela manhã, entre 10h e 12h, momento da maior incidência solar (MARTINS, 2019). O triptofano é ativamente captado pelos neurônios, convertido pela enzima triptofano hidroxilase em 5-hidroxitriptofano. A triptofano hidroxilase pode ser inibida de modo seletivo e irreversível pela p- clorofenilalanina. Acredita-se que a disponibilidade do triptofano e a atividade da triptofano hidroxilase constituem os principais processos que regulam a síntese de serotonina. Após a sua liberação, a serotonina é, em grande parte, recuperada por recaptação neuronal, sendo este mecanismo inibido por muitos fármacos (por exemplo, antidepressivos tricíclicos) que inibem a captação de catecolaminas (RANG et al., 2012).

O sistema serotoninérgico é organizado de maneira altamente complexa, pois a ação da serotonina é mediada por subtipos de receptores serotoninérgicos. Esses subtipos podem ser divididos em sete classes principais (5-HT₁-5-HT₇) com base em suas características estruturais e funcionais (HOYER et al., 2002). Este alto grau de variabilidade dos receptores enfatiza claramente a importância fisiológica da serotonina e aponta para uma vasta diversidade de funções (NIESLER et al., 2003), sendo que a descoberta das propriedades do sistema que leva a essa complexidade é um dos principais objetivos de pesquisas com a serotonina. Desta maneira, o sistema serotoninérgico é composto por 18 subtipos de receptores que se diferenciam em alguns aspectos como afinidade pela serotonina, localização e disposição nos neurônios pré ou pós-sinápticos (NIESLER et al., 2003; HANNON; HOYER, 2008). São divididos em 6 classes de receptores metabotrópicos, ligados a proteína de guanosina (proteína G) localizados no SNC: 5-HT₁ [5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1C}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E}], 5-HT₂ [5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT_{2C}], 5-HT₄, 5-HT₅ [5-HT_{5A}, 5-HT_{5B}], 5-HT₆ e 5-HT₇, e uma classe de receptor do tipo ionotrópico, ligado ao canal iônico 5-HT₃ [5-HT_{3A}, 5-HT_{3B}, 5-HT_{3C}, 5-HT_{3D}, 5-HT_{3E}] (HOYER et al., 2002; NIESLER et al., 2003).

Sob aspectos emocionais, estudos têm demonstrado que a ativação seletiva de alguns receptores serotoninérgicos pode servir como agente terapêutico na melhora das funções cognitivas de pacientes psiquiátricos (TERRY et al., 2008). Por outro lado, sabe-se que esta amina biogênica tem função importante nos circuitos neurais que medeiam as respostas relacionadas ao transtorno de pânico e ao distúrbio de ansiedade generalizada, particularmente através de sua ação sobre os neurônios da amígdala e da SCP (ZANOVELI et al., 2009).

Em relação a nocicepção, a serotonina é um componente importante do meio químico inflamatório e contribui para a dor da lesão tecidual por meio de uma ação em vários subtipos de receptores (SOMMER, 2006; ZEITZ et al., 2002), podendo ser liberado por plaquetas, mastócitos ou basófilos que se infiltram em uma área de dano tecidual (DRAY, 1995).

A neurotransmissão serotoninérgica é vastamente descrita por participar de processos relacionados às emoções (ELHWUEGI, 2004; ZANGROSSI et al., 2020), nocicepção (COIMBRA et al., 1997; CANTO-DE-SOUZA et al., 1998; NUNES-DE-SOUZA et al., 2000; TAVARES et al., 2018; BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2018), na fisiopatologia de diversos distúrbios psiquiátricos como esquizofrenia e autismo (NAKAMURA et al., 2010), transtornos estes relacionados diretamente com déficits de comportamentos empáticos (CHARMAN et al., 1997; BENEDETTI et al., 2009).

No estudo realizado em 2014, Kim e colaboradores (2014) observaram alterações nos níveis de serotonina em camundongos submetidos ao modelo de medo observacional, paradigma usado para avaliar respostas relacionadas a comportamentos empáticos.

Nosso grupo reportou em estudo recente o aumento do turnover da serotonina na amígdala nos animais que conviveram com um coespecífico sujeito à constrição do nervo ciático quando comparados ao coespecífico sham (sem constrição do nervo), salientando a participação da serotonina neste modelo (BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2018). A participação de outras monoaminas nos processos de empatia também foi demonstrada em camundongos que conviveram com animais inoculados com indutor tumoral que apresentaram alterações nos níveis e no turnover de noradrenalina no hipocampo (ALVES et al., 2006).

Uma vez liberada, a serotonina é livre para interagir com vários subtipos de receptores molecularmente distintos expressos por nociceptores aferentes primários, incluindo o receptor 5-HT₃. Assim, dentre os diferentes subtipos de receptores, os receptores 5-HT₃ têm sido amplamente investigados com relação à modulação dos processos nociceptivos (MILLAN, 2003). Ao contrário de todos os outros subtipos de receptores de serotonina conhecidos, que são acoplados à proteína G (guanossina), o 5-HT₃ é um membro da superfamília dos canais de íons estimulados por ligantes excitatórios (MARICQ et al., 1991).

Os receptores 5-HT₃ concentram-se em regiões envolvidas na integração do reflexo de vômito, processamento da dor, sistema de recompensa e controle da ansiedade, sendo que os receptores periféricos desempenham uma tarefa importante na regulação das funções autonômicas e na transmissão sensorial da dor (FAERBER et al., 2007). Este receptor pode estar localizado em neurônios no prosencéfalo, como amígdala e hipocampo e em interneurônios GABAérgicos no córtex pré-frontal e amígdala (HANNA et al., 2000; HASSAINE et al., 2013). Os receptores 5-HT₃ também podem estar localizados em terminais nervosos pré-sinápticos, onde podem modular a liberação de diversos neurotransmissores. Evidências diretas da localização pré sináptica do receptor 5-HT₃ foram demonstradas através de técnicas de radiografia, hibridização *in situ* e através de imunistoquímica em subnúcleos de sinaptossomas vindos da amígdala e hipocampo (KAWAMATA et al. 2003; FUNAHASHI, 2004).

Evidências demonstram que a injeção periférica de serotonina evoca dor aguda que é atenuada por antagonistas dos receptores 5-HT₃ (ZEMLAN et al., 1988; SUFKA et al., 1992). Zeitz et al (2002) demonstraram que a nocicepção persistente induzida por lesão tecidual é significativamente reduzida após a eliminação funcional deste subtipo de receptor em

camundongos mutantes sem a subunidade 5-HT_{3A}. Estes autores sugerem que a serotonina, por meio da ação em receptores 5-HT₃, contribui para características específicas da dor induzida por lesão tecidual, ativando ambas as fibras A-delta mielinizadas e um subconjunto de fibras C. No mesmo estudo, injeções de agonistas de receptores 5-HT₃, *mCPBG* ou 2-metilserotonina na pata, produziram aumento no número de lambidas da pata destes animais. Esses resultados indicam que, quando a serotonina é liberada no local da lesão tecidual, ela contribui para o processamento nociceptivo e o edema no local, o qual é influenciado pela ativação dos receptores 5-HT₃ (ZEITZ et al., 2002).

A liberação de serotonina no local da lesão tem consequências múltiplas. A serotonina ativa diretamente aferências nociceptivas aumentando os impulsos transmitidos à medula espinhal, resultando na expressão de comportamentos sugestivos de dor. Contribui também para a inflamação neurogênica periférica, via ativação de aferências periféricas de pequeno diâmetro e liberação de peptídeos pró-inflamatórios, como a substância P dos terminais periféricos, induzindo assim, extravasamento de proteínas das vênulas pós-capilares, o que por sua vez contribui para o edema periférico (LEMBECK; GAMSE, 1982).

Em relação à empatia pela nocicepção, achados do nosso grupo sugerem que a administração sistêmica do antagonista competitivo dos receptores 5-HT₃, ondansetron, em camundongos submetidos ao convívio com o coespecífico em dor crônica promove diminuição da hipernocicepção (FERRARI; CANTO-DE-SOUZA, 2016). Deste modo, foi demonstrado o envolvimento do receptor 5-HT₃ na modulação da empatia, entretanto qual ou quais estruturas encefálicas estariam mediando esta resposta ainda permanece desconhecido.

Diante do panorama descrito, diferentes frentes de investigação têm sido desenvolvidas com o objetivo de esclarecer quais neurotransmissões estariam envolvidas nas respostas comportamentais relacionadas aos processos empáticos. Nesse sentido, investigações sobre a neurotransmissão GABAérgica, tem sido objeto de estudo em que a amígdala participa da modulação da nocicepção de camundongos (NUNES-DE-SOUZA et al., 2000; BAPTISTA et al., 2009).

1.5. NEUROTRANSMISSÃO GABAÉRGICA

O neurotransmissor ácido gama aminobutírico (GABA) é formado a partir do glutamato pela ação do ácido glutâmico descarboxilase, uma enzima localizada apenas em neurônios que sintetizam GABA no encéfalo. O GABA é degradado por uma reação de transaminação, em

que o grupo amino é transferido para o ácido alfa-oxoglutárico (produzindo glutamato), com formação de semi-aldeído succínico e, a seguir, ácido succínico (RANG et al., 2012; VOLK et al., 2016). Os neurônios GABAérgicos e os astrócitos captam o GABA através de transportadores específicos, e é este mecanismo, mais do que a GABA transaminase, que remove o GABA após a sua liberação. O GABA atua como transmissor inibitório em muitas vias diferentes do SNC (VOLK et al., 2016). É liberado principalmente por interneurônios curtos, mas também por tratos GABAérgicos longos que seguem seu trajeto até o cerebelo e o estriado. A ampla distribuição do GABA, e o fato de praticamente todos os neurônios serem sensíveis a seu efeito inibitório, sugerem que a sua função é única no cérebro e estima-se que o GABA atue como neurotransmissor em cerca de 30% de todas as sinapses no SNC (RANG et al., 2012; FRERKER et al., 2020).

O GABA atua em dois tipos distintos de receptores: um deles (receptor GABA_A) consiste em um canal regulado por ligante, enquanto o outro (GABA_B) é um receptor acoplado à proteína G (MEHTA; TICKU, 1999). Os receptores GABA_A pertencem à mesma classe estrutural dos receptores de canal iônico. Trata-se de pentâmeros compostos, em sua maioria, de três subunidades diferentes, duas subunidades alfa, duas beta e uma gama, envoltos de um canal de cloro, os quais, juntamente com o sítio benzodiazepínico, constituem um complexo macromolecular, funcionando como sítio alostérico (SIEGHART et al., 1999; ARGYROPOULOS; NUTT, 2003).

Sendo assim, os moduladores alostéricos se ligam a um local distinto do local ortostérico (o local de ligação do agonista endógeno), mas alteram as conformações dos receptores que influenciam a ligação e as propriedades funcionais dos agonistas que se ligam ao local ortostérico. Comparados aos receptores homoméricos, os receptores heteroméricos contêm um número aumentado de locais alostéricos potenciais para interação medicamentosa (THOMPSON; LUMMIS, 2007; DAVIES et al., 2011).

Os receptores GABA_A, de localização pós-sináptica, medeiam a inibição pós-sináptica rápida, sendo o canal seletivamente permeável aos íons cloreto (Cl⁻). Como o potencial de membrana em equilíbrio para Cl⁻ é, em geral, negativo em relação ao potencial de repouso da célula, o aumento da permeabilidade ao Cl⁻ acarreta na hiperpolarização da célula, reduzindo, assim, a sua excitabilidade (MEHTA; TICKU, 1999).

Os receptores de GABA_A constituem alvos para diversos fármacos importantes de ação central, principalmente os benzodiazepínicos e os barbitúricos. Os benzodiazepínicos, que exercem efeitos sedativos e ansiolíticos, potencializam seletivamente os efeitos do GABA sobre

os receptores de GABA_A. Ligam-se com alta afinidade a um sítio acessório, denominado sítio de benzodiazepínicos, sobre o receptor de GABA_A, de modo que a ligação do GABA é facilitada, e seu efeito agonista, potencializado (HAEFELY et al., 1990).

A estrutura química, base dos benzodiazepínicos, consiste em um anel de sete membros fundido a um anel aromático, com quatro grupamentos substituintes que podem ser modificados sem a perda da atividade. Os benzodiazepínicos atuam de modo seletivo sobre os receptores GABA_A que mediam a transmissão sináptica inibitória rápida, através do SNC. Os benzodiazepínicos potencializam a resposta ao GABA, por facilitarem a abertura dos canais de cloreto ativados pelo GABA. Eles se ligam de modo específico em um sítio regulador do receptor, distinto do sítio ligante do GABA, e agem de modo alostérico, aumentando a afinidade do GABA para o receptor (GUIDOTTI et al., 1980; HAEFELY et al., 1990).

Os benzodiazepínicos são principalmente usados para tratar os estados de ansiedade aguda, mas seu uso tem declinado em favor dos antidepressivos associados com terapias comportamentais em casos mais severos, e, além disso, possuem outros efeitos como hipnótico, anticonvulsivante e relaxante muscular (SIEGHART et al., 1999; GUIDOTTI et al., 2005). Os benzodiazepínicos sedativos, como o diazepam e midazolam, são agonistas, ou seja potencializam a ação do GABA e são muito utilizados na clínica por possuir ação rápida, com tempo de meia vida: 2-4 horas (REVES et al., 1985; WISE et al., 2007).

O agonista midazolam tem sido objeto de estudos, inclusive demonstrando que a participação da amígdala na modulação da antinocicepção (NUNES-DE-SOUZA et al., 2000; BAPTISTA et al., 2009). Nestes estudos, a dose de 30nmol de midazolam na amígdala bloqueou completamente a antinocicepção, sugerindo que os receptores GABA_A-benzodiazepínicos desta área modulam a antinocicepção induzida por ambientes aversivos (NUNES-DE-SOUZA et al., 2000). Além disso, o midazolam intra-amígdala aumentou a porcentagem de entradas nos braços abertos do labirinto em cruz elevado (LCE), indicando que a ativação dos receptores GABA_A-benzodiazepínicos também resulta em redução de comportamentos relacionados a ansiedade. Resultados semelhantes foram demonstrados em ratos tratados com midazolam intra-amígdala medial e basolateral (ZANGROSSI; GRAEFF, 1994; PESOLD; TREIT 1995; LANDEIRA-FERNANDEZ, 2018).

Estudo demonstrou atenuação do aspecto emocional no que diz respeito ao comportamento pró-social em ratos, visto que ratos quando tratados sistemicamente com midazolam não desempenharam a tarefa de ajudar o coespecífico em contenção, e os autores concluíram que para que este tipo de comportamento ocorra em animais, é necessária a presença

do aspecto emocional, o que foi impossibilitado após a administração do fármaco (BARTAL et al, 2016).

Outra referência a respeito da ação do midazolam na modulação social da nocicepção advém do nosso grupo de pesquisa, que observou o envolvimento da modulação GABAérgica através da diminuição da nocicepção em camundongos quando tratados sistemicamente com midazolam (2,0 mg/kg, s.c.). Com isso, na tentativa de verificar se os receptores GABAérgicos da ínsula participariam desta modulação, os autores realizaram a injeção intra-ínsula de midazolam, que não alterou a nocicepção induzida pelo convívio com um coespecífico em condição de dor crônica (ZANIBONI et al., 2018).

Estes achados sugerem que receptores GABA_A-benzodiazepínicos da ínsula não participam da modulação social deste tipo de nocicepção e sugerem que a modulação deste processo nociceptivo via sistema GABAérgico não ocorra por si só nesta estrutura, mas sim fazendo parte de um sistema interligado que envolve outras estruturas, como a amígdala, que também está envolvida no processo da modulação social da dor (FIELDS, 2004; STARR et al., 2009).

Diante da investigação de patologias relacionadas à modulação social da dor, encontrar as estruturas e neurotransmissões que participam deste processo pode ser fator importante para refinar os modelos animais utilizados nas pesquisas e conhecer os possíveis efeitos de fármacos que estejam atuando nestas áreas, bem como as neurotransmissões envolvidas (SHAMAY-TSOORY, 2011; BERNHARDT et al., 2012). Neste sentido, o sistema canabinóide tem sido alvo de inúmeros estudos que envolvem a dor crônica. O potencial farmacológico da *Cannabis sativa* tem sido investigado não só na modulação da nocicepção, mas também na esclerose múltipla, transtorno do estresse pós-traumático e epilepsia (MECHOULAM et al., 2002). Os canabinóides têm sido utilizados no tratamento da dor por muitos séculos. E, apesar de estudos pré-clínicos revelarem que bloqueiam a resposta da dor nos modelos testados, sua utilização ainda é pouco propagada, pois uma das características psicofarmacológicas mais importantes e controversas dos canabinóides é o seu potencial de abuso (WALKER; HUANG, 2002). Diante de tais evidências, faz-se relevante investigar o papel da neurotransmissão canabinóide na modulação social da dor, possibilitando que futuras pesquisas investiguem alternativas farmacológicas mais eficazes para o tratamento da dor relatada por cuidadores e pessoas da equipe de saúde que convivem com pacientes com dor crônica (DEL CASTILLO et al., 2008).

1.6. NEUROTRANSMISSÃO ENDOCANABINOIDE

Em relação as neurotransmissões relacionadas com a antinocicepção, o sistema endocanabinoide caracteriza-se por promover analgesia em diferentes situações clínicas e experimentais (PACHER et al., 2006; COSTA et al., 2007; GENARO et al., 2017). Sabe-se que extratos de *Cannabis sativa*, cujos princípios ativos interagem com os receptores canabinóides endógenos no organismo humano, foram usados por séculos como analgésicos, mas a falta de conhecimento, associada a reservas morais pelo seu abuso como psicotrópico, a levaram a ter seu uso proibido (ZUARDI et al., 2006). Entretanto, a identificação do tetraidrocannabinol (Δ^9 -THC) como componente psicoativo principal da planta, o crescimento da área de estudo em neurociências, com novas abordagens metodológicas e tecnologia disponível nas últimas décadas que permitiram, por exemplo, a identificação dos receptores canabinóides expressos em grande quantidade no tecido nervoso, levaram a um aumento do interesse das pesquisas nesta área como forma de ampliar os conhecimentos sobre os mecanismos de ação de fármacos já utilizados na clínica ou, ainda, sobre novos alvos terapêuticos para o controle da dor (GAONI; MECHOULAM, 1964; DEVANE et al., 1992).

O sistema endocanabinoide apresenta, para interação com os neurotransmissores endógenos, dois receptores principais que são denominados de CB₁ e CB₂; enquanto o primeiro tipo é predominantemente encontrado no SNC e periférico, o segundo tipo é principalmente encontrado no sistema imune e, em menor escala no SNC (DEVANE et al., 1988). Os receptores canabinóides pertencem à superfamília dos receptores de membrana ligados a proteína G. A ativação desses receptores inibe a adenilato ciclase, com conseqüente fechamento dos canais de cálcio, abertura dos canais de potássio e estimulação de proteínas quinases (DI MARZO et al., 2004; HOWLETT et al., 2004).

Os receptores CB₁ estão amplamente distribuídos no encéfalo, particularmente expressos em córtex, cerebelo, amígdala e hipocampo, correlacionando-se, desta forma, com a multiplicidade de efeitos dos agonistas canabinóides (ROCHE et al., 2010). Tais efeitos incluem o controle da atividade motora, a hipotermia, o aumento da fome e os distúrbios na consolidação da memória, além de efeitos psicotrópicos. A ativação dos receptores CB₁ localizados na membrana do neurônio pré-sináptico leva a inibição da liberação de neurotransmissores, como o glutamato e o GABA (SCHLICKER; KATHMANN, 2001). A expressão de receptores CB₂ foi observada em células astrogliais e microgliais no SNC, sendo que esta localização foi comprovada por meio do uso de técnicas distintas como hibridização in situ ou imunistoquímica (SCHLICKER; KATHMANN, 2001).

Os endocanabinoides agem como mensageiros retrógrados. O estímulo começa no neurônio pós-sináptico e a excitação neuronal leva à despolarização e ao influxo de íons cálcio que estimulam várias fosfolipases, iniciando assim a síntese dos endocanabinoides. Esses são liberados na fenda sináptica e se difundem livremente para estimular os receptores CB₁ nos terminais pré-sinápticos neuronais. Os endocanabinoides agem como mediadores locais de forma parácrina e autócrina, sendo captados por células neuronais através de transportadores e metabolizados rapidamente. Assim, são rapidamente hidrolisados pela enzima amidohidrolase de ácidos graxos (em inglês: FAAH) e pela enzima monoacilglicerol lipase (MAGL). É importante ressaltar que os endocanabinoides não ficam armazenados nas vesículas lisossômicas, mas são prontamente sintetizados e liberados para as células, onde e quando forem necessários. Portanto, a disponibilidade dos endocanabinoides é regulada por captação-degradação (DE PETROCELLIS et al., 2004).

Os efeitos antinociceptivos dos canabinoides são principalmente decorrentes da ativação de receptores CB₁, sendo que os dois neurotransmissores endógenos responsáveis pela interação com estes receptores são o N-araquidonil etanolamida, ou anandamida e 2-araquidonil glicerol (2-AG); ambos produzidos após influxo de Ca²⁺ na célula neuronal, o que ativa as enzimas responsáveis por sua síntese. Assim, as várias etapas do processo da neurotransmissão, incluindo suas vias de síntese, interação com receptores e degradação por enzimas veem sendo amplamente estudadas, como forma de elucidar qual o seu potencial para a produção de analgesia, desde a periferia, como nos nervos periféricos e células imunes, até a integração central na medula espinal, e nas regiões supra-espinais como a SCP e o bulbo rostral ventrolateral, que são associadas com o controle descendente da dor (MECHOULAM et al., 1995; ULUGÖL et al., 2014).

Uma grande densidade de receptores canabinóides podem ser observados no SNC, relacionadas à neurônios serotoninérgicos e adrenérgicos pertencentes a via descendentes de controle da dor, que medeiam a ação antinociceptiva induzida pelos canabinoides. O mecanismo analgésico dos canabinoides é complexo e múltiplos sítios de ação parecem contribuir para os efeitos analgésicos (HILL, et al., 2017).

Existem cerca de 100 canabinoides diferentes isolados da planta de *cannabis* (ANDRE et al., 2016). O principal composto psicoativo é o (-) -*trans* - Δ^9 -tetra-hidrocanabinol (THC), que é produzido principalmente nas flores e folhas da maconha. O conteúdo de THC varia de 5% em maconha a 80% em óleo de haxixe. O THC é um análogo ao canabinoide endógeno, anandamida. É responsável pela maioria das ações farmacológicas da *cannabis*, incluindo as

atividades psicoativas, analgésicas, anti-inflamatórias, broncodiladoras, antiespasmódicas e relaxantes musculares (RAHN; HOHMANN, 2009; RUSSO, 2011). O THC atua como agonista parcial dos receptores canabinoides (CB₁ e CB₂) (PERTWEE, 2008). Uma afinidade muito alta de ligação do THC com o receptor CB₁ parece mediar suas propriedades psicoativas (alterações de humor ou consciência), processamento de memória, controle motor, entre outros. Foi relatado que vários efeitos colaterais do THC, incluindo aumento da ansiedade, podem ser revertidas por outros constituintes da planta da cannabis (canabinoides, terpenóides e flavonóides) (RUSSO; GUY, 2006; ANDRE et al., 2016).

O análogo não psicoativo do THC, o canabidiol, é outro canabinoide importante encontrado na planta de cannabis. Evidências sugerem atividades analgésicas, anti-inflamatórias, anticonvulsivas e ansiolíticas significativas sem o efeito psicoativo do THC (COSTA et al., 2007). O canabidiol tem pouca afinidade de ligação para os receptores CB₁ ou CB₂, mas é capaz de antagonizá-los na presença de THC (THOMAS et al., 2007). O canabidiol também regula a percepção da dor, afetando a atividade de um número significativo de outros alvos, incluindo receptores acoplados a proteína G não canabinoides (por exemplo, 5-HT_{1A}), canais iônicos [TRPV₁ (receptor vaniloide de potencial transitório), receptores de glicina e 5-HT₃], além de inibir a captação da enzima FAAH (RUSSO et al., 2007; DE PETROCELLIS et al., 2011; BURSTEIN, 2015; MORALES et al., 2017). Russo (2011) demonstrou que o canabidiol também pode atuar sinergicamente com o THC e contribuir para o efeito analgésico.

Estudos comportamentais demonstram que agonistas de receptores canabinoides sintéticos ou derivados de plantas ou mesmo ligantes canabinoides endógenos são eficazes em diferentes modelos animais de dor aguda (DHOPESHWARKAR; MACKIE, 2014). No entanto, dados obtidos em humanos, incluindo voluntários com dor experimental e pacientes de ensaios clínicos, sugerem que os canabinoides podem ser mais eficazes para condições de dor crônica do que aguda (KRAFT et al., 2008). Nos seres humanos, múltiplos fatores emocionais e cognitivos influenciam a percepção e a experiência da dor, resultando em alta variabilidade interindividual (OLESEN et al., 2012). A nocicepção nos animais é medida não somente como uma resposta comportamental a estímulos nocivos, mas também verificando a influência de componentes emocionais, de modo que os resultados obtidos em estudos com animais sejam mais consistentes (OLESEN et al., 2012). Essas discrepâncias podem ser explicadas por diferenças de espécies, diferenças de metodologia e resultados medidos nos estudos, bem como falta de seletividade dos ligantes utilizados (DHOPESHWARKAR; MACKIE, 2014). Por outro lado, o resultado de um ensaio clínico da dor depende do tipo de dor, da metodologia empregada

no estudo, da população alvo de pacientes e de vários outros fatores (GEWANDTER et al., 2014).

Em diferentes condições de dor neuropática, a administração sistêmica de agonistas sintéticos canabinoides CB₁/CB₂ produz efeitos antinociceptivos semelhantes aos do THC (HERZBERG et al., 1997; PASCUAL et al., 2005; ABRAHAM et al., 2019). Os agonistas seletivos de CB₁ administrados por via intratecal ou sistêmica também são eficazes em vários modelos animais de dor neuropática (YAMAMOTO et al., 2008; KINSEY et al., 2011), e seus efeitos antinociceptivos não são acompanhados do desenvolvimento de tolerância, abstinência física e outros aspectos que acompanham a ativação do receptor CB₁ (DENG et al., 2015).

Quando administrado no início do curso da dor neuropática diabética, o canabidiol atenua a microgliose, ou seja, a micróglia passa de um estado de repouso para um estado reativo, o qual é acompanhado por alterações morfológicas e por proliferação celular, na medula espinhal lombar ventral de camundongos, bem como alodinia tátil e hiperalgesia térmica. No entanto, se administrado mais tarde no curso da doença, o canabidiol tem pouco efeito no comportamento relacionado à dor (TOTH et al., 2010).

Os efeitos antiinflamatórios e antinociceptivos do canabidiol foram reportados por Costa et al. (2004) através da administração por via oral (5-40 mg/kg) uma vez ao dia durante 3 dias após o início da inflamação aguda induzida por injeção intraplantar de carragenina em ratos. Os níveis de prostaglandina E₂ e a atividade da ciclooxigenase foram analisados no plasma, além da produção de óxido nítrico (conteúdo de nitrito/nitrato) e radicais livres derivados de oxigênio nos tecidos das patas inflamadas e observaram aumento significativo após a injeção de carragenina na pata do rato. O tratamento com canabidiol produziu diminuições nos níveis plasmáticos de prostaglandina E₂, atividade da ciclooxigenase tecidual, produção de espécies reativas de oxigênio e óxido nítrico após três doses sucessivas de canabidiol. Assim, o canabidiol oral exibiu ação benéfica em dois sintomas de inflamação: edema e hipernocicepção (COSTA et al., 2004).

Diante das evidências acima demonstrando o envolvimento do canabidiol na modulação sensorial da nocicepção, recentemente estudo do nosso laboratório investigou se o canabidiol pode atenuar a hipernocicepção induzida pelo convívio com coespecífico em dor crônica. Os resultados mostraram que a administração sistêmica de canabidiol (10 e 30 mg/kg, s.c.), produziu diminuição das contorções abdominais apenas nos animais que conviveram com o parceiro com constrição do nervo ciático, sem alterar a nocicepção nos parceiros que conviveram com coespecífico Sham (sem constrição do nervo ciático). O estudo levantou a

possibilidade da participação da neurotransmissão endocanabinoide na modulação da nocicepção induzida pelo convívio com coespecífico em quadro de dor crônica (PETRILLI et al., 2019).

1.7. INTERAÇÃO DOS RECEPTORES SEROTONÉRGICOS 5-HT₃ COM OS RECEPTORES GABA_A-BENZODIAZEPÍNICOS

Dados da literatura descrevem interação entre os receptores serotoninérgicos 5-HT₃ e os receptores GABA_A-benzodiazepínicos. Neste sentido, estudos apontam para a presença e as propriedades funcionais dos receptores 5-HT_{1A} e 5-HT₃ pré-sinápticos em terminais nervosos GABAérgicos que fazem sinapse com neurônios isolados da amígdala (KOYAMA et al., 1999, 2000). Corroborando este fato, a localização dos receptores 5-HT₃ e GABAérgicos no mesmo neurônio, sugere a participação dos receptores do subtipo 3 da serotonina na excitação de neurônios inibitórios em várias regiões encefálicas, como por exemplo, amígdala, córtex e hipocampo (SMILEY; GOLDMAN-RAKIC, 1996). O aumento da inibição GABAérgica com a ativação dos receptores 5-HT₃ pode apresentar caráter regulador ao funcionamento cerebral, pois agonistas dos receptores 5-HT₃ inibem a indução da potenciação de longa duração através da facilitação de neurônios GABAérgicos. Corroborando este fato, preconizou-se que os receptores 5-HT₃, em ratos, participam de um circuito de inibição e desinibição em estruturas como a amígdala (MORALES; BLOOM, 1997).

Segundo Turner et al. (2004) os receptores 5-HT₃ presentes na pré-sinapse apresentam elevada permeabilidade aos íons Ca²⁺, devido ao influxo iônico que ocorre nestes receptores atuando sobre a liberação de GABA. O íon cálcio tem importante papel no aumento da liberação GABAérgica pois ocorre interação com as zonas ativas das vesículas sinápticas facilitando a exocitose do neurotransmissor (TURNER et al., 2004). Nos neurônios da amígdala basolateral, foi demonstrado que o aumento da liberação de GABA é devido ao influxo de cálcio diretamente através da ativação dos receptores 5-HT₃ pré-sinápticos (KOYAMA et al., 2000).

Além disso, os receptores 5-HT₃, localizados no corpo celular de interneurônios GABAérgicos, presentes nas estruturas do sistema límbico como, amígdala, SCP e hipocampo, quando ativados, aumentam a transmissão sináptica inibitória do próprio GABA (KATSURABAYASHI et al., 2003).

Estudos apontam que os fármacos que atuam no receptor 5-HT₃ podem atuar em outros receptores que também utilizam canais iônicos para exercerem suas ações, como por exemplo, os receptores GABA_A, glicina e acetilcolina nicotínico. Neste sentido, alguns antagonistas do receptor 5-HT₃ atuam no complexo do receptor GABA_A, além de seus efeitos no receptor 5-HT₃ (KLEIN et al., 1994; BALAKRISHNAN et al., 2000).

1.8. INTERAÇÃO DOS RECEPTORES SEROTONÉRGICOS 5-HT₃ COM O SISTEMA ENDOCANABINOIDE

Como mencionado acima o receptor 5-HT₃ é um membro da superfamília de canais iônicos dependentes de ligantes que inclui a acetilcolina (receptor nicotínico), ácido gama-aminobutírico (receptor GABA_A), entre outros, que desempenham papéis importantes na depressão, ansiedade, abuso de substâncias, reflexo do vômito, dor inflamatória, nocicepção, função gastrointestinal e doenças cardiovasculares (DAVIES et al., 2011).

Agonistas e moduladores positivos dos receptores 5-HT₃ não são favoráveis para uso clínico devido ao aumento da ansiedade e de efeitos proeméticos. Entretanto, os antagonistas são utilizados para tratar o vômito que pode ser induzido, por exemplo, por quimioterapia e por problemas gastrointestinais além da relevância terapêutica para esquizofrenia, ansiedade, cognição e nocicepção (WALSTAB et al., 2010).

A maior parte dos membros da superfamília de canais iônicos dependentes de ligantes possuem várias subunidades diferentes que podem ser arranjadas para formar vários subtipos de receptores. Cada subunidade influencia estruturalmente as propriedades do canal; portanto, os receptores heteroméricos fornecem diversidade nas propriedades farmacológicas e biofísicas dentro de uma família de receptores (THOMPSON; LUMMIS, 2007; DAVIES et al., 2011).

Os canabinoides naturais exógenos e endógenos (Δ^9 -THC e anandamida) e sintéticos (WIN55, 212-2, JWH-015 e CP55940) suprimem eficientemente náuseas, vômitos e também demonstram propriedades analgésicas eficazes. No entanto, esses compostos canabinoides têm potencial terapêutico limitado devido às suas ações psicotrópicas mediadas por seu perfil agonista nos receptores CB₁ e CB₂. Assim, evidências demonstram que os canabinoides naturais e sintéticos, além de interagir com seus receptores endógenos podem também inibir os receptores 5-HT₃ (BARANN et al., 2002; PERTWEE, 2009; YANG et al., 2010).

O agonista endógeno dos receptores CB₁ anandamida, apresenta alta afinidade em bloquear os receptores 5-HT₃ em humanos em comparação com sua constante de dissociação,

(Ki), também chamada de constante de inibição, para os receptores CB₁ e CB₂ humanos. Como possível mecanismo de ação para o bloqueio induzido por anandamida dos receptores 5-HT_{3A}, Xiong et al (2008) sugeriram que a anandamida acelera a dessensibilização deste receptor (XIONG et al., 2008).

O canabinoide não-psicotrópico, canabidiol, demonstrou ser um inibidor alostérico dos receptores serotoninérgicos 5-HT_{3A} de camundongos. Propriedades não psicotrópicas do canabidiol são explicadas por uma afinidade muito baixa para os receptores CB₁ e CB₂. No entanto, o canabidiol continua a ter efeitos antieméticos, provavelmente devido a sua ação no receptor 5-HT_{3A}. Esses dados demonstram que parte dos efeitos terapêuticos dos canabinoides podem ser devidos a uma inibição alostérica dos receptores 5-HT₃ (YANG et al., 2010).

Em relação ao mecanismo de ação, foi observado que o canabidiol, *in vitro*, inibe a atividade da enzima FAAH, responsável pelo metabolismo do endocanabinoide anandamida (enzima de degradação). Assim, indiretamente, devido a ativação de receptores CB₁ via aumento dos níveis de anandamida, o canabidiol poderia modular sistemas neurotransmissores relacionados a estes receptores (ZUARDI et al., 2012).

De acordo com o envolvimento dos receptores canabinoides e dos receptores 5-HT₃ (VOOG et al., 2000; SIMPSON et al., 2000) na nocicepção, é provável que os canabinoides atuem não apenas em receptores CB₁, mas também em um sítio modulador alostérico do receptor 5-HT₃. Dados sugerem esta possibilidade através de técnicas de eletrofisiologia no neurônio ganglionar nodoso de rato, localizado no nervo vago aferente, com projeções para o núcleo do trato solitário (FAN, 1995). Este autor sugeriu que os receptores neuronais canabinoides interagem com o canal de íons receptores 5-HT₃ e que o receptor 5-HT₃ pode ser um alvo direto dos compostos canabinoides, em particular o agonista endógeno anandamida (BARANN et al., 2002).

Considerando que a dor é descrita como o quinto sinal vital pela Organização Mundial da Saúde, afetando a qualidade de vida do paciente e a sua capacidade funcional, tornando assim um problema de saúde pública, e que dados recentes evidenciam que a dor afeta 15% da população mundial, sendo que no Brasil 51,44% de pacientes apresentam este sintoma isoladamente ou associado a outra patologia (SBED, 2018), é relevante avaliar o papel dos receptores 5-HT₃, GABA_A e do canabidiol na amígdala na modulação social da dor, bem como investigar se esses sistemas interagem entre si na empatia relacionada à nocicepção em camundongos que conviveram com uma condição específica de dor crônica. Dessa forma, em

conjunto, este estudo é relevante para a compreensão dos processos neurobiológicos envolvidos na empatia relacionada à nocicepção.

Assim, enquanto os mecanismos neurobiológicos, vias e estruturas que modulam o componente sensorial da dor têm sido extensivamente explorados, aqueles envolvidos nos componentes afetivo-emocional e cognitivo ainda não foram investigados de forma significativa na literatura. Neste sentido, diante das evidências descritas acima, é possível que o bloqueio do receptor serotoninérgico 5-HT₃, receptor envolvido com o aumento da nocicepção; a ativação do sítio GABA_A-benzodiazepínico, receptor envolvido no controle inibitório da nocicepção e que o fitocanabinóide canabidiol, através da modulação do sistema endocanabinoide possam atenuar a hipernocicepção acarretada pelo convívio com um parceiro em dor crônica, modelo este que representa bem a influência do componente emocional presente na nocicepção, que podem ser observados em pacientes com dor crônica.

Portanto, hipotetizamos que os três sistemas mencionados acima atuam separados e também em conjunto interferindo na hipernocicepção induzida pelo modelo de empatia pela nocicepção.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar o envolvimento dos sistemas serotoninérgico, GABAérgico e endocanabinoide do complexo amigdalóide na empatia relacionada à nocicepção em camundongos que conviveram com coespecífico em dor crônica.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar a expressão dos receptores 5-HT₃ nos núcleos basolateral e central dos hemisférios esquerdo e direito da amígdala na empatia relacionada à nocicepção em camundongos que conviveram com coespecífico em dor crônica.
- Avaliar o efeito da injeção intra-amígdala do ondansetron (antagonista competitivo dos receptores 5-HT₃) na empatia relacionada à nocicepção em camundongos que conviveram com coespecífico em dor crônica.
- Avaliar o efeito da injeção intra-amígdala do *m*CPBG (agonista dos receptores 5-HT₃) na empatia relacionada à nocicepção em camundongos que conviveram com coespecífico em dor crônica.
- Avaliar o efeito da injeção intra-amígdala do midazolam (agonista dos receptores GABA_A-Benzodiazepínicos) na empatia relacionada à nocicepção em camundongos que conviveram com coespecífico em dor crônica.
- Avaliar o efeito das injeções intra-amígdala de ondansetron combinadas com midazolam, na empatia relacionada à nocicepção em camundongos que conviveram com coespecífico em dor crônica.
- Avaliar o efeito da injeção intra-amígdala de canabidiol na empatia relacionada à nocicepção em camundongos que conviveram com coespecífico em dor crônica.
- Avaliar o efeito das injeções intra-amígdala de ondansetron combinadas com canabidiol, na empatia relacionada à nocicepção em camundongos que conviveram com coespecífico em dor crônica.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. SUJEITOS

Foram utilizados 672 camundongos da linhagem Suíço albino, machos com 21 dias no início dos experimentos, provenientes do biotério central da Universidade Federal de São Carlos, UFSCar. Os animais foram mantidos em condições controladas de temperatura ($23 \pm 1^\circ\text{C}$) e luz (ciclo de 12/12 horas, luzes acesas às 07h00min e apagadas às 19h00min) e tiveram livre acesso ao alimento e à água, exceto durante os curtos períodos de teste. Todos os procedimentos envolvendo o uso de animais neste estudo foram aprovados pela Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Carlos, UFSCar (CEUA nº 8863220217, 3305221018).

3.2. DROGAS

Para o tratamento intra-amígdala foram utilizados:

- Ondansetron (1,2,3,9-tetrahidro-9-metil-3[(2-metil-1H-imidazol-1-yl)]-metil-4H-carbazol-4-um), PM 365,9 g (Sigma) dissolvido em veículo (salina com 2% de Tween 80), nas doses 0,3, 1,0 e 3,0 nmol/0,1µl.
- *m*CPBG 1(m-clorofenil) -biguanida, [1- (3-clorofenil) biguanida hidrocloreídrica], PM: 248,11g (Sigma), dissolvidos em salina (0,9% NaCl) nas doses 10 e 20 nmol/0,1µl.
- Midazolam (8-Cloro-6-(2-fluorofenil) -1-metil-4H-imidazo [1,5a] [1,4] benzodiazepina hidrocloreídrico, PM 362,23, (Roche, Brazil) dissolvidos em salina (0,9% NaCl), nas doses 3,0 e 30 nmol/0,1 µl.
- Canabidiol 2-[(1R,6R)-6-isopropenyl-3-methylcyclohex-2-en-1-yl]-5-pentylbenzene-1,3-diol, PM: 314,464 g/mol (THC Pharm, Alemanha), dissolvidos em veículo (salina com 2% de Tween 80), na dose de 30 nmol/0,1 µl.

As doses foram baseadas em estudos prévios da literatura (NUNES-DE-SOUZA et al., 2000; EGUCHI et al., 2001; MARUCCI; CANTO-DE-SOUZA, 2006; BARBALHO et al., 2009; LAINE; CANTO-DE-SOUZA, 2008; GOMES et al., 2012; CRESTANI et al., 2013).

3.3. CIRURGIA E ADMINISTRAÇÃO DE DROGAS

Os animais foram anestesiados com solução de cloridrato de cetamina e xilazina (100 mg/kg e 10 mg/kg, i.p., respectivamente). Após a tricotomia da região da cabeça, os

camundongos foram fixados a um aparelho estereotáxico (Insight Instrumentos, Brasil) e passaram por cirurgia para a implantação bilateral intracraniana de cânula-guia (25-gauge) de 7 mm de comprimento (Insight Instrumentos, Brasil). As cânulas foram direcionadas para o complexo amigdalóide e as seguintes coordenadas estereotáxicas medidas da base do crânio, foram utilizadas: Antero-Posterior (AP) = -1,3mm; Lateral (L) = +/-3,3mm; Dorsoventral (DV)= -2,8mm, tendo o bregma como referência (PAXINOS; FRANKLIN, 2001). As coordenadas acima foram utilizadas no intuito de atingir o núcleo basolateral da amígdala, devido aos outros núcleos serem extremamente pequenos em camundongos.

A ponta das cânulas-guia foi posicionada a $\pm 2,0$ mm dorsal à estrutura alvo. As cânulas foram fixadas no crânio por uma prótese de resina acrílica autopolimerizável presa a um parafuso de aço inoxidável fixado a calota craniana. Para evitar problemas com obstrução, entupimento e reduzir contaminação, foi introduzido em cada cânula-guia um mandril de aço inoxidável do mesmo comprimento da cânula o qual foi removido durante o procedimento de injeção.

Ao final da cirurgia, os animais receberam injeções do analgésico cetoprofeno (5 mg/kg, s.c.) (GARBER et al., 2011) e do antibiótico ceftriaxona (4 mg/kg, i.m.) (STEPANOVIC-PETROVIC et al., 2014), para evitar possíveis infecções. Os animais permaneceram em recuperação por 4 a 5 dias após a cirurgia, e posteriormente foram submetidos ao teste comportamental.

No dia do teste, em todos os experimentos, as injeções foram realizadas simultaneamente nos dois hemisférios por meio de duas agulhas de injeção (33-gauge). As agulhas foram inseridas dentro de cada uma das cânulas-guia para a injeção bilateral de soluções na amígdala, sendo que o comprimento de cada agulha ultrapassou 2,0 mm a ponta da cânula-guia. Cada agulha de injeção foi conectada, por meio de tubo de polietileno (PE-10) a duas microseringas Hamilton (10 μ L). Para o controle do volume e do tempo de injeção das drogas foi utilizada uma bomba de microinjeção digital (BI2000 Insight Equipamentos) programada para injetar 0,1 μ L de solução durante um período de 60 segundos. O procedimento de microinjeção constituiu na remoção do mandril, inserção da agulha de injeção, injeção das soluções por 60 segundos, permanência da agulha de injeção por 90 segundos, para evitar o refluxo das drogas, enquanto o animal foi contido manualmente pelo experimentador com auxílio de uma flanela. O movimento de uma pequena bolha de ar no tubo de polietileno durante as injeções confirmou o fluxo da solução (NUNES-DE-SOUZA et al., 2000).

3.4. CONSTRIÇÃO DO NERVO CIÁTICO

Para reproduzir o modelo de dor crônica, o método de Bennett e Xie (1988), modificado para camundongos (SOMMER; SCHAFERS, 1998) foi utilizado. O modelo consistiu em, após anestesia com cetamina e xilazina (90 mg/kg e 10 mg/kg, respectivamente, i.p.), uma secção da fáscia entre o glúteo e bíceps femural e a exposição do nervo ciático direito próximo a sua trifurcação. Após o corte do tecido ao redor do nervo, em uma distância de aproximadamente 8mm, foi realizada a compressão do nervo através de três ligaduras com fio estéril não reabsorvível e não inflamatório mononylon 6.0.

Os comportamentos relacionados à dor aumentam ao longo dos dias e o pico é atingido no 14º dia após a constrição (NITANDA et al, 2005). O teste da placa quente, foi utilizado como parâmetro de medida de nocicepção crônica (BENNETT; XIE, 1988; LIU, et al, 2002; NITANDA, et al, 2005).

Os animais que são submetidos a constrição crônica do nervo ciático mostram sinais comportamentais interpretados como dor espontânea, incluindo lambar e mancar da pata traseira ipsilateral, além de evitar colocar peso no lado lesionado. Evidências demonstram que dentro de 2 dias após a cirurgia, os ratos mostram sinais de alodinia mecânica, térmica e hiperalgesia térmica na pata lesada (BENNETT; XIE, 1988). Dentro de três dias da cirurgia, 89% das fibras A β , 87% da A δ e 32% das fibras C são perdidas, com progressão para perda de 94% das fibras mielinizadas e 73% das fibras não mielinizadas em 14 dias (MUNGER et al, 1992).

Estudos eletrofisiológicos mostraram que as aferentes primárias, incluindo fibras mielinizadas de grande diâmetro, descarregam espontaneamente em focos ectópicos próximos à lesão, e essas descargas anormais podem contribuir para manifestações espontâneas e evocadas de dor neuropática (MUNGER et al, 1992).

3.5. TESTE DA PLACA QUENTE

O teste da placa quente avaliou o tempo em que os animais permanecem sobre uma chapa metálica aquecida (52°C) (LIU et al., 2002), até reagirem ao estímulo térmico com o comportamento de levantar ou lambar as patas.

Este teste foi utilizado como medida para verificar a efetividade da cirurgia de constrição. A latência da retirada da pata traseira direita após aplicação de calor a 52°C foi

mensurado (LIU et al., 2002). O tempo máximo que o animal permaneceu sobre a placa quente foi de 30 segundos, para evitar lesão nas patas (KURAISHI et al., 1983).

3.6. TESTE NOCICEPTIVO

A nocicepção foi avaliada pelo teste de contorções abdominais, descrito por Vander Wende e Margolin (1956) que observaram; “severas contrações da musculatura abdominal, acompanhada pelas contorções que se estendem por todo o corpo e para os membros traseiros”. Neste estudo, as contorções foram induzidas pela injeção intraperitoneal (i.p.) de ácido acético a 0,6% (10 ml/kg) (VANDER WENDE; MARGOLIN, 1956; LANGFORD et al., 2006; BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2015).

Após a injeção do ácido, o animal permaneceu na caixa com o coespecífico até o início das contorções abdominais (máximo 5 minutos), e em seguida foi transportado para a sala de testes na caixa com o parceiro com dor crônica ou sham. O teste de contorções foi filmado durante 5 minutos por uma câmera acoplada a um computador que estava na sala adjacente a sala de teste. O número de contorções abdominais foi registrado por meio do programa X-PLO-RAT 2005, versão 1.1.0 (GARCIA, et al., 2005). Os sujeitos que não contorceram no período de 5 minutos antes do teste foram excluídos do estudo.

3.7. HISTOLOGIA

Após o término dos experimentos, com exceção do experimento 1A, os camundongos foram anestesiados com solução de cetamina e xilazina (100/10 mg/kg, i.p.) e receberão uma infusão de 0,1 µl de uma solução de azul de Evans a 2%, de acordo com o procedimento descrito anteriormente para administração central de drogas. Em seguida, os animais foram perfundidos transcardialmente com solução salina estéril (0,9% NaCl) seguida de solução de paraformaldeído (10%). Ao fim da perfusão, os animais foram decapitados, seus encéfalos removidos e mantidos em recipientes contendo solução de formalina a 10%. Posteriormente, os encéfalos foram seccionados (40µm) em criostato a -20°C (LEICA CM 1850, Leica Biosystems, Alemanha) para análise histológica dos sítios de injeção. As secções foram avaliadas com o auxílio de um microscópio (Olympus BX41TF) e a visualização da dispersão do azul de Evans indicou o local da injeção central de drogas, segundo o atlas de Paxinos e Franklin (PAXINOS; FRANKLIN, 2001).

3.8. IMUNOISTOQUÍMICA

Após o experimento 1A, os camundongos foram anestesiados e perfundidos com solução salina tamponada com fosfato (PBS), seguido por paraformaldeído 4%. Os encéfalos removidos foram pós-fixados em paraformaldeído por 2h e transferidos para solução de sacarose 30% em PBS 4°C. Após 2 dias, os encéfalos foram congelados em gelo seco em pó por 1h e mantidos em -80°C até serem fatiados em fatias coronais de 35µm de espessura no criostato. Cabe ressaltar que foi feita uma marcação, com uma agulha, no lado direito dos encéfalos com o propósito de investigar a presença ou não de lateralização. As fatias contendo a região encefálica de interesse (amígdala) foram lavadas 3 vezes (10 minutos cada lavagem) em PBS e incubadas em solução bloqueadora (soro de cabra 3% e Triton X-100 0,25% dissolvidos em PBS) por uma hora à temperatura ambiente. Após o bloqueio as fatias foram incubadas com anticorpo anti-5-HT₃ (diluição 1:1000; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA; produzido em coelho), em solução bloqueadora por 24 horas, à 4°C. Após essa incubação, as fatias foram lavadas com PBS por 3 vezes (10 minutos cada lavagem) e incubadas com anticorpo secundário biotilado anti-coelho (diluição 1:600; Vector Laboratories, Burlingame, CA, EUA) em PBS-Tx (Triton X-100 0,25%) e soro de cabra 3%, por 2 horas, à temperatura ambiente. Em seguida, as fatias foram lavadas com PBS por 3 vezes (10 minutos cada lavagem) e incubadas por 1 hora em solução de avidina-biotina-peroxidase (ABC Elite kit, PK-6100; Vector Laboratories, Burlingame, CA, EUA), Triton X-100 0,5% e PBS. Na sequência, as fatias foram lavadas 3 vezes (10 minutos cada lavagem) e incubadas em 3,3'-diaminobenzidina (DAB) por aproximadamente 7 minutos. Finalmente, foram lavadas 4 vezes (5 minutos cada lavagem), transferidas para solução de PBS e montadas em lâminas gelatinizadas. Após a secagem, as lâminas foram hidratadas em água destilada e, em seguida, desidratadas em gradiente seriado de titulações crescentes de etanol (30%, 60%, 90%, 95% e 100%) e xilol (LabSynth, São Paulo, Brasil). Todas as lâminas foram cobertas com permount (Sigma-Aldrich, St. Louis, MA, EUA) e lamínulas. A imunomarcção de 5-HT₃ foi capturada através de uma câmara acoplada a um microscópio (Zeiss Axioskop 2). Foram capturadas 4 imagens por hemisfério [denominados D (direito) e E (esquerdo)] por camundongo e a expressão para 5-HT₃ foram contadas utilizando o programa ImageJ. O valor total da expressão para cada animal representa a média das 4 imagens (SORREGOTTI et al., 2018).

3.9. PROCEDIMENTOS

O delineamento experimental, ocorreu da seguinte forma: os animais foram alojados em pares nas caixas-viveiro após o nascimento e desmame (21 dias), formando dois grupos:

Grupo Constrição Nervo Ciático

Após 14 dias de convivência, um dos animais de cada par foi submetido à constrição do nervo ciático, conforme procedimento descrito no item 3.4.

Grupo Sham

Após 14 dias de convivência, um dos animais de cada par foi submetido ao procedimento cirúrgico semelhante ao de constrição do nervo ciático (item 3.4), apenas com exposição do nervo, sem constrição do mesmo.

Os grupos formados acima foram submetidos aos experimentos 1 (A, B, C), 2, 3, 4 e 5, descritos abaixo:

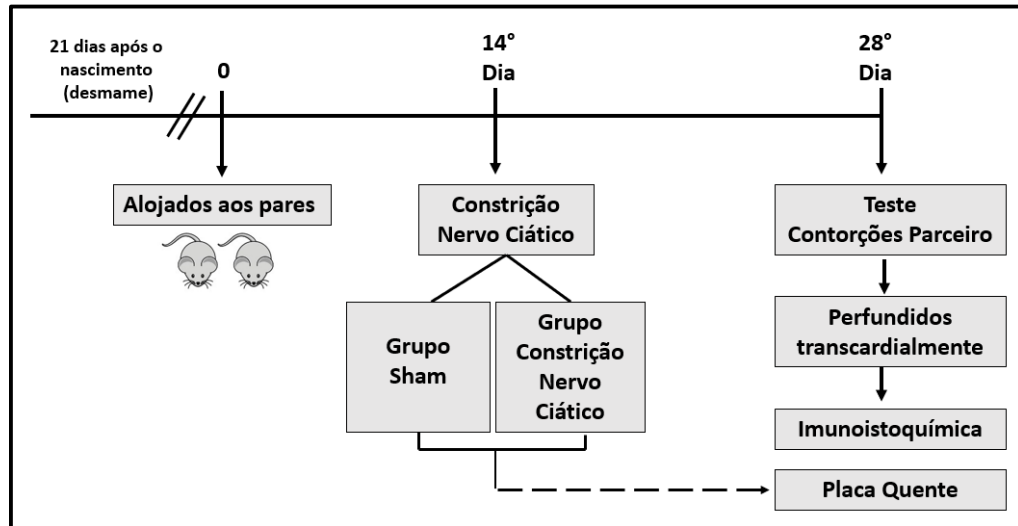
3.9.1. Experimento 1A. Investigar a expressão dos receptores 5-HT₃ da amígdala na empatia promovida pela nocicepção induzida pela convivência com coespecífico submetido a um modelo de dor crônica em camundongos.

Aos 21 dias pós-nascimento (desmame) os animais foram alojados em pares nas caixas viveiro e mantidos no biotério de experimentação do laboratório de psicologia da aprendizagem (LPA). No 14º dia de convivência, período utilizado para estabelecimento de familiaridade (LANGFORD, et al, 2006; BARTAL, et al., 2011), um dos animais da dupla foi submetido à cirurgia de constrição do nervo ciático (constrito) ou não (Sham) e retornou à caixa viveiro. No 28º dia de convívio, os observadores [animais que conviveram com camundongos com constrição no nervo ciático (CNC) ou sem constrição do nervo (CS)], receberam injeção de ácido acético 0,6% (i.p.) e foram submetidos ao teste de contorções abdominais na presença do coespecífico (Constrito ou Sham) para avaliação da nocicepção por 5 minutos. O teste de contorções foi filmado por uma câmera acoplada a um computador durante 5 minutos.

Ao final do experimento, os animais com constrição do nervo ciático ou não constritos (Sham), foram submetidos ao teste da placa quente para confirmação da hiperalgesia induzida pelo procedimento cirúrgico.

Noventa minutos após o teste, todos os animais foram perfundidos e os encéfalos removidos e processados para a imunistoquímica. Na figura 1, observamos o delineamento experimental do experimento 1A e na tabela 1 observamos os grupos experimentais formados.

Figura 1: Delineamento do experimento 1A



Fonte: o próprio autor (2020)

Tabela 1: Total de camundongos utilizados no teste de contorções abdominais no experimento 1A.

Constrição nervo ciático		Teste de contorções abdominais (observadores)	
Sham	Constritos	CS	CNC
n= 7	n= 8	n= 7	n=8

Os números representam o total de camundongos utilizados por grupo. Constritos= camundongos com constrição no nervo ciático; Sham= camundongo sem constrição do nervo ciático; CNC= observador do camundongo com constrição do nervo ciático; CS= observador do camundongo sem constrição do nervo ciático.

3.9.2. Experimento 1B. Avaliar o efeito da injeção intra-amígdala do ondansetron (antagonista dos receptores 5-HT₃) na empatia promovida pela nocicepção induzida pela convivência com coespecífico submetido a um modelo de dor crônica em camundongos.

O procedimento foi semelhante ao descrito no experimento 1A, exceto que no 24º dia um dos animais da dupla, CNC ou CS que conviveu com o coespecífico constrito ou Sham, foi submetido a cirurgia estereotáxica para implantação de cânulas-guia na amígdala.

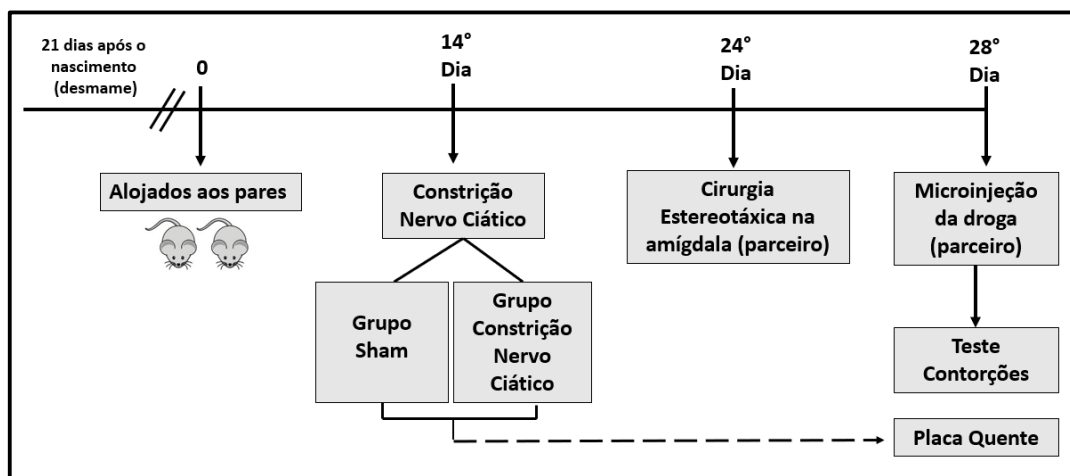
No 28º dia de convívio, o animal CNC ou CS recebeu injeção bilateral intra-amígdala de veículo ou ondansetron (0,3, 1,0 ou 3,0 nmol/0,1µl) e após três minutos, injeção de ácido

acético 0,6% (i.p., estímulo nociceptivo), e após o início das contorções foi submetido ao teste de contorções abdominais para avaliação da nocicepção.

Ao final do experimento, os animais com constrição do nervo ciático ou não, constritos e Sham, foram submetidos ao teste da placa quente para confirmação da hiperalgesia induzida pelo procedimento cirúrgico.

Abaixo, na figura 2, observamos o delineamento experimental do experimento 1B e na tabela 2 observamos os grupos experimentais formados.

Figura 2: Delineamento do experimento 1B



Fonte: o próprio autor (2020)

Tabela 2: Grupos formados no Experimento 1B

Tratamento (nmol/0,1µL)	Constrição nervo ciático		Teste de contorções abdominais (observadores)	
	Sham	Constritos	CS	CNC
Veículo	n= 10	n= 10	n= 10	n= 10
Ondansetron 0,3	n= 09	n= 11	n= 09	n= 11
Ondansetron 1,0	n= 12	n= 09	n= 12	n= 09
Ondansetron 3,0	n= 10	n= 08	n= 10	n= 08

Os números representam o total de camundongos utilizados por grupo. Os animais sham e constritos não receberam tratamento farmacológico. Constritos= camundongos com constrição no nervo ciático; Sham= camundongo sem constrição do nervo ciático; CNC= observador do camundongo com constrição do nervo ciático; CS= observador do camundongo sem constrição do nervo ciático.

3.9.3. Experimento 1C. Avaliar o efeito da injeção intra-amígdala do *mCPBG* (agonista dos receptores 5-HT₃) na empatia promovida pela nocicepção induzida pela convivência com coespecífico submetido a um modelo de dor crônica em camundongos.

O protocolo do experimento 1C foi semelhante ao experimento 1B. Assim, no 28º dia de convívio o animal CNC ou CS recebeu injeção bilateral intra-amígdala de salina ou *mCPBG*

(10 ou 20 nmol/0,1µl) e após três minutos, injeção de ácido acético 0,6%, s.c., e após o início das contorções foi submetido ao teste de contorções abdominais para avaliação da nocicepção.

Ao final do experimento, os animais com constrição do nervo ciático ou não, constritos e Sham, foram submetidos ao teste da placa quente para confirmação da hiperalgesia induzida pelo procedimento cirúrgico.

Na figura 2, observamos o delineamento experimental do experimento 1C e na tabela 3 observamos os grupos experimentais formados.

Tabela 3: Grupos formados no Experimento 1C

Tratamento (nmol/0,1µL)	Constrição nervo ciático		Teste de contorções abdominais (observadores)	
	Sham	Constritos	CS	CNC
Salina	n= 09	n= 10	n= 09	n= 10
<i>m</i> CPBG 10	n= 08	n= 08	n= 08	n= 08
<i>m</i> CPBG 20	n= 08	n= 08	n= 08	n= 08

Os números representam o total de camundongos utilizados por grupo. Os animais sham e constritos não receberam tratamento farmacológico. Constritos= camundongos com constrição no nervo ciático; Sham= camundongo sem constrição do nervo ciático; CNC= observador do camundongo com constrição do nervo ciático; CS= observador do camundongo sem constrição do nervo ciático.

3.9.4. Experimento 2. Avaliar o efeito da injeção intra-amígdala do midazolam (agonista dos receptores GABA_A-benzodiazepínicos) na empatia promovida pela nocicepção induzida pela convivência com coespecífico submetido a um modelo de dor crônica em camundongos.

O protocolo do experimento 2 foi semelhante ao experimento 1B. Assim, no 28º dia de convívio o animal CNC ou CS recebeu injeção bilateral intra-amígdala de salina ou midazolam (3,0 ou 30 nmol/0,1µl) após três minutos injeção de ácido acético (0,6%, s.c.) e após o início das contorções foi submetido ao teste de contorções abdominais para avaliação da nocicepção.

Ao final do experimento, os animais com constrição do nervo ciático ou não, constritos e Sham, foram submetidos ao teste da placa quente para confirmação da hiperalgesia induzida pelo procedimento cirúrgico.

Na figura 2, observamos o delineamento experimental do experimento 2 e na tabela 4 observamos os grupos experimentais formados.

Tabela 4: Grupos formados no Experimento 2

Tratamento (nmol/0,1µL)	Constricção nervo ciático		Teste de contorções abdominais (observadores)	
	Sham	Constritos	CS	CNC
Salina	n= 10	n= 09	n= 10	n= 09
Midazolam 3,0	n= 07	n= 07	n= 07	n= 07
Midazolam 30	n= 08	n= 09	n= 08	n= 09

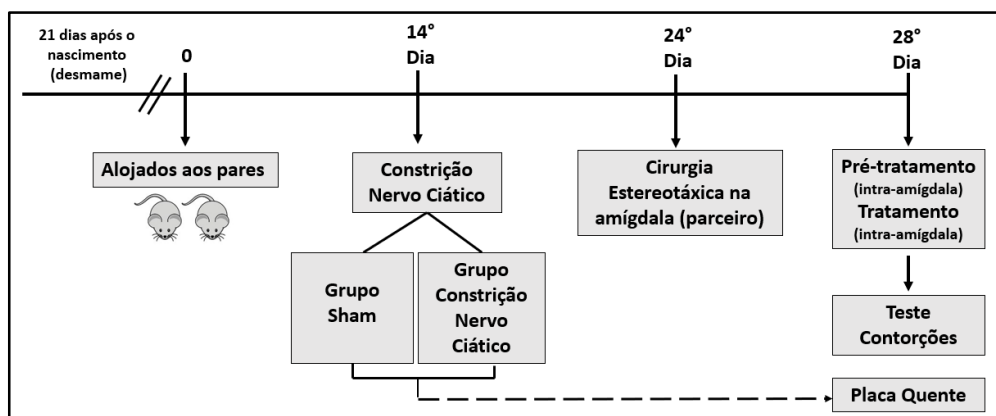
Os números representam o total de camundongos utilizados por grupo. Os animais sham e constritos não receberam tratamento farmacológico. Constritos= camundongos com constricção no nervo ciático; Sham= camundongo sem constricção do nervo ciático; CNC= observador do camundongo com constricção do nervo ciático; CS= observador do camundongo sem constricção do nervo ciático.

3.9.5. Experimento 3. Avaliar o efeito das injeções bilaterais intra-amígdala de ondansetron combinadas com midazolam, na empatia promovida pela nociceção induzida pela convivência com coespecífico submetido a um modelo de dor crônica em camundongos.

O protocolo do experimento 3 foi semelhante ao experimento 1B. Assim, no 28º dia de convívio o animal CNC ou CS, recebeu injeção bilateral intra-amígdala de veículo ou ondansetron (0,3 nmol/0,1µl), seguido de injeção bilateral intra-amígdala de salina ou midazolam (3,0 nmol/0,1µl), e após três minutos do último tratamento, recebeu injeção de ácido acético (0,6%, s.c.) e após o início das contorções foi submetido ao teste de contorções abdominais para avaliação da nociceção.

Ao final do experimento, os animais com constricção do nervo ciático ou não, constritos e Sham, foram submetidos ao teste da placa quente para confirmação da hiperalgesia induzida pelo procedimento cirúrgico. Na figura 3, observamos o delineamento experimental do experimento 3 e na tabela 5 observamos os grupos experimentais formados.

Figura 3: Delineamento do experimento 3



Fonte: o próprio autor (2020)

Tabela 5: Grupos experimentais formados no Experimento 3

Tratamento (nmol/0,1µL)	Constricção nervo ciático		Teste de contorções abdominais (observadores)	
	Sham	Constritos	CS	CNC
Veículo – Salina	n= 09	n= 09	n= 09	n= 09
Veículo – Midazolam 3,0	n= 08	n= 09	n= 08	n= 09
Ondansetron 0,3 – Salina	n= 09	n= 07	n= 09	n= 07
Ondansetron 0,3 – Midazolam 3,0	n= 07	n= 07	n= 07	n= 07

Os números representam o total de camundongos utilizados por grupo. Os animais sham e constritos não receberam tratamento farmacológico. Constritos= camundongos com constricção no nervo ciático; Sham= camundongo sem constricção do nervo ciático; CNC= observador do camundongo com constricção do nervo ciático; CS= observador do camundongo sem constricção do nervo ciático.

3.9.6. Experimento 4. Avaliar o efeito da injeção intra-amígdala de canabidiol na empatia promovida pela nocicepção induzida pela convivência com coespecífico submetido a um modelo de dor crônica em camundongos.

O protocolo do experimento 4 foi semelhante ao experimento 1B. Assim, no 28º dia de convívio o animal CNC ou CS, recebeu injeção bilateral intra-amígdala de veículo ou canabidiol (30 nmol/0,1µl) e depois de três minutos injeção de ácido acético (0,6%, s.c.), e após o início das contorções foi submetido ao teste de contorções abdominais para avaliação da nocicepção.

Ao final do experimento, os animais com constricção do nervo ciático ou não, constritos e Sham, foram submetidos ao teste da placa quente para confirmação da hiperalgesia induzida pelo procedimento cirúrgico.

Na figura 2, observamos o delineamento experimental do experimento 4 e na tabela 6 observamos os grupos experimentais formados.

Tabela 6: Grupos formados no Experimento 4

Tratamento (nmol/0,1µL)	Constricção nervo ciático		Teste de contorções abdominais (observadores)	
	Sham	Constritos	CS	CNC
Veículo	n= 05	n= 05	n= 05	n= 05
Canabidiol 30	n= 05	n= 05	n= 05	n= 05

Os números representam o total de camundongos utilizados por grupo. Os animais sham e constritos não receberam tratamento farmacológico. Constritos= camundongos com constricção no nervo ciático; Sham= camundongo sem constricção do nervo ciático; CNC= observador do camundongo com constricção do nervo ciático; CS= observador do camundongo sem constricção do nervo ciático.

3.9.7. Experimento 5. Avaliar o efeito das injeções bilaterais intra-amígdala de ondansetron combinadas com canabidiol, na empatia promovida pela nocicepção induzida pela convivência com coespecífico submetido a um modelo de dor crônica em camundongos.

O protocolo do experimento 4 foi semelhante ao experimento 3. Assim, no 28º dia de convívio o animal CNC ou CS, recebeu injeção bilateral intra-amígdala de veículo ou ondansetron (0,3 nmol/0,1µl), seguido de injeção bilateral intra-amígdala de veículo ou canabidiol (30 nmol/0,1µl), e após três minutos do último tratamento, recebeu injeção de ácido acético (0,6%, s.c.) e após o início das contorções foi submetido ao teste de contorções abdominais para avaliação da nocicepção.

Ao final do experimento, os animais com constrição do nervo ciático ou não, constritos e Sham, foram submetidos ao teste da placa quente para confirmação da hiperalgesia induzida pelo procedimento cirúrgico.

Na figura 3, observamos o delineamento experimental do experimento 5 e na tabela 7 observamos os grupos experimentais formados.

Tabela 7: Grupos formados no Experimento 5

Tratamento (nmol/0,1µL)	Constrição nervo ciático		Teste de contorções abdominais (observadores)	
	Sham	Constritos	CS	CNC
Veículo – Veículo	n= 06	n= 06	n= 06	n= 06
Veículo – Canabidiol 30	n= 07	n= 08	n= 07	n= 08
Ondansetron 0,3 – Veículo	n= 07	n= 08	n= 07	n= 08
Ondansetron 0,3 – Canabidiol 30	n= 07	n= 07	n= 07	n= 07

Os números representam o total de camundongos utilizados por grupo. Os animais sham e constritos não receberam tratamento farmacológico. Constritos= camundongos com constrição no nervo ciático; Sham= camundongo sem constrição do nervo ciático; CNC= observador do camundongo com constrição do nervo ciático; CS= observador do camundongo sem constrição do nervo ciático.

3.10. ANALÍSE ESTATÍSTICA

Inicialmente todos os dados foram submetidos ao teste de homogeneidade de variância de Levene. Os dados do experimento 1A foram analisados pela análise de variância (ANOVA) de dois fatores (Fator 1: convívio e Fator 2: hemisfério). Os dados dos experimentos 1 (B e C), 2 e 4, foram analisados pela análise de variância (ANOVA) de dois fatores (Fator 1: convívio e Fator 2: tratamento). Os dados dos experimentos 3 e 5 foram analisados pela análise de

variância (ANOVA) de três fatores (Fator 1: convívio, Fator 2: pré-tratamento e Fator 3: tratamento). Posteriormente, casos de significância foram analisados pelo teste de comparações múltiplas de Duncan. Os dados da placa quente foram analisados pelo teste t de Student.

Valores de p menor ou igual a 0,05 foram considerados como significativos.

4. RESULTADOS

4.1. Placa quente: Mensuração da eficácia do procedimento cirúrgico em animais submetidos a constrição do nervo ciático

Para avaliar a eficácia do procedimento cirúrgico em animais submetidos à constrição do nervo ciático realizamos o teste da placa quente. Para este procedimento foram utilizados 168 animais sham e 168 animais constritos, totalizando 336 animais. O teste t de Student revelou diminuição da latência de retirada da pata traseira direita ao estímulo térmico nos animais constritos em cada experimento: Experimento 1A [$t_{(13)} = 9,21$, $p < 0,001$], Experimento 1B [$t_{(77)} = 17,65$, $p < 0,001$], Experimento 1C [$t_{(49)} = 12,46$, $p < 0,001$], Experimento 2 [$t_{(48)} = 11,19$, $p < 0,001$], Experimento 3 [$t_{(63)} = 10,40$, $p < 0,001$], Experimento 4 [$t_{(18)} = 6,84$, $p < 0,001$], Experimento 5 [$t_{(54)} = 10,90$, $p < 0,001$], comparados aos animais sham, confirmando a hipernocicepção induzida pela cirurgia de constrição do nervo ciático (Tabela 8).

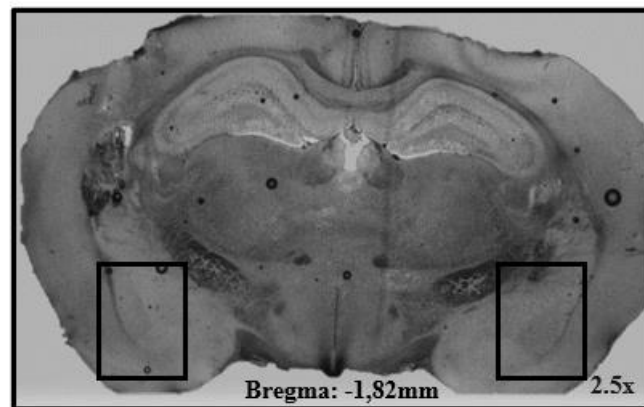
Tabela 8. Latência de retirada da pata traseira direita nos animais Sham e constritos avaliados no teste de placa quente no 28º dia após o térmico do teste de contorções abdominais nos grupos CNC e CS. Os valores representam a média \pm erro padrão da média (n=5-12 de acordo com cada experimento). * $p < 0,05$ comparado ao grupo controle (Sham). Constritos= camundongos com constrição no nervo ciático, Sham=camundongos sem constrição do nervo ciático

Grupos experimentais	Latência de retirada da pata (s)	
	Sham	Constrito
Experimento 1A	21,71 \pm 1,49	8,87 \pm 0,83*
Experimento 1B	20,87 \pm 0,42	10,29 \pm 0,41*
Experimento 1C	23,04 \pm 0,59	12,19 \pm 0,63*
Experimento 2	20,04 \pm 0,72	9,72 \pm 0,63*
Experimento 3	21,12 \pm 0,63	11,31 \pm 0,71*
Experimento 4	19,80 \pm 1,21	9,40 \pm 0,92*
Experimento 5	20,85 \pm 0,81	9,58 \pm 0,66*

4.2. Experimento 1A. Quantificação dos receptores 5-HT₃ nos hemisférios direito e esquerdo da amígdala basolateral na empatia promovida pela nocicepção induzida pela convivência com o coespecífico submetido a um modelo de dor crônica em camundongos.

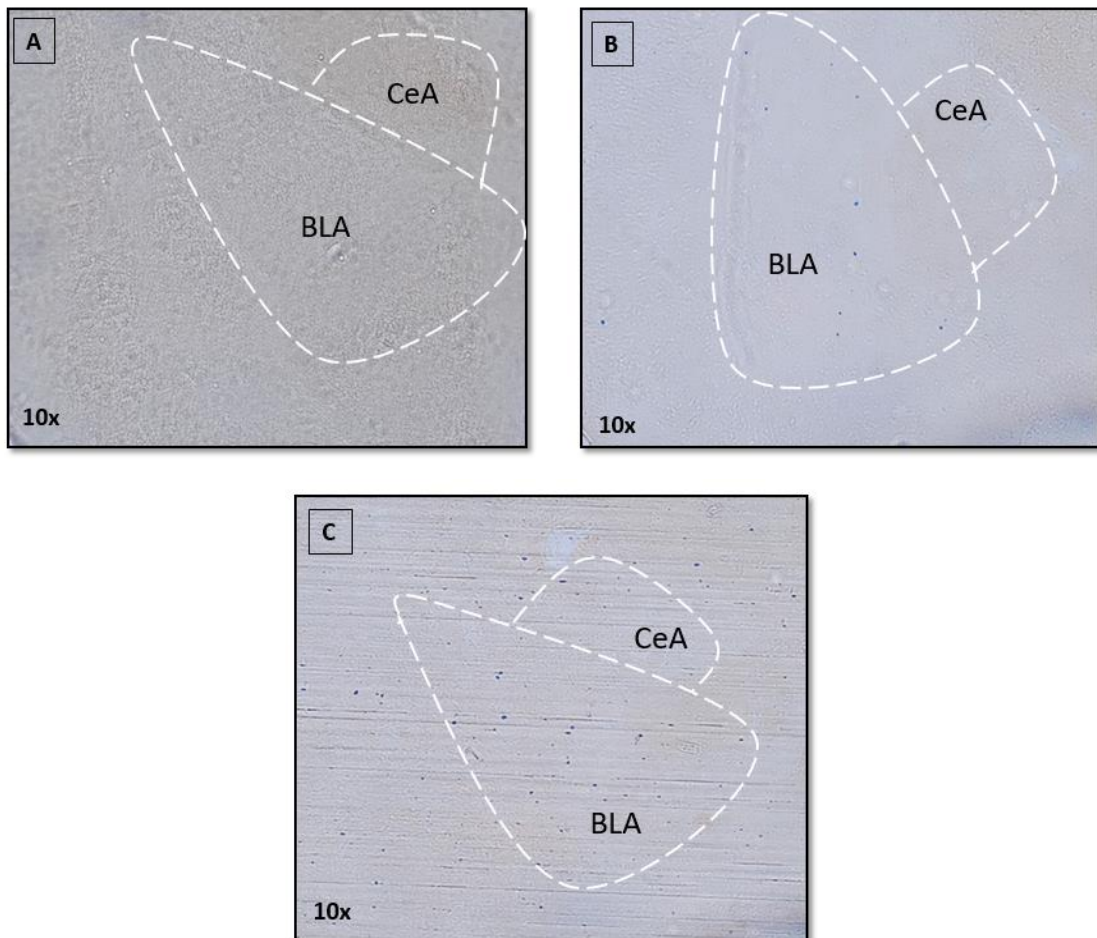
Para o experimento 1A foram utilizados 15 animais (8 animais que conviveram com o coespecífico constrito e 7 animais que conviveram com o coespecífico Sham), para investigar a expressão dos receptores 5-HT₃ da amígdala. A Figura 4 mostra um corte representativo do encéfalo, indicando o complexo amigdalóide, onde foram quantificadas as células positivas para 5-HT₃. A Figura 5 A, B e C demonstra três cortes representativos da amígdala indicando os núcleos basolateral e central de camundongos que conviveram com coespecífico constrito ou sham, respectivamente, onde foram quantificadas as células positivas para o receptor 5-HT₃.

Figura 4: Corte representativo do encéfalo, indicando o complexo amigdalóide dentro dos retângulos pretos



Fonte: o próprio autor (2020)

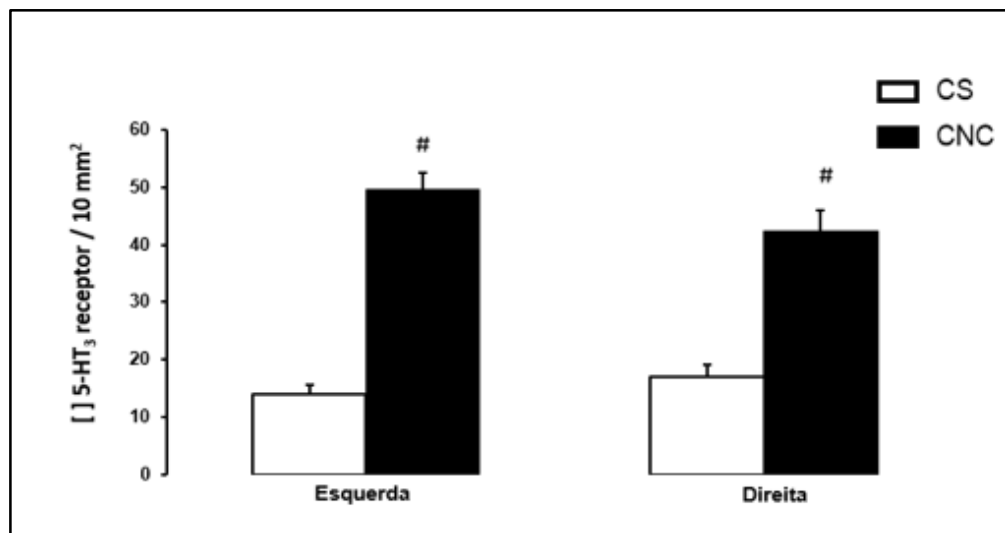
Figura 5: Corte representativo dos núcleos basolateral (BLA) e central (CeA) da amígdala de camundongos, onde foram quantificadas a expressão dos receptores 5-HT₃, sendo (A) Controle negativo sem incubação com anticorpo primário (Bregma: -1.82mm), (B) coespecífico sham (Bregma: -1.06mm) e (C) coespecífico CNC (Bregma: -1.46mm)



Fonte: o próprio autor (2020)

A quantificação dos receptores 5-HT₃ (mm²) nos hemisférios direito e esquerdo da amígdala basolateral de camundongos expostos ao teste de contorções abdominais após convívio com coespecíficos submetido a constrição do nervo ciático (constrito) ou não (Sham) é demonstrada abaixo na Figura 15. A ANOVA de duas vias revelou diferenças significativas na marcação de células positivas para 5-HT₃ para o fator convívio [F (1,26) = 123,17; p<0,05] e ausência de efeitos para o fator hemisfério [F (1,26) = 0,60; p>0,05] e interação convívio x hemisfério [F (1,26) = 3,41; p>0,05]. O teste de Duncan mostrou que os animais que conviveram com o coespecífico constrito apresentaram aumento da expressão de receptores 5-HT₃ em comparação com o respectivo coespecífico sham (Figura 6).

Figura 6: Expressão dos receptor 5-HT₃ no núcleo basolateral da amígdala de camundongos que conviveram com coespecíficos constritos ou Sham submetidos ao teste de contorções abdominais. #P<0,05 comparado ao CS (n=7-8). CNC= observador do camundongo com constrição do nervo ciático; CS= observador do camundongo sem constrição do nervo ciático.

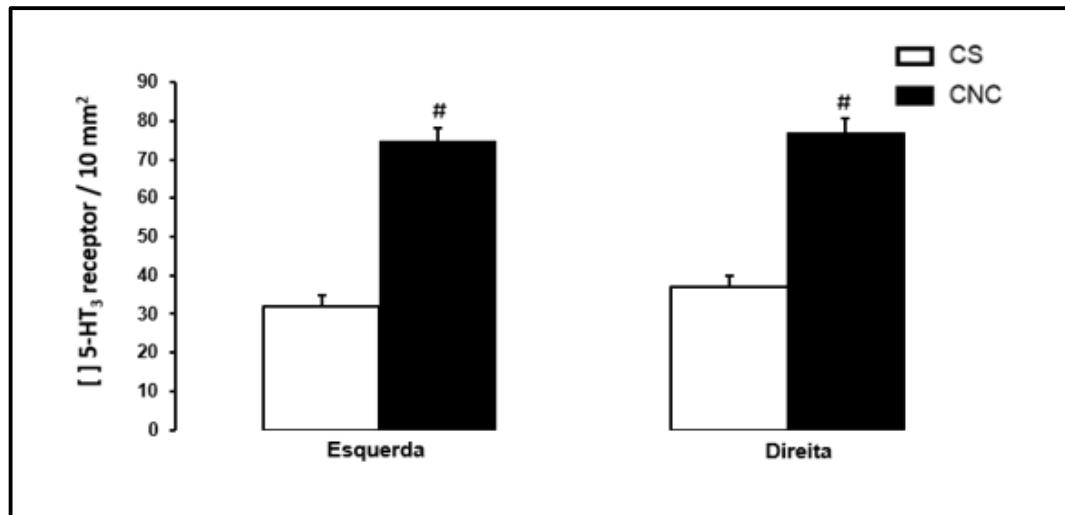


4.3. Experimento 1A. Quantificação dos receptores 5-HT₃ nos hemisférios direito e esquerdo da amígdala central na empatia promovida pela nociceção induzida pela convivência com o coespecífico submetido a um modelo de dor crônica em camundongos.

A quantificação dos receptores 5-HT₃ (mm²) nos hemisférios direito e esquerdo da amígdala central de camundongos expostos ao teste de contorções abdominais após convívio com coespecíficos submetido a constrição do nervo ciático (CNC) ou não (Sham) é demonstrada abaixo na Figura 16. A ANOVA de duas vias revelou diferenças significativas na marcação de células positivas para 5-HT₃ para o fator convívio [F (1,26) = 152,96]; p<0,05 e ausência de efeitos para o fator hemisfério [F (1,26) = 1,15; p>0,05] e interação convívio x hemisfério [F (1,26) = 0,69]; p>0,05). O teste de Duncan mostrou que os animais que

conviveram com o coespecífico CNC apresentaram aumento da expressão de receptores 5-HT₃ no núcleo central em comparação com o respectivo coespecífico sham (Figura 7).

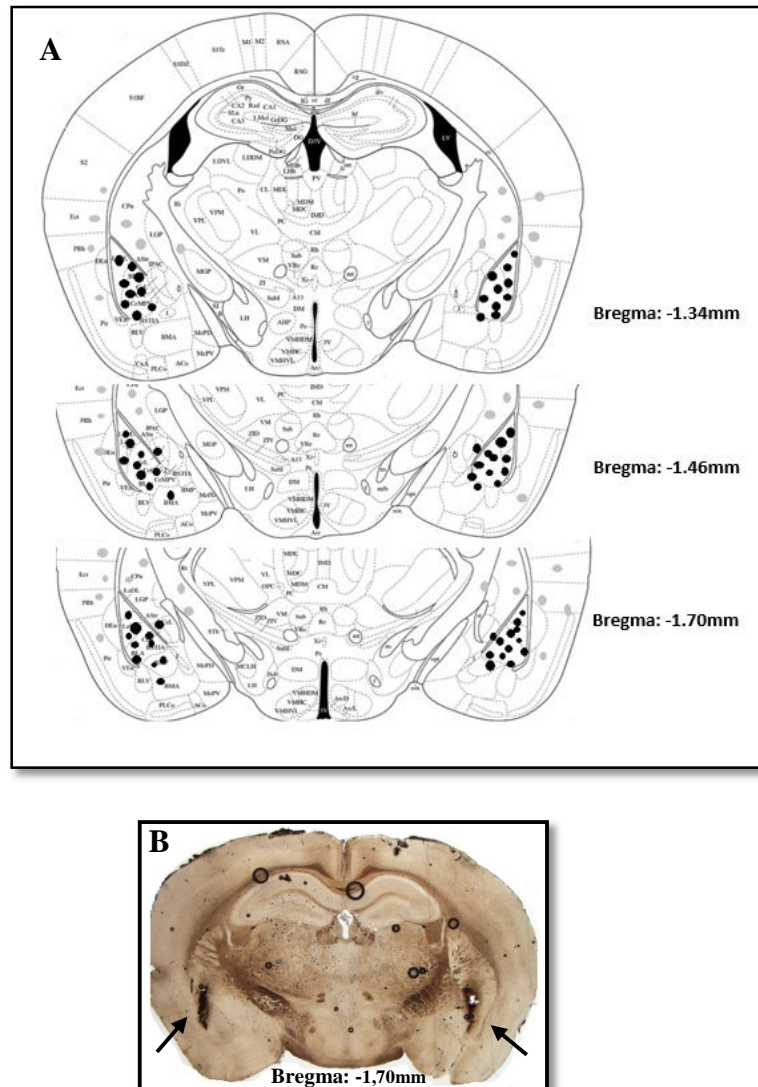
Figura 7: Células positivas para o receptor 5-HT₃ no núcleo central da amígdala de camundongos que conviveram com coespecíficos constrictos ou Sham submetidos ao teste de contorções abdominais. #p<0,05 comparado ao coespecífico CS (n=7-8). #P<0,05 comparado ao CS (n=7-8). CNC= observador do camundongo com constrição do nervo ciático; CS= observador do camundongo sem constrição do nervo ciático.



4.4. Resultados Histológicos

As análises histológicas confirmaram que 321 camundongos receberam a implantação das cânulas bilateralmente na amígdala para a realização dos Experimentos 1B a 5 (Fig. 8A e 8B). Os grupos experimentais, com os seus respectivos tratamentos podem ser observados nas tabelas 2 a 7.

Figura 8: (A) Esquema de seções coronais representando alguns dos sítios de injeção na amígdala de camundongos. As marcas em cinza representam o sítio de infusão da droga (PAXINOS; FRANKLIN, 2001). (B) Fotomicrografia de uma seção coronal de um sujeito representativo mostrando um sítio de injeção na amígdala de um camundongo.



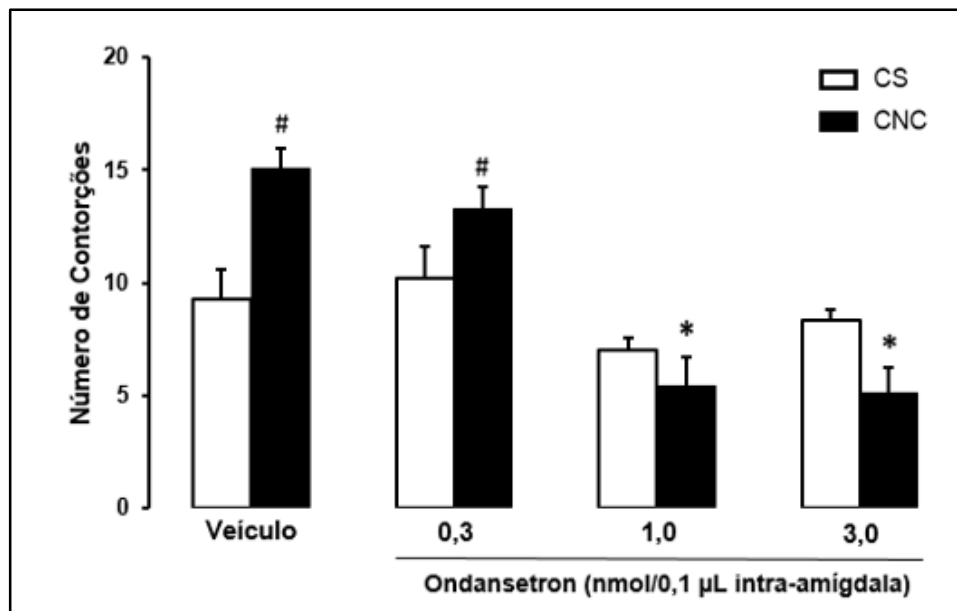
Fonte: o próprio autor (2020)

4.5. Experimento 1B. Efeito do tratamento intra-amígdala com ondansetron na empatia promovida pela nociceção induzida pela convivência com o coespecífico submetido a um modelo de dor crônica em camundongos.

A ANOVA de dois fatores (convívio x tratamento) revelou efeitos significativos para o fator convívio [$F(1,71) = 4,12; p < 0,05$], tratamento [$F(3,71) = 23,63; p < 0,05$] e para interação entre convívio e tratamento [$F(3,71) = 10,04; p < 0,05$]. O teste de Duncan revelou aumento no número de contorções abdominais nos animais CNC/veículo e CNC/ondansetron 0,3 nmol, que conviveram com os coespecíficos constritos, quando comparados respectivamente com animais

CS/veículo e CS/ondansetron 0,3 nmol, que conviveram com o coespecífico Sham. As doses mais altas de ondansetron (1,0 e 3,0 nmol) diminuíram o número de contorções nos animais CNC comparados com o respectivo controle (CNC/veículo). Nenhuma das doses de ondansetron interferiu com o número de contorções nos animais CS comparados ao controle CS/veículo, e que conviveram com coespecíficos sham (Figura 9).

Figura 9: Efeitos da injeção bilateral intra-amígdala de veículo ou ondansetron (0,3, 1,0 ou 3,0 nmol/0,1µl) sobre a nocicepção em camundongos que conviveram com coespecífico submetido à cirurgia de constrição do nervo ciático (grupo constricto) ou não (grupo Sham). As barras representam os valores das médias e o erro padrão da média (M+EPM) do número de contorções abdominais em camundongos alojados em duplas nos grupos CS e CNC (n=8-12). #P<0,05 comparado ao respectivo CS. *P<0,05 comparado ao CNC/veículo. CNC= observador do camundongo com constrição do nervo ciático; CS= observador do camundongo sem constrição do nervo ciático.

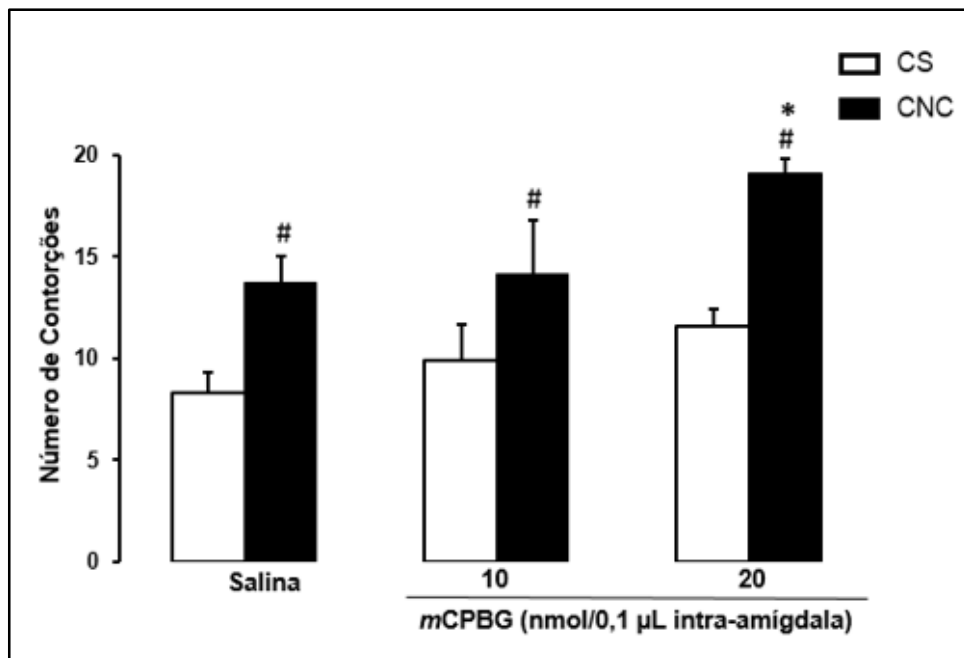


4.6. Experimento 1C. Efeito do tratamento intra-amígdala com *m*CPBG na empatia promovida pela nocicepção induzida pela convivência com o coespecífico submetido a um modelo de dor crônica em camundongos.

A ANOVA de dois fatores (convívio x tratamento) revelou efeitos significativos para o fator convívio [$F(1,46) = 27,47$; $p < 0,05$] e tratamento [$F(2,46) = 5,78$; $p < 0,05$], e ausência de efeito para a interação entre convívio e tratamento [$F(2,46) = 0,73$; $p > 0,05$]. O teste de Duncan foi realizado mesmo com a ausência de interação entre convívio e tratamento, para verificar as principais diferenças entre os grupos e revelou aumento no número de contorções nos animais CNC/salina, CNC/*m*CPBG (10 nmol), CNC/*m*CPBG (20 nmol), quando comparados com os respectivos animais CS/salina, CS/*m*CPBG (10 nmol), CS/*m*CPBG (20 nmol), que conviveram

com os coespecíficos sham. Entretanto, só a dose de *mCPBG* (20 nmol) aumentou o número de contorções no grupo CNC (animais que conviveram com o coespecífico constricto) em comparação ao seu controle (CNC/salina). Nenhuma das doses de *mCPBG* interferiu com o número de contorções nos animais CS/*mCPBG* 10 e CS/*mCPBG* 20 que conviveram com o coespecífico sham, quando comparados ao controle (CS/salina) (Figura 10).

Figura 10: Efeitos da injeção bilateral intra-amígdala de salina ou *mCPBG* (10 ou 20 nmol/0,1µl) sobre a nocicepção em camundongos que conviveram com o coespecífico submetido à cirurgia de constrição do nervo ciático (grupo constricto) ou não (grupo Sham). As barras representam os valores das médias e o erro padrão da média (M+EPM) do número de contorções abdominais em camundongos alojados em duplas nos grupos CS e CNC (n=8-10). #P<0,05 comparado ao respectivo CS. *P<0,05 comparado ao CNC/salina. CNC= observador do camundongo com constrição do nervo ciático; CS= observador do camundongo sem constrição do nervo ciático.

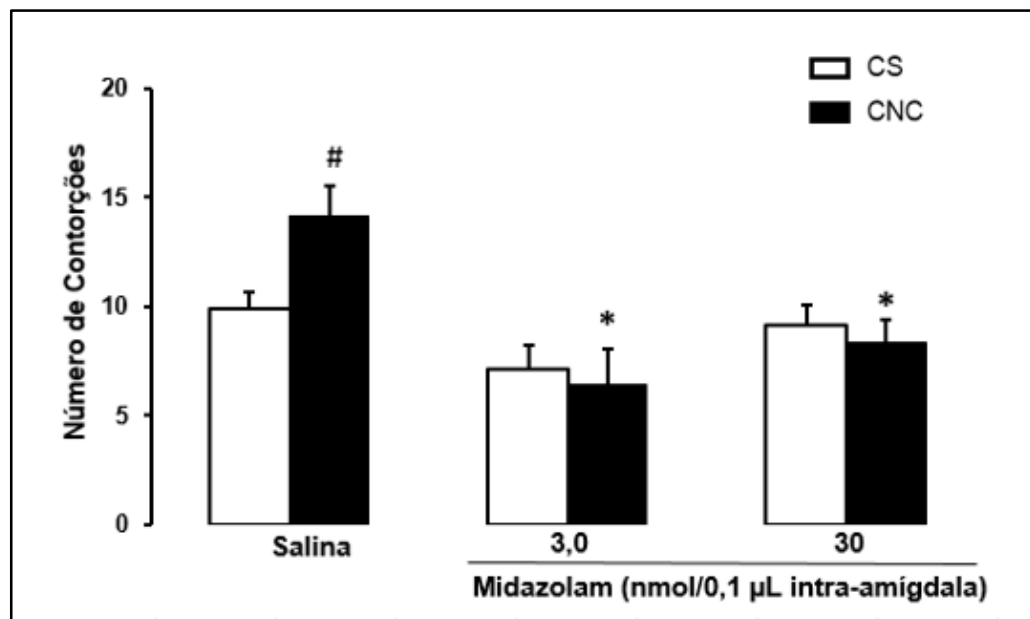


4.7. Experimento 2. Efeito da injeção intra-amígdala de midazolam na empatia promovida pela nocicepção induzida pela convivência com o coespecífico submetido a um modelo de dor crônica em camundongos.

A ANOVA de duas vias (convívio x tratamento) revelou efeitos significativos para o fator convívio [$F(1,44) = 4,35$; $p < 0,05$], tratamento [$F(2,44) = 14,11$; $p < 0,05$] e interação entre o convívio e tratamento [$F(2,44) = 9,46$; $p < 0,05$]. O teste de Duncan revelou aumento no número de contorções nos animais CNC/salina que conviveram com os coespecíficos constrictos, quando comparados com animais CS/salina, que conviveram com o coespecífico Sham. O post hoc também revelou que ambas as doses de midazolam (3,0 ou 30,0 nmol) diminuiriam o número de contorções nos animais CNC/3,0 e CNC/30 em comparação com o

respectivo CNC/salina. Nenhuma das doses de midazolam interferiu com o número de contorções nos animais CS/midazolam 3,0 e CS/midazolam 30 e que conviveram com o respectivo coespecífico controle (CS/salina) (Figura 11).

Figura 11: Efeitos da injeção bilateral intra-amígdala de salina ou midazolam (3,0 ou 30 nmol/0,1 μ l) sobre a nocicepção em camundongos que conviveram com o coespecífico submetido à cirurgia de constrição do nervo ciático (grupo constricto) ou não (grupo Sham). As barras representam os valores das médias e o erro padrão da média (M+EPM) do número de contorções abdominais em camundongos alojados em duplas nos grupos CS e CNC (n=7-10). #P<0,05 comparado ao respectivo CS. *P<0,05 comparado ao CNC/salina. CNC= observador do camundongo com constrição do nervo ciático; CS= observador do camundongo sem constrição do nervo ciático.

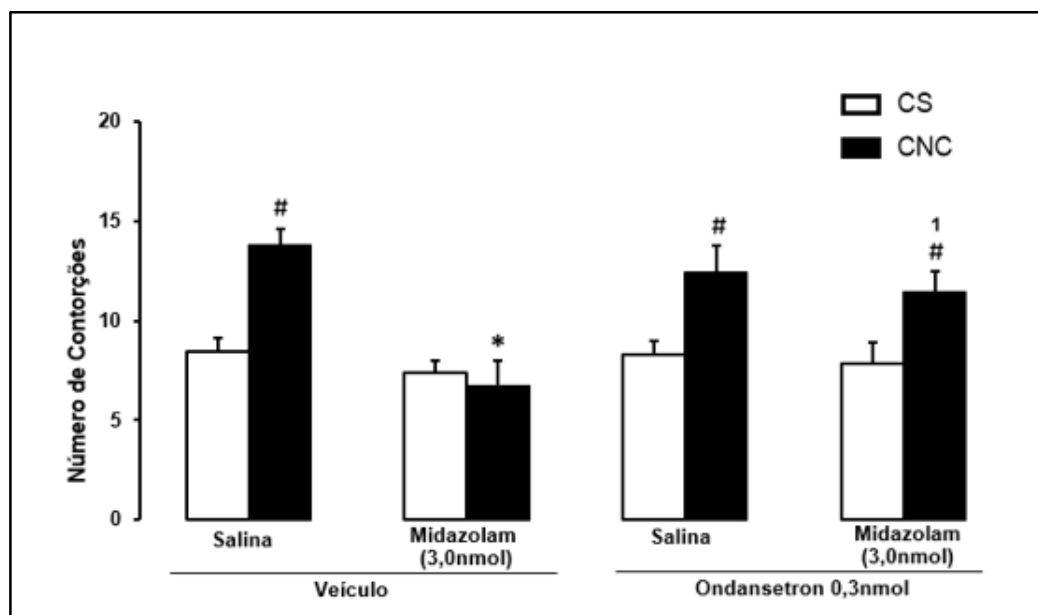


4.8. Experimento 3. Efeito das injeções bilaterais intra-amígdala de ondansetron combinadas com midazolam, na empatia promovida pela nocicepção induzida pela convivência com o coespecífico submetido a um modelo de dor crônica em camundongos.

A ANOVA de três fatores (convívio x pré-tratamento x tratamento) revelou efeitos significativos para o convívio [$F(1,57) = 21,56$; $p < 0,05$], tratamento [$F(1,57) = 12,77$; $p < 0,05$] e interação entre pré-tratamento x tratamento [$F(1,57) = 6,09$; $p < 0,05$], convívio x pré-tratamento x tratamento [$F(1,57) = 4,09$; $p < 0,05$] (Figura 21). O teste de Duncan revelou aumento no número de contorções nos animais CNC/veículo/salina, CNC/ondansetron/salina e CNC/ondansetron/midazolam, quando comparados, respectivamente, com os animais CS/veículo/salina, CS/ondansetron/salina e CS/ondansetron/midazolam. O post hoc também revelou que o tratamento com midazolam (3,0 nmol) diminuiu o número de contorções nos animais CNC/veículo/midazolam em comparação com o respectivo CNC/veículo/salina. O tratamento intra-amígdala com ondansetron (0,3 nmol), por si só não alterou o número de

contorções nos animais CNC/ondansetron/salina, em comparação com o respectivo CNC/veículo/salina. O post hoc também mostrou que o pré-tratamento com ondansetron reverteu o efeito antinociceptivo produzido pelo midazolam nos camundongos CNC/ondansetron/midazolam, comparados com os animais CNC/veículo/midazolam. Nenhuma das combinadas de ondansetron e midazolam interferiu com o número de contorções nos animais CS comparados ao controle CS/veículo/salina (Figura 12)

Figura 12: Efeitos das injeções combinadas bilaterais intra-amígdala de veículo ou ondansetron (0,3 nmol/0,1µl) seguida de intra-amígdala de salina ou midazolam (3,0 nmol/0,1µl) sobre a nocicepção em camundongos que conviveram com o coespecífico submetido à cirurgia de constrição do nervo ciático (grupo constricto) ou não (grupo Sham). As barras representam os valores das médias e o erro padrão da media (M+EPM) do número de contorções abdominais em camundongos alojados em duplas nos grupos CS e CNC (n=7-9). #P<0,05 comparado ao respectivo CS. *P<0,05 comparado ao CNC/salina. ¹P<0,05 comparado ao CNC/veículo-midazolam. CNC= observador do camundongo com constrição do nervo ciático; CS= observador do camundongo sem constrição do nervo ciático.

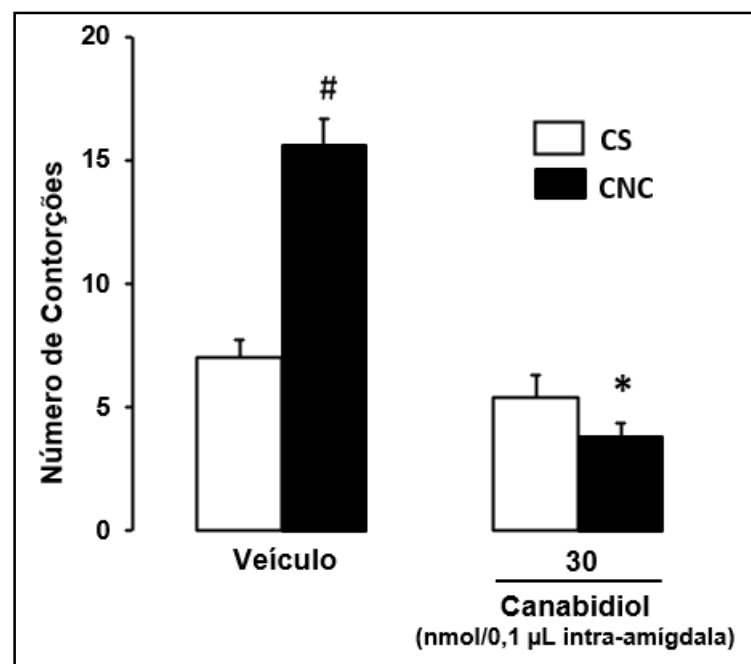


4.9. Experimento 4. Efeito da injeção intra-amígdala de canabidiol na empatia promovida pela nocicepção induzida pela convivência com o coespecífico submetido a um modelo de dor crônica em camundongos.

A ANOVA de duas vias (convívio x tratamento) revelou efeitos significativos para o fator convívio [F (1,16) = 18,25; p < 0,05], tratamento [F (1,16) = 65,12; p < 0,05] e interação entre o convívio e tratamento [F (1,16) = 38,08; p < 0,05] O teste de Duncan revelou aumento no número de contorções nos animais CNC/veículo que conviveram com os coespecíficos constrictos, quando comparados com animais CS/veículo, que conviveram com o coespecífico

Sham. O post hoc também revelou diminuição do número de contorções nos animais CNC/canabidiol 30, em comparação com os animais CNC/veículo. A dose de 30 nmol de canabidiol não interferiu com o número de contorções nos animais CS/canabidiol 30, em comparação com os animais CS/veículo. (Figura 13).

Figura 13: Efeitos da injeção bilateral intra-amígdala de veículo ou canabidiol (30 nmol/0,1 µl) sobre a nocicepção em camundongos que conviveram com o coespecífico submetido à cirurgia de constrição do nervo ciático (grupo constrito) ou não (grupo Sham). As barras representam os valores das médias e o erro padrão da média (M+EPM) do número de contorções abdominais em camundongos alojados em duplas nos grupos CS e CNC (n= 5 por grupo). #P<0,05 comparado ao respectivo CS. *P<0,05 comparado ao CNC/veículo. CNC= observador do camundongo com constrição do nervo ciático; CS= observador do camundongo sem constrição do nervo ciático.

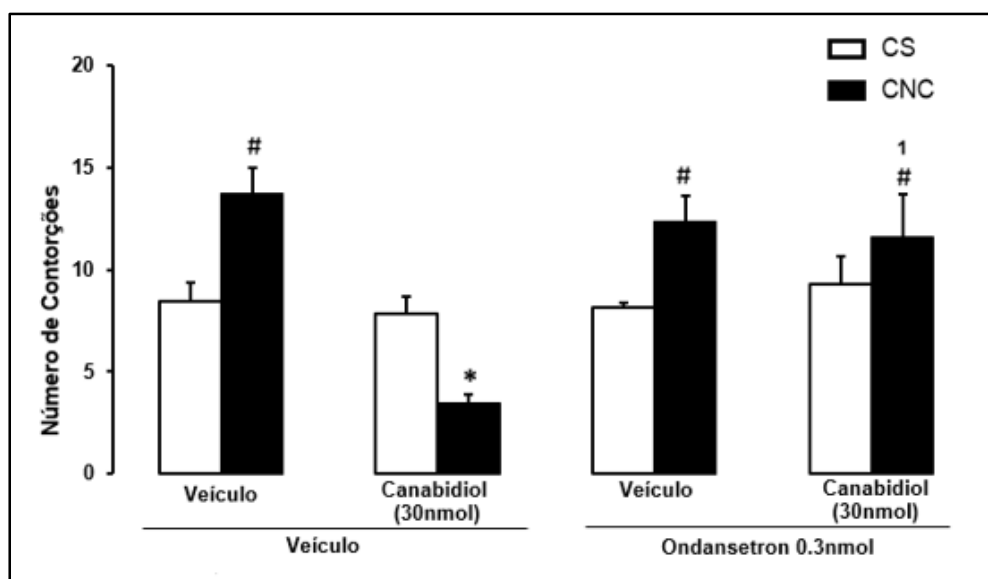


4.10. Experimento 5. Efeito das injeções bilaterais intra-amígdala de ondansetron combinadas com canabidiol, na empatia promovida pela nocicepção induzida pela convivência com o coespecífico submetido a um modelo de dor crônica em camundongos.

A ANOVA de três fatores (convívio x pré-tratamento x tratamento) revelou efeitos significativos para o convívio [$F(1,48) = 12,25$; $p < 0,05$], tratamento [$F(1,48) = 16,50$; $p < 0,05$], interação entre pré-tratamento x tratamento [$F(1,48) = 9,18$; $p < 0,05$], interação entre convívio x tratamento [$F(1,48) = 10,74$; $p < 0,05$] e interação entre convívio x pré-tratamento x tratamento [$F(1,48) = 10,96$; $p < 0,05$]. Ausência de efeitos foi observado para o fator pré-tratamento [$F(1,48) = 3,61$; $p < 0,05$] e para a interação entre convívio e pré-tratamento [$F(1,48) = 3,61$; $p < 0,05$].

(1,48) = 3,23; $p < 0,05$]. O teste de Duncan revelou aumento no número de contorções nos animais CNC/veículo/veículo, CNC/ondansetron/veículo e CNC/ondansetron/canabidiol, quando comparados com os animais CS/veículo/veículo, CS/ondansetron/veículo, CS/ondansetron/canabidiol, respectivamente. O post hoc também revelou que o tratamento com canabidiol (30 nmol) diminuiu o número de contorções nos animais CNC/veículo/canabidiol que conviveram com o coespecífico constricto, em comparação com o respectivo CNC/veículo/veículo. A injeção intra-amígdala de ondansetron (0,3 nmol), por si só não alterou o número de contorções nos animais CNC/ondansetron/veículo que conviveram com o coespecífico constricto, quando comparados ao respectivo controle (CNC/veículo/veículo). O post hoc também mostrou que o pré-tratamento com ondansetron aboliu o efeito antinociceptivo do canabidiol nos camundongos CNC/ondansetron/canabidiol, após o convívio com o coespecífico constricto, quando comparados ao respectivo CNC/veículo/canabidiol. Nenhuma das combinações de ondansetron e canabidiol interferiu com o número de contorções nos animais CS comparados ao controle CS/veículo/veículo. (Figura 14).

Figura 14: Efeitos das injeções combinadas bilaterais intra-amígdala de veículo ou ondansetron (0,3 nmol/0,1 μ l) seguida de intra-amígdala de veículo ou canabidiol (30 nmol/0,1 μ l) sobre a nocicepção em camundongos que conviveram com o coespecífico submetido à cirurgia de constrição do nervo ciático (grupo constricto) ou não (grupo Sham). As barras representam os valores das médias e o erro padrão da média (M+EPM) do número de contorções abdominais em camundongos alojados em duplas nos grupos CS e CNC (n=6-8). # $P < 0,05$ comparado ao respectivo CS. * $P < 0,05$ comparado ao CNC/salina.¹ $P < 0,05$ comparado ao CNC/Veículo-Canabidiol. CNC= observador do camundongo com constrição do nervo ciático; CS= observador do camundongo sem constrição do nervo ciático.



5. DISCUSSÃO

O presente estudo teve como objetivo avaliar o papel do sistema serotoninérgico, através da expressão de receptores 5-HT₃, ativação e antagonismo do receptor 5-HT₃, sendo este o receptor de serotonina amplamente envolvido na modulação dos processos nociceptivos; o envolvimento da neurotransmissão GABAérgica, através da ligação do agonista midazolam ao sítio GABA_A-Benzodiazepínico; e da modulação endocanabinoide, através do fitocanabinoide canabidiol da amígdala na modulação social da nocicepção, bem como investigar se esses sistemas interagem entre si na hipernocicepção induzida pelo convívio com coespecífico em dor crônica.

Para acessar estas neurotransmissões esta pesquisa compreendeu a realização de cinco experimentos e os resultados mostraram que: a) O convívio com o coespecífico em dor crônica promoveu aumento da expressão dos receptores 5-HT₃ no núcleo basolateral e central da amígdala (Experimento 1A); b) As administrações intra-amígdala de ondansetron (antagonista dos receptores 5-HT₃) e de *m*CPBG (agonista dos receptores 5-HT₃), atenuaram (Experimento 1B) e acentuaram (Experimento 1C) a nocicepção nos animais que conviveram com coespecífico constricto; c) As administrações intra-amígdala de midazolam (agonista GABA_A-Benzodiazepínico) e canabidiol (fitocanabinoide), diminuíram o número de contorções abdominais nos animais que conviveram com o parceiro em dor crônica (Experimentos 2 e 4); d) As administrações intra-amígdala de ondansetron combinadas com midazolam ou canabidiol, reverteram o efeito antinociceptivo produzido pelo midazolam ou canabidiol, respectivamente, nos animais que conviveram com o coespecífico constricto (Experimentos 3 e 5).

Os resultados dos cinco experimentos realizados demonstraram que o convívio com um coespecífico em condição de dor crônica produz hipernocicepção, que foi registrada pelo aumento do número de contorções abdominais no dia do teste (28º dia de convívio). Langford et al. (2006) sugerem que a observação de um coespecífico em dor leva a sensibilização das vias da dor, induzindo um chamado “state of priming” no cérebro, onde um estímulo nocivo aplicado após determinada situação emocional anterior (*priming*) leva à exacerbação da experiência dolorosa subsequente. Assim, sugerimos que a convivência de 14 dias para o estabelecimento da familiaridade entre os animais (LANGFORD et al., 2006), mais os outros 14 dias de convívio observando o coespecífico com dor crônica foram capazes de sensibilizar as vias nociceptivas, através da ativação dos circuitos de representatividade neural (neurônios espelhos) da dor no camundongo observador. E, dessa forma, quando o animal foi submetido a uma situação dolorosa (teste de contorções abdominais), a sensação nociceptiva foi exacerbada.

Recentes estudos de empatia (SMITH et al. 2017; WALCOTT et al., 2018; LUO et al., 2020) e empatia relacionada a nocicepção em modelos animais já foram descritos anteriormente (BARTAL et al., 2011; LU et al., 2017; UENO et al., 2018), assim como outros estudos que investigaram a modulação social da nocicepção em camundongos (LANGFORD et al., 2006; 2011; MARTIN et al., 2015; BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2015; ZANIBONI et al., 2018). Evidências da transmissão da nocicepção, acarretando na hipernocicepção após o convívio entre camundongos coespecíficos já foram descritos (LANGFORD et al. 2006; BAPTISTA-DE-SOUZA et al. 2015; ZANIBONI et al., 2018) e consideraram a convivência por um período de tempo como sendo necessário para estabelecimento de familiaridade. Portanto, os resultados deste estudo corroboram com os achados da literatura e confirmam a necessidade de familiaridade entre os animais coespecíficos para que o efeito hipernociceptivo seja observado (LANGFORD et al., 2006; BARTAL et al., 2011; BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2015; ZANIBONI et al., 2018).

O convívio com um parceiro em quadro de dor crônica desencadeia além da hipernocicepção, aumento dos comportamentos relacionados à ansiedade, avaliados no labirinto em cruz elevado (LCE) (BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2015; CARMONA et al., 2016; CEZAR et al., 2020), demonstrando assim que o convívio é importante para o estabelecimento das alterações comportamentais decorrentes da empatia pela nocicepção.

A modulação social da nocicepção, ou seja, o contágio emocional entre a dupla depende principalmente da familiaridade estabelecida entre os animais (SMITH et al., 2016). E sabe-se que este convívio entre animais que estão alojados por várias semanas na mesma caixa moradia que coespecíficos submetidos a lesão de nervo ciático acarreta em respostas exacerbadas de nocicepção no teste de contorções induzido por ácido acético (BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2015). Esse comportamento pode representar uma forma de hipernocicepção induzida pelo estresse (JENNINGS et al., 2014), pois como citado acima, os coespecíficos apresentam alterações nas respostas comportamentais avaliadas no LCE.

A partir desses achados, algumas evidências demonstraram que o estresse também pode modular a nocicepção através da atenuação ou acentuação (COSTA et al., 2004; TRAMULLAS et al., 2012). Assim, com o objetivo de verificar se o estresse seria capaz de alterar a resposta nociceptiva em coespecíficos, estudos do nosso grupo de pesquisa observaram aumento da nocicepção e de comportamentos relacionados à ansiedade em camundongos que conviveram com um par submetido à um protocolo de 14 dias de estresse crônico de contenção (CARNEIRO-DE-OLIVEIRA et al., 2017; SILVEIRA et al., 2018).

Eventos estressantes promovem ativação do eixo HPA (Hipotalâmico–Pituitária–Adrenal) e este produz e libera corticosterona, hormônio do estresse em animais (BUCHANAN et al., 2012; LIU et al., 2013; SMITH et al., 2016). A hipernocicepção observada após convívio por 14 dias com o parceiro com dor crônica pode ser resultante de alterações no eixo HPA, promovidas pelo estresse social. Contudo, resultados em camundongos, demonstraram não haver diferença nos níveis de corticosterona, após o convívio com coespecífico em dor crônica por 28 dias (BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2015), protocolo igual ao utilizado neste estudo.

Neste sentido, para determinar se o eixo HPA foi ativado durante a hipernocicepção induzida pelo convívio, estudo anterior examinou os níveis plasmáticos de corticosterona em camundongos, em diferentes momentos durante o convívio. Os animais observadores foram alojados na mesma sala que os animais submetidos a dor inflamatória ou a retirada da morfina ou álcool, e posteriormente testados na presença destes animais; e 7 e 21 dias após o convívio foi observado que não ocorreram diferenças nos níveis plasmáticos de corticosterona comparado com os animais que não conviveram na mesma sala e foram testados em salas diferentes (SMITH et al., 2016). Os autores sugerem que a ativação do eixo HPA não é o principal mecanismo subjacente a hipernocicepção encontrada no camundongo que conviveu com coespecífico em dor crônica. Consequentemente, no intuito de verificar se níveis elevados de corticosterona são necessários para a expressão da hipernocicepção, um inibidor de corticosterona (metirapona, 50 mg/kg) foi administrado em camundongos antes da sessão dos testes de Von Frey, retirada da cauda e formalina na pata, para avaliação dos diferentes tipos de nocicepção, mecânica, térmica e química, respectivamente. A inibição da corticosterona não apresentou efeito sobre o limiar nociceptivo em nenhum grupo durante as sessões de testes, sugerindo que o efeito hipernociceptivo observado não é induzido ou dependente do estresse (SMITH et al., 2016).

Diante das evidências acima sugerimos que a hipernocicepção induzida por este modelo de empatia provavelmente não se deva ao aumento de corticosterona, mas sim a um comportamento relacionado ao contágio emocional da dor, considerado um comportamento evolutivo precursor da empatia em roedores (PRESTON; DE WAAL, 2002; BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2015). Assim, sugerimos que os efeitos do contágio emocional entre roedores não podem ser explicados apenas como uma resposta mediada pelo eixo HPA (MARTIN et al., 2015; BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2015; BARTAL et al., 2016).

Conforme descrito anteriormente, a hipernocicepção é caracterizada pela sensibilização dos nociceptores. Assim, durante o processo inflamatório ocorre liberação de eicosanóides, que

sensibilizam diretamente os nociceptores, e são chamados de mediadores hipernociceptivos. Dentre os vários tipos de eicosanóides, estão as prostaglandinas, formadas pela ação da enzima ciclooxigenase (COX). Neste sentido, existem dois subtipos de COX que são responsáveis pela produção de prostaglandinas: A COX-1 e COX-2. A COX-2 tem sua expressão seletivamente aumentada no cérebro após estímulos inflamatórios, como lipopolissacarídeo, interleucinas 1 α e β e fator de necrose tumoral (TNF- α), demonstrando que essa isoforma da COX pode ser responsável por induzir hipernocicepção (CAO et al., 1997; KÖMHOFF et al., 1997; MAJERUS, 1998).

A hipernocicepção também pode ser resultante da ativação de uma via independente de prostaglandinas. Esta via é paralela à liberação de eicosanóides e depende da liberação de aminas simpatomiméticas. A administração intraplantar de agonistas adrenérgicos, como a noradrenalina, adrenalina, isoprenalina, dopamina ou a administração de aminas simpatomiméticas de ação indireta, como a tiramina, induzem hipernocicepção de intensidade similar às prostaglandinas, através da ativação dos receptores dopaminérgicos D1 e β -adrenérgicos (NAKAMURA; FERREIRA, 1987; LORENZETTI et al., 2002).

Assim, diante das evidências acima descritas, não podemos descartar outros mecanismos fisiológicos envolvidos nos processos nociceptivos que levam a hipernocicepção e também a produção de mediadores inflamatórios, podendo estar relacionados indiretamente com o eixo HPA. Portanto, estudos futuros serão necessários para determinar se em outros modelos de testes nociceptivos, outras condições laboratoriais e em outras linhagens de animais (UENO et al., 2018; WALCOTT et al., 2018), a transferência social da nocicepção também ocorra. Além disso, poucas são as investigações sobre como as alterações comportamentais relacionadas com a modulação social da nocicepção ocorrem e como advém este comportamento pró-social em animais e quais as bases neurais envolvidas neste comportamento justificaram o objetivo deste estudo (SHAMAY-TSOORY, 2011; MARTIN et al., 2015; MOGIL, 2015).

Assim, considerando que indivíduos que sofrem de dores crônicas possuem um desbalanço de neurotransmissores excitatórios como o glutamato e inibitórios como o GABA, em algumas estruturas encefálicas, como a amígdala (WATSON, 2016), e que este desequilíbrio pode também estar presente em sujeitos que convivem com pacientes com dores crônicas, como cuidadores e profissionais da saúde (ZAKI; OCHSNER, 2012; CHIERCHIA; SINGER, 2017), faz-se relevante o estudo destes comportamentos e das vias neurais possivelmente envolvidas neste tipo de comportamento pró-social.

Nesta instabilidade do sistema de neurotransmissores citado acima, o sistema serotoninérgico é considerado um dos principais envolvidos neste desbalanço. A serotonina é um neurotransmissor essencial na modulação da ansiedade e nocicepção (DEAKIN; GRAEFF, 1991; DOGRUL et al., 2009; LIU et al., 2002; NUNES-DE-SOUZA et al., 2008; TAVARES et al., 2018; BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2020) e na fisiopatologia de vários distúrbios psiquiátricos, como autismo e esquizofrenia (ELHWUEGI, 2004; NAKAMURA et al., 2010).

As investigações sobre o envolvimento da serotonina na modulação da resposta nociceptiva quando o animal está sob influência de emoções como, o aumento da ansiedade, foi investigado pelo nosso grupo de pesquisa, demonstrando que situações aversivas, como o confronto social, o confinamento ao braço aberto do LCE, a exposição no teste presa-predador, produzem antinocicepção, enquanto que de acordo com a ligação em diferentes subtipos de receptores serotoninérgicos, fármacos agonistas ou antagonistas, produzem efeitos antinociceptivos, nociceptivos ou ausência de resposta, que pode variar de acordo com a estrutura do SNC investigada (CANTO-DE-SOUZA et al., 1997 e 1998; NUNES-DE-SOUZA et al., 2000; FURUYA-DA-CUNHA et al., 2016; TAVARES et al., 2018; BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2018; BAPTISTA-DE-SOUZA et al., 2020). Desta forma, estes resultados evidenciam o complexo papel da serotonina na modulação de respostas defensivas e de nocicepção, e fortalecem a teoria do papel dual da serotonina proposta por Deakin e Graeff (1991).

A serotonina, além de modular processos nociceptivos agudos, como a antinocicepção induzida pelo medo também é um importante neurotransmissor envolvido nos processos inflamatórios crônicos nos tecidos periféricos, podendo ser liberada a partir de plaquetas, mastócitos ou basófilos que se infiltram em uma área de dano tecidual (ZEITZ, et al., 2002), contribuindo para a dor da lesão tecidual por meio da ação em vários subtipos de receptores serotoninérgicos.

Conforme apresentado acima o sistema serotoninérgico é complexo e modula importantes funções fisiológicas envolvidas com o sistema nervoso periférico e SNC (NIESLER et al., 2003; WALSTAB et al., 2010). Dentre os diferentes subtipos de receptores de serotonina existentes (HOYER et al., 2002; NIESLER et al., 2003; HANNON; HOYER, 2008), os receptores do tipo 5-HT₃ são moduladores bem conhecidos da percepção, indução e manutenção da dor aguda e inflamatória (ZEITZ et al., 2002; MILLAN, 2003) e estão amplamente distribuídos na amígdala (KOYAMA et al., 1999, 2000, 2017).

Assim, considerando o papel dos receptores 5-HT₃ na modulação da nocicepção (WALSTAB et al., 2010), no Experimento 1A investigamos o envolvimento dos receptores 5-HT₃ da amígdala na modulação social da nocicepção devido à relação deste sistema com a percepção da dor e na modulação de processos emocionais (BLANCHARD; MEYZA, 2019). Neste sentido, os resultados demonstraram que o convívio com coespecífico em dor crônica promoveu aumento da expressão dos receptor 5-HT₃ nos núcleos basolaterais e centrais do complexo amigdalóide, sem apresentar diferença significativa na expressão desse subtipo de receptor serotoninérgico entre os hemisférios direito e esquerdo.

Embora evidências já tenham demonstrado a existência da presença da lateralização da amígdala, salientando que o hemisfério direito exerça um papel dominante na modulação do processamento da dor (HAN; NEUGEBAUER, 2004, JI; NEUGEBAUER, 2009; GONÇALVES; DICKENSON 2012), nosso estudo não apresentou esta diferença da lateralização na expressão dos receptores 5-HT₃ nos animais que conviveram com coespecíficos constrictos; assim como outro estudo demonstrou não haver diferença significativa entre os hemisférios direito e esquerdo para a expressão de células positivas para a proteína Fos no complexo amigdalóide após exposição de camundongos ao teste da formalina na pata (SORREGOTTI et al., 2017).

Com relação a expressão do receptores 5-HT₃, outros autores relataram que a expressão do receptor 5-HT₃ na coluna dorsal nas lamínas L4/L5 aumentou após três dias consecutivos de nado forçado em animais avaliados posteriormente nos testes de retirada da cauda e nos filamentos de Von Frey, indicando que a hipernocicepção acarretou em aumento da expressão destes receptores (LI et al., 2019).

Evidências da expressão dos receptores do tipo 3 da serotonina também foram demonstradas anteriormente em estudos de eletrofisiologia. Foi observado aumento de um subconjunto significativo de interneurônios caracterizados pela expressão de receptores 5-HT₃ no hipocampo, após a estimulação eletrofisiológica dos núcleos da rafe; entretanto os autores destacam que o conhecimento sobre morfologia, conectividade, propriedades moleculares e fisiológicas destes interneurônios que expressam receptores 5-HT₃ é limitado (PUIG et al., 2004; DALE et al., 2018).

Os interneurônios corticais e subcorticais que expressam o mRNA (RNA mensageiro) do receptor 5-HT₃ também expressam as proteínas de ligação ao cálcio calbindina e calretinina; proteínas que são consideradas importantes marcadores de neurônios, devido ao fato destas serem altamente aplicadas para destacar subpopulações de neurônios e são encontradas em

grande quantidade em vias sensoriais, sugerindo um envolvimento dessas proteínas na sinalização de células nervosas (MORALES; BLOOM, 1997; PUIG et al., 2004). Além do mais, a expressão de calbindina e também a parvalbumina sugerem um efeito protetor e de aumento de resistência à lesão excitotóxica (MACIEL, 2007).

Estes dados correlacionam-se com nossos resultados, pois em áreas encefálicas, como a amígdala, os neurônios degeneram-se após injúrias como acidente vascular cerebral, e trauma e também durante doenças progressivas como doença de Alzheimer e dor crônica (modelo utilizado em nosso estudo) sendo que esta neurodegeneração acarretada pela dor crônica mediada por receptores excitatórios, como o receptor 5-HT₃, é definida como excitotoxicidade (LOHMEIER, 2018), ou seja, a constrição do nervo ciático pode levar a degeneração neuronal e a posterior ativação do receptor 5-HT₃, desencadeia uma excitotoxicidade.

Assim, existe um extenso corpo de evidências demonstrando o desenvolvimento de um insulto excitotóxico em certos neurônios após lesão nervosa periférica, como a constrição crônica do nervo ciático. No caso de lesão sustentada e prolongada, as estruturas do SNC responsáveis pela nocicepção e antinocicepção estão gradualmente envolvidas nos processos patológicos. Essas alterações morfológicas podem refletir um processo patológico no qual as respostas centrais induzidas por lesões resultam em um desequilíbrio persistente do circuito excitatório-inibitório com a perda predominante da função dos interneurônios inibitórios localizados em estruturas como a amígdala (PETRENKO; SHIMOJI, 2001; VYAS et al., 2002; SUN et al., 2018).

Estes trabalhos demonstram que a dor crônica aumenta a expressão dos receptores 5-HT₃. A lesão do nervo ciático pode levar à morte neuronal de interneurônios inibitórios, os quais contribuem para o desenvolvimento da hipernocicepção (SUN et al., 2018). Apesar das evidências acima destacarem a ativação do receptor 5-HT₃ após a lesão periférica, no modelo de empatia utilizado em nosso estudo a observação da dor crônica pelo coespecífico também produz hipernocicepção, mesmo na ausência de injúria tecidual periférica, demonstrando a primeira evidência de que o convívio com coespecífico em dor crônica aumenta a expressão dos receptores 5-HT₃ na amígdala.

Sendo assim, sugerimos que convívio com coespecífico em dor crônica leva a uma sensibilização das vias nociceptivas, sendo que esta sensibilização ocorre após estímulo intenso ou repetitivo do nociceptor, acarretando em um aumento na excitabilidade dos neurônios das vias nociceptivas que se dirigem ao SNC. Com essa sensibilização, as fibras A e C hiperestimuladas passam a gerar potenciais de ação espontâneos, além de alterações no limiar

da sensibilidade onde as sensações dolorosas existem, mesmo na ausência de lesão periférica ou estímulos nociceptivos (KOLTZENBURG, et al., 1992; WOOLF et al., 1995).

Sumarizando, a sensibilização central corresponde a uma modificação no estado funcional dos neurônios e das vias nociceptivas por toda a sua extensão, causada pelo aumento na excitabilidade da membrana ou pela redução da inibição sobre este sistema, sendo que a evolução de quadros algícos crônicos leva a plasticidade do sistema nervoso, levando então à cronificação da dor, que pode surgir como resultado de alterações nas propriedades dos neurônios no SNC pelo fenômeno da sensibilização central. A neuroplasticidade altera profundamente a sensação dolorosa, contribuindo para muitas síndromes e pode representar um importante alvo para intervenções terapêuticas (XIAO et al., 2002; OBATA et al., 2003). Neste sentido, considerando que o receptor 5-HT₃ possui uma importante ação moduladora da nocicepção no SNC, possui receptores localizados na amígdala (KOYAMA et al., 2017) e são expressos na modulação social da nocicepção em coespecíficos que convivem com um parceiro em dor crônica, como demonstrado no experimento 1A realizamos o experimento 1B, para a investigar se o bloqueio deste receptor atenuaria a hipernocicepção induzida pelo convívio.

Assim, no experimento 1B observamos que as doses mais altas de ondansetron (1,0 e 3,0 nmol), antagonista dos receptores 5-HT₃ (KILPATRICK et al., 1990) intra-amígdala atenua a hipernocicepção induzida pelo convívio no coespecífico CNC, em comparação com o respectivo CNC/veículo, demonstrando que os receptores 5-HT₃ estão envolvidos na modulação do processo nociceptivo emocional. Considerando que a reversão da hipernocicepção desencadeada pela administração de ondansetron ocorreu apenas nos animais observadores CNC que conviveram com o coespecífico com constrição do nervo ciático, os resultados demonstram que os receptores 5-HT₃ da amígdala estão envolvidos na modulação sensorial da nocicepção mas também no controle descendente inibitório da nocicepção relacionada ao aspecto emocional.

Levando em consideração os resultados do experimento 1B, realizamos o experimento 1C, utilizando injeção intra-amígdala de *mCPBG* (agonista 5-HT₃) (DUKAT et al., 1996) no intuito de verificar se os receptores 5-HT₃ além de estarem envolvidos no controle descendente inibitório, como observado no experimento 1B, também possam estar envolvidos no controle descendente facilitatório da nocicepção. E estando envolvidas neste controle, esta resposta seria observada apenas nos animais que conviveram com o parceiro em dor crônica, ou também modularia as respostas nociceptivas nos animais CS (que conviveram com parceiro Sham). Os resultados deste experimento demonstraram que a maior dose de *mCPBG* (20 nmol) acentuou

a hipernocicepção apenas nos animais CNC que conviveram com coespecíficos com constrição do nervo ciático, em comparação ao respectivo CNC/salina.

Assim, sugerimos que houve sensibilização nas vias ascendentes nociceptivas desencadeada pelo convívio, conforme observado no experimento 1A. Além disso, o convívio aumentou a expressão dos receptores 5-HT₃ na amígdala, e a ativação destes receptores com o agonista (experimento 1C), desencadeou o aumento da hipernocicepção, sugerindo a participação dos receptores 5-HT₃ desta estrutura no controle descendente facilitatório da nocicepção neste processo de empatia.

Nossos achados demonstram que a ativação dos receptores 5-HT₃ na amígdala contribui para uma cascata de sinalização que pode estar envolvida nos mecanismos subjacentes ao controle descendente facilitatório da nocicepção. Esses resultados reforçam as evidências crescentes de que os receptores 5-HT₃ desempenham um papel importante nos mecanismos celulares e moleculares, e no desenvolvimento e manutenção da nocicepção (CHEN et al., 2009), entretanto novos estudos são necessários para elucidar essa cascata.

Trabalhos pré-clínicos demonstraram que a injeção intratecal do antagonista dos receptores 5-HT₃ induziu redução da alodinia mecânica em ratos submetidos à dor neuropática, enquanto o agonista destes receptores, *mCPBG*, exacerbou a alodinia (CHEN et al., 2009; OATWAY et al. 2004). De acordo com Dogrul et al. (2009), a ativação dos receptores 5-HT₃ seria responsável pela facilitação da nocicepção quando estimulados, enquanto o ondansetron bloqueou a hipernocicepção térmica e alodinia quando injetados na medula espinal, sugerindo que os receptores 5-HT₃ são pró-nociceptivos, localizados em estruturas centrais ou periféricas (ZEITZ et al., 2002).

Neste sentido, o nosso resultado mostrou que o ondansetron intra-amígdala de maneira dose-dependente, produziu diminuição da hipernocicepção induzida pelo convívio com o coespecífico em dor crônica, protocolo de empatia utilizado neste estudo. Resultado semelhante foi observado pelo nosso grupo de pesquisa, entretanto com administração sistêmica (FERRARI; CANTO-DE-SOUZA et al., 2016), sugerindo que o efeito antinociceptivo obtido se deva ao bloqueio da ação da serotonina nos receptores 5-HT₃ da amígdala, conforme mostramos no experimento 1B. Em estudos anteriores foi demonstrado que o ondansetron inibiu as contorções abdominais induzida pela acetilcolina (MOSER, 1994), impediu o desenvolvimento de dor crônica em ratos (MCCLEANE et al., 2003), promoveu diminuição da alodinia mecânica em roedores com medula espinal lesionada (CHEN et al., 2009) e produziu efeito antinociceptivo avaliado no teste de retirada da cauda (YE et al, 1997). A administração

intratecal de ondansetron reverteu a hipersensibilidade mecânica e ao frio nos testes de Von Frey e placa fria, respectivamente (COSTA-PEREIRA et al., 2019). Em humanos, o ondansetron induziu efeito redutor da nocicepção (MCCLEANE et al., 2003; AZIMARAGHI et al., 2014) e redução do efeito inflamatório da capsaicina após administração tópica (GIORDANO et al., 1998).

Embora os efeitos antinociceptivos do ondansetron já tenham sido relatados na literatura (ZEITZ et al., 2002; FAERBER et al., 2007; KWAN et al., 2020), especificamente no teste de contorções (MOSER, 1994; PUROHIT et al., 2016), no nosso estudo, o efeito antinociceptivo do ondansetron intra-amígdala foi observado em camundongos que conviveram com o coespecífico com dor crônica. Esses resultados indicam que os receptores 5-HT₃ da amígdala participam não apenas dos componentes sensoriais da nocicepção, mas também do componente emocional induzido pelo modelo de empatia utilizado neste trabalho.

Além do sistema serotoninérgico, diversos sistemas de neurotransmissores têm sido implicados na transmissão, processamento e controle da nocicepção (FIELDS et al., 1991; JULIUS; BASBAUM, 2001; MILLAN, 2003; BASBAUM et al., 2009). Os neurotransmissores GABAérgicos são inibitórios e estão amplamente distribuídos no SNC, regulando inúmeras funções fisiológicas, entre elas, ansiedade e nocicepção (ZEILHOFER et al., 2009; MEHTA et al., 2019; McDOWELL, 2019). A diminuição do tônus inibitório do GABA é importante para a evolução da nocicepção (YOWTAK et al., 2013). Como exemplo, podemos destacar que a injeção sistêmica de midazolam (agonista GABA_A-benzodiazepínico) produziu antinocicepção em camundongos expostos ao teste de contorções abdominais (NUNES-DE-SOUZA et al., 2000; BAPTISTA et al., 2009).

O envolvimento da modulação GABAérgica também foi evidenciado após a administração sistêmica de midazolam (2,0 mg/kg) atenuar a hipernocicepção nos animais que conviveram com par em dor crônica em um protocolo de empatia igual ao utilizado neste estudo, sugerindo a participação desta neurotransmissão no processo de empatia pela nocicepção (ZANIBONI et al., 2018).

Levando em consideração as evidências apresentadas acima que apontam a participação dos receptores GABAérgicos no controle nociceptivo, e o resultado obtido no estudo descrito por Zaniboni e colaboradores (2018), no experimento 2, realizamos injeções intra-amígdala de midazolam (3,0 ou 30,0 nmol) e observamos que ambas as doses diminuíram o número de contorções em animais que conviveram com coespecífico CNC em comparação com o respectivo CNC/salina. Cabe ressaltar que as doses de midazolam utilizadas no presente estudo

não interferiram na atividade locomotora dos animais CNC ou CS, semelhante ao relatado em outros estudos (NUNES-DE-SOUZA et al., 2000; BARBALHO et al., 2009; ZANIBONI et al., 2018).

Embora evidências já tenham destacado a diminuição da nocicepção produzida pelo midazolam nos animais após aplicação do estímulo nociceptivo (CHIBA et al., 2009; IKRAM et al., 2020) e que os receptores GABA_A na amígdala modulam a nocicepção sensorial e afetiva em ratos com neuropatia (PEDERSEN et al., 2007), nenhum estudo ressaltou o efeito do tratamento intra-amígdala de midazolam considerando a influência emocional sobre a nocicepção, como avaliado no modelo utilizado neste trabalho.

Bartal e colaboradores (2016) demonstraram que ratos exibem comportamento empático quando observam animais da mesma espécie em condições de contenção e estresse não doloroso, agindo de maneira determinada para acabar com esse sofrimento (BARTAL et al., 2016). No mesmo estudo, foi demonstrado atenuação do aspecto emocional em relação ao comportamento pró-social, uma vez que os ratos que foram tratados com midazolam não desempenharam a tarefa de auxiliar o coespecífico que estava em um tubo de contenção. Os autores concluíram que, para esse tipo de comportamento ocorrer em animais, é necessário a presença do aspecto emocional, que foi atenuado pelo midazolam (BARTAL et al., 2016). Os resultados mencionados fortalecem a participação da modulação GABAérgica no contágio emocional e também a relevância do aspecto emocional para a ocorrência destes comportamentos em animais.

Conforme descrito em outros trabalhos, o midazolam intra-amígdala, além do efeito antinociceptivo, também exerce efeito ansiolítico (NUNES-DE-SOUZA et al., 2000; BARBALHO et al., 2009; BAPTISTA et al., 2009). Posteriormente, verificou-se uma atenuação dos comportamentos relacionados à ansiedade após administração intra-amígdala de midazolam (3,0 e 30,0nmol) em camundongos que conviveram com coespecíficos em condição de dor crônica e foram submetidos ao teste do LCE (CARMONA et al., 2016). Estes dados demonstraram que os comportamentos do tipo ansiogênicos induzidos pela convivência com coespecífico em dor crônica são atenuados pelo midazolam, em conjunto com os resultados do experimento 2, confirmam os achados sobre os efeitos ansiolíticos e antinociceptivos promovidos pelo midazolam diante de influência emocional no modelo que utilizamos.

Nesse sentido, no experimento 2 demonstramos que os receptores GABA_A-benzodiazepínicos da amígdala participam da modulação da empatia pela nocicepção em

camundongos que conviveram com coespecífico na condição de dor neuropática e que essa estrutura subcortical modula a resposta emocional à nocicepção.

Vários relatos na literatura têm demonstrado a existência da interação entre os sistemas serotoninérgico e GABAérgico (KOYAMA et al., 2000; KOYAMA et al., 2017). Os dois sistemas estão envolvidos na modulação da nocicepção e transtornos de ansiedade (KLEIN et al., 1994). Ambos os receptores 5-HT₃ e GABA_A pertencem à mesma família de receptores ligantes-iônicos. Os receptores 5-HT₃ são canais de íons dependentes de neurotransmissores pertencentes ao membro da família de receptores de Cys-loop, incluindo GABA_A, acetilcolina nicotínica e receptores de glicina (MILLAN et al., 2003; FUKUSHIMA et al., 2009; KOYAMA et al., 2017). Devido a essas semelhanças, muitos fármacos que atuam em um tipo de receptor geralmente atuam em outros receptores desse grupo. Por exemplo, alguns antagonistas do receptor 5-HT₃ atuam no complexo receptor GABA_A, além de seus efeitos no receptor 5-HT₃ (KLEIN et al., 1994; BALAKRISHNAN et al., 2000).

Respostas excitatórias rápidas mediadas por receptores 5-HT₃ foram relatadas em várias regiões encefálicas e nos neurônios da amígdala. Essa transmissão sináptica rápida é importante no reflexo emético e na resposta nociceptiva e contribui para a diversidade funcional na inervação serotoninérgica. O receptor 5-HT₃ é permeável aos cátions (Na⁺, K⁺) e, portanto, a sua ativação resulta na despolarização da célula alvo (KOYAMA et al., 2017).

Baseado no fato de que em diversas situações faz-se necessário o uso de dois ou mais medicamentos para se obter uma resposta clínica adequada e que a administração de vários fármacos pode ocorrer também quando há a presença de várias patologias, resultando muitas vezes em terapia ineficaz, ou mesmo em reações adversas com diferentes graus de gravidade (DELUCIA et al, 2014), é considerável na área clínica saber se o uso de vários fármacos concomitantemente em um determinado paciente tem potencial de interação, ou seja, a possibilidade de um fármaco poder alterar a intensidade do efeito farmacológico de outro fármaco administrados juntos (RANG et al, 2012).

Apesar de alguns problemas relacionados aos fármacos serem inesperados, muitos estão associados à ação farmacológica e, algumas vezes, podem ser previstos e evitados. Entretanto, na prática clínica, esta informação prévia pode não ser suficiente, pois, muitas vezes, os pacientes utilizam vários medicamentos, acarretando em baixa previsão da ação do fármaco. As interações indesejáveis são as que determinam redução do efeito ou resultado oposto ao desejado, aumentando a ocorrência de efeitos adversos e sem benefício terapêutico. As

interações que resultam em redução da atividade do fármaco e na perda da eficácia são difíceis de detectar e podem ser responsáveis pela progressão da doença (SEHN et al., 2003).

O risco de interação fármaco-fármaco aumenta com o número de medicamentos usados, ocorrendo em 13% dos pacientes utilizando dois medicamentos e 85% em pacientes utilizando mais de seis medicamentos (MAZZOLA et al., 2011). O midazolam (8,3%) ácido acetilsalicílico (6,86%) fentanil (6,50%) e a dipirona (6,14%) estão entre os mais envolvidos com as interações medicamentosas, sendo que a associação do midazolam e fentanil (analgésico opióide) pode resultar em depressão respiratória grave (MAZZOLA et al., 2011). O uso de benzodiazepínicos, como o midazolam com anti-histamínicos devem ser prescritos com cautela, pois o aumento da sedação com a administração de ambos os fármacos será observado (SOARES et al., 2014). Assim, é importante ressaltar que são necessários mais estudos sobre as interações farmacológicas, com o objetivo de diminuir os efeitos adversos relacionados à associação medicamentosa.

Baseado nas evidências acima, sobre o risco de potenciais interações medicamentosas, um dos objetivos deste estudo foi elucidar através do modelo de empatia pela nocicepção as interações entre a serotonina e o GABA e considerando que estudos sugerem a existência de mecanismos serotoninérgicos e GABAérgicos independentes, porém correlacionados em modular a nocicepção, nossa hipótese foi baseada na informação de que antagonistas de receptores 5-HT₃ poderiam bloquear a ação antinociceptiva induzida por agentes GABAérgicos, realizamos o Experimento 3 no intuito de investigar o envolvimento destes sistemas na modulação social da nocicepção. E assim, observamos que o pré-tratamento intra-amígdala com ondansetron (0,3 nmol) utilizando a dose sem efeitos intrínsecos à resposta nociceptiva, como observado no experimento 1B, foi capaz de reverter o efeito antinociceptivo produzido pelo tratamento com midazolam (3,0 nmol), em camundongos após o convívio com o coespecífico em condição de dor crônica, sem alterar a resposta nociceptiva nos coespecíficos CS.

Evidências sugerem que os receptores 5-HT₃, localizados no corpo dos interneurônios GABAérgicos, presentes em estruturas do sistema límbico, como substância cinzenta periaquedutal, hipocampo e amígdala, quando ativados, aumentam a transmissão sináptica inibitória do GABA, ou seja quando ocorre o bloqueio deste receptor, consequentemente acarretará em uma diminuição da transmissão sináptica inibitória do GABA (KATSURABAYASHI et al., 2003; HUANG; SCHEIFFELE, 2008). Assim, como observado

neste estudo, o ondansetron antagonizou os receptores 5-HT₃, e como resultado da interação entre as duas neurotransmissões o midazolam diminuiu o efeito inibitório.

É importante ressaltar que os receptores 5-HT₃ controlam o sistema GABAérgico e sugere-se que essa interação com outros sistemas de neurotransmissores seja um mecanismo de efeito primário para ligantes 5-HT₃ (MIQUEL et al., 2002). Consequentemente, o aumento da inibição GABAérgica com a ativação dos receptores 5-HT₃ pode apresentar uma função reguladora do funcionamento do cérebro (MORALES; BLOOM, 1997), preconizando que os receptores 5-HT₃ em ratos participam de um circuito de inibição e desinibição em estruturas límbicas, através de um mecanismo compensatório (MORALES; BLOOM, 1997).

Evidências sugerem que os efeitos terapêuticos observados com a administração de ondansetron parecem depender da interação com o sítio GABA_A-Benzodiazepínico. Uma possível explicação para algumas das sobreposições na atividade comportamental entre antagonistas dos receptores 5-HT₃ e benzodiazepínicos é que os antagonistas dos receptores 5-HT₃ atuam no complexo receptor GABA_A-benzodiazepínico, além de seus efeitos sobre o receptor 5-HT₃ (ZEITZ et al., 2002). Alhaider e colaboradores (1991) demonstraram que antagonistas GABA podem bloquear a ação de agonistas de 5-HT₃. Além disso, o bloqueio dos receptores do tipo 3 da serotonina inibe a nocicepção pela ativação de interneurônios inibitórios (ALHAIDER et al., 1991). Além do mais, interneurônios GABAérgicos que expressam 5-HT₃ foram localizados em somatodentritos, onde regulam a excitabilidade dos interneurônios GABAérgicos e também no terminal pré-sináptico, onde regulam a liberação do GABA (FUKUSHIMA et al., 2009).

Estudos crescentes têm demonstrado que o ondansetron apresenta potencial anticonvulsivante em crises epiléticas, pois possui potente atividade anticonvulsivante em ratos e potencializa ainda mais a atividade anticonvulsivante da fenitoína, fármaco amplamente utilizado em crises convulsivas. Este efeito do ondansetron ocorre devido ao perfil de sua curva dose resposta. Doses relativamente baixas de ondansetron podem bloquear preferencialmente receptores 5-HT₃ para suprimir a excitação de neurônios GABAérgicos (MORALES; BLOOM 1997) e desinibir células piramidais glutamatérgicas para fornecer eficácia terapêutica. Doses intermediárias de ondansetron podem saturar a ligação a receptores 5-HT₃ em regiões corticais e límbicas e levar a uma resposta compensatória dos neurônios GABAérgicos que se traduz em uma eficácia de resposta no nível comportamental (KWAN et al., 2020). Em altas doses, o ondansetron pode atingir níveis suficientes no cérebro para antagonizar os receptores 5-HT₃

presentes em regiões de menor densidade, como o núcleo accumbens e pode estar subjacente à sua eficácia na inibição da sensibilização a drogas de abuso (KING et al. 2000).

Diante das evidências acima, podemos sugerir que os resultados do experimento 3 vão ao encontro destes dados pois, a dose de 0,3nmol de ondansetron utilizada neste experimento, foi uma dose desprovida de efeito intrínseco na resposta nociceptiva, conforme observado no experimento 1B. A dose de ondansetron utilizada (0,3nmol) é considerada baixa e quando foi combinada com a dose de 3,0 nmol de midazolam, foi capaz de bloquear os receptores 5-HT₃, provavelmente localizados em interneurônios GABAérgicos na amígdala, o que acarretou na atenuação da resposta inibitória do midazolam, facilitando a apresentação da resposta nociceptiva induzida pelo ácido acético. Já as doses intermediárias de ondansetron (1,0 e 3,0nmol), utilizadas no experimento 1B, ocuparam os receptores 5-HT₃ na amígdala e produziram atenuação da nocicepção em animais que conviveram com coespecíficos com dor crônica, provavelmente devido a saturação dos receptores nessa área límbica, levando então a uma resposta compensatória como mencionado acima.

Dados da literatura apontam uma estreita relação entre a dor crônica e transtornos emocionais, sendo que alguns autores sugerem que as duas condições coexistem e que uma agrava a experiência da outra. Nas últimas décadas, o uso de psicofármacos para o tratamento de distúrbios emocionais aumentou consideravelmente, sendo que o crescimento do consumo dos benzodiazepínicos foi entre 1960 e 1980. No Brasil, estima-se que atualmente 3,3% da população adulta faça uso regular ou esporádico de benzodiazepínicos, entre eles o midazolam, fármaco utilizado neste estudo (GALDURÓZ et al., 2005). Atualmente, em virtude dos efeitos colaterais do uso prolongado dos benzodiazepínicos como o desenvolvimento de tolerância e a dependência, estes fármacos têm sido utilizados como tratamento coadjuvante associado aos antidepressivos inibidores seletivos das monoaminas nos transtornos crônicos de ansiedade. No tratamento do transtorno da ansiedade, é comum prescritores associarem o uso dos benzodiazepínicos no início do tratamento junto com inibidores seletivos de recaptação de serotonina, para alívio dos sintomas em curto prazo, como nos casos graves, associados à insônia ou sintomas psicossomáticos (EL-GUEBALY, et al., 2010).

Deste modo, entender como as interações entre os sistemas serotoninérgico e GABAérgico, aqui representados pelo ondansetron e midazolam, respectivamente ocorrem, é de extrema importância para uma eficácia terapêutica e uma melhor compreensão do processo terapêutico, evitando assim que a ação de um fármaco seja alterada pelo outro fármaco administrado

concomitantemente, podendo aumentar ou reduzir a atividade um do outro, evitando assim o risco de efeitos adversos (SADOCK, et al., 2018).

A constante investigação farmacológica resulta de um interesse para encontrar novas famílias de fármacos analgésicos que não causem efeitos colaterais ou mínimos efeitos indesejáveis e apresente potência relevante (SBEC, 2019). De maneira geral, os canabinoides apresentam-se como um novo sistema de neuromodulação central e periférico, devido a seus receptores CB₁ e CB₂, além de seus análogos serem comparados a ação analgésica dos opióides. A atividade antinociceptiva dos canabinoides está associada a receptores do tipo canabinóides ou também por sua ligação com receptores de serotonina e vanilóide (PERTWEE, 2001; RIBEIRO, 2019).

De fato, a falta de eficácia das farmacoterapias convencionais para reduzir a dor e os efeitos colaterais significativos associados aos medicamentos disponíveis, aumentam os esforços de descoberta de medicamentos para atuarem como novos analgésicos. Pesquisas pré-clínicas demonstram a eficácia dos canabinoides em modelos de roedores com dor inflamatória aguda e crônica, bem como dor neuropática (RICHARDSON, 2000). Em comparação, poucos estudos publicados examinaram os efeitos antinociceptivos de canabinóides em primatas não humanos. No paradigma de retirada da cauda da água quente do macaco *rhesus*, o canabinóide endógeno anandamida, o constituinte ativo primário da *Cannabis Δ9-tetra-hidrocanabinol* (THC) e o agonista sintético do receptor canabinóide WIN55,212-2 produziram efeitos antinociceptivos dose-dependentes (VIVIAN et al., 1998; MANNING et al., 2001).

Contribuições de diversas pesquisas discorrem sobre o efeito analgésico de canabinoides em patologias humanas, incluindo dor associada a diabetes, quimioterapia, esclerose múltipla e fibromialgia (LYNCH; WARE, 2015; WHITING et al, 2015). Além do crescente interesse em potenciais efeitos terapêuticos do canabidiol, incluindo o *Sativex*, um medicamento que contém aproximadamente partes iguais de THC e canabidiol. Estudos pré-clínicos são relatados na literatura, testando combinações de THC e canabidiol, demonstram efeitos anti-inflamatórios (MALFAIT et al., 2000; LODZKI et al., 2003; XIONG et al., 2012) e antinociceptivos (LANGFORD et al., 2013; LEHMANN et al., 2016; KING et al., 2017).

Utilizando abordagens genéticas e farmacológicas complementares, componentes distintos do sistema endocanabinoide, ou seja, receptores e enzimas reguladoras de endocanabinoides, surgiram como alvos promissores no tratamento da dor neuropática (GUINDON; HOHMANN, 2009; RAHN; HOHMANN, 2009). Neste sentido, modelos animais têm sido utilizados em vários estudos que investigam canabinoides em modelos experimentais

de dor neuropática. Os resultados desses estudos destacam papéis potencialmente importantes do sistema endocanabinoide na fisiopatologia da dor neuropática e possíveis alvos terapêuticos para tratar essas condições (DONVITO et al., 2018).

Ressalta-se que o canabidiol tenha atividades analgésicas, antiinflamatórias, anticonvulsivas e ansiolíticas significativas sem o efeito psicoativo do THC (COSTA et al., 2007). De fato, o canabidiol se comporta como um modulador alostérico negativo não competitivo do receptor CB_1 e reduz a eficácia e potência do THC. Possui baixa afinidade com o receptor CB_1 ($K_i = 4350\mu M$) e apresenta pouca atividade agonista (PERTWEE, 2008; LAPRAIRIE et al., 2015; CASCIO et al., 2017). O canabidiol também regula a percepção da dor, afetando a atividade de um número significativo de outros alvos, incluindo receptores acoplados à proteína G ou não, como $5-HT_{1A}$, canais iônicos, como $TRPV_1$, receptores de glicina, $5-HT_3$ e receptores nucleares, além de inibir a captação da enzima amido hidrolase de ácido graxo (FAAH) (RUSSO et al., 2007; STATON et al., 2008; AHRENS et al., 2009; DE PETROCELLIS et al., 2011; BURSTEIN, 2015; MORALES et al., 2004; 2017). Além do mais, todos esses receptores representam alvos potencialmente atraentes para o uso terapêutico do canabidiol no tratamento da nocicepção.

Considerando estas evidências, os experimentos 4 e 5 investigaram o papel do canabidiol (experimento 4) e sua interação com o receptor serotoninérgico $5-HT_3$ (experimento 5) na hipernocicepção induzida pelo convívio com coespecífico em dor crônica. Os resultados do experimento 4 demonstram que o canabidiol (30 nmol) intra-amígdala atenuou a hipernocicepção induzida pelo convívio com parceiro em dor crônica, quando comparado com o seu respectivo grupo CNC/veículo. Este efeito não foi observado nos animais que conviveram com o coespecífico CS, ressaltando assim a influência do sistema canabinóide na modulação do componente emocional sobre a nocicepção avaliada no modelo deste estudo.

A alta densidade de receptores CB_1 na amígdala foi confirmada através de imunoistoquímica utilizando um anticorpo purificado por afinidade direcionado contra os últimos 15 aminoácidos do receptor CB_1 de rato (ROCHE et al., 2010). Os receptores CB_1 são expressos em altos níveis nos núcleos lateral e basal, mas estão em baixa densidade no núcleo central e no núcleo medial. A expressão de CB_1 também foi identificada em uma subpopulação de interneurônios GABAérgicos (ROCHE et al., 2010). Manning e colaboradores (2001) e (2003) demonstraram em primatas não humanos e roedores, que a amígdala é necessária para a expressão da antinocicepção induzida por canabinóides. O efeito antinociceptivo do agonista canabinóide WIN55,212-2 nos testes de retirada da cauda e formalina na pata foi

significativamente reduzido após lesões bilaterais com muscimol do complexo amigdalóide. E apesar da ampla densidade dos receptores CB₁ na amígdala não foram encontradas evidências demonstrando o envolvimento do canabidiol microinjetado na amígdala na modulação nociceptiva, fortalecendo ainda mais o desenvolvimento deste estudo. Portanto, mais estudos serão necessários para investigar os efeitos das injeções de canabidiol na amígdala e em outras estruturas encefálicas envolvidas na modulação da nocicepção.

Estudo demonstrando a ação antinociceptiva do agonista canabinoide WIN55,212-2 na amígdala, em roedores avaliados no teste de retirada da cauda também foi relatado por Connel e colaboradores (2016), evidenciando o papel da amígdala na modulação da sensibilidade à nocicepção. A sinalização endocanabinoide na amígdala também medeia a extinção de memórias aversivas, sugerindo que os endocanabinoides modulam múltiplas respostas ao estresse por meio de ações nesta estrutura (CONNEL et al., 2006).

Estudos evidenciando a participação de outras áreas encefálicas e os efeitos do tipo ansiolíticos do CBD (15, 30 ou 60 nmol) foram relatados quando injetado no núcleo leito da estria terminal e intra-SCP dorsolateral de ratos submetidos ao LCE e ao teste de conflito de Vogel (CAMPOS et al., 2008; GOMES et al., 2011). A microinjeção de canabidiol (30nmol) no córtex pré-frontal na sub-região pré-límbica, reduziu o congelamento induzido pela reexposição ao contexto aversivo condicionado (LEMOS et al., 2010). Em relação a nocicepção, Genaro e colaboradores (2017) demonstraram que injeções intra-córtex cingulado anterior de canabidiol reduziram a alodinia mecânica após incisão plantar, sugerindo que o canabidiol influencia diferentes dimensões da resposta a uma incisão cirúrgica na pata de ratos, e os resultados sugerem o córtex cingulado anterior como uma das regiões encefálicas a partir da qual o canabidiol evoca efeitos antinociceptivos (GENARO et al., 2017).

A relação da literatura acerca dos efeitos do canabidiol, o papel da amígdala nos processos nociceptivos, além dos resultados do experimento 4, demonstrando a participação do canabidiol microinjetado na amígdala no processo de empatia pela nocicepção, nos fez consideramos realizar o experimento 5, e verificar se o efeito antinociceptivo do canabidiol encontrado no experimento 4 poderia ser atenuado pela prévia administração intra-amígdala de ondansetron (antagonista dos receptores 5-HT₃).

Nossa hipótese baseia-se em evidências demonstrando que derivados canabinoides agem em um determinado local modulador do próprio receptor 5-HT₃, considerando alternativas de que a ligação de canabinoides a este local pode inibir correntes através do poro do receptor, por exemplo, seja por um poro de canal aberto ou por uma interação alostérica inibidora que leva a

alteração nos mecanismos de bloqueio ou fechamento do canal, ou seja, quando o antagonista competitivo 5-HT₃ ocupa o receptor, a inibição alostérica não ocorre devido ao fechamento do canal (BARANN et al., 2002; PERTWEE, 1997; 2000). Estudos anteriores mostraram que antagonistas do receptor 5-HT₃ e canabinóides produzem efeitos farmacológicos similares, tais como a analgesia e antiemese (YANG et al., 2010).

O receptor 5-HT₃ é reconhecido não apenas por modular compostos derivados de canabinóides, como agonistas do receptor CB₁, mas também antagonistas do receptor CB₁, como o composto LY320135 (FELDER et al., 1998). O LY320135 (antagonista CB₁) possui um efeito inibitório clássico dos antagonistas do receptor canabinoide CB₁ (ki: 141.0nM), porém também atua no sítio modulador alostérico do receptor 5-HT₃ (ki: 523.2 nM). O agonista CB₁, WIN55,212-2, (ki:103.5 nM) também atua no sítio modulador alostérico do receptor 5-HT₃ (ki: 17.4 nM). Sendo assim, o sítio modulador alostérico do receptor 5-HT₃ pode ser considerado como um alvo para uma nova classe de drogas usadas, por exemplo, para o controle da nocicepção (RINALDI-CARMONA et al., 1996; GODLEWSKI et al., 2003).

Neste contexto, os resultados do experimento 5 demonstraram que o pré-tratamento intra-amígdala com ondansetron na dose de 0,3 nmol (uma dose sem efeitos intrínsecos à resposta nociceptiva, como observado no experimento 1B), previne a atenuação da hipernocicepção induzida pelo tratamento com canabidiol na dose de 30 nmol (dose com efeito antinociceptivo, como observado no experimento 4), avaliados na empatia relacionada à nocicepção em camundongos que conviveram com coespecífico em dor crônica; efeito este observado apenas nos animais que conviveram com coespecífico CNC e sem alteração na resposta nociceptiva nos coespecíficos que conviveram com par Sham.

Os resultados obtidos com a administração combinada intra-amígdala de ondansetron seguido de canabidiol, fortalecem o envolvimento dos sistemas serotoninérgico e canabinoide da amígdala na modulação da nocicepção induzida pelo convívio com o coespecífico com dor crônica em camundongos. Os resultados obtidos (Experimento 5) corroboram com outros estudos clínicos (WADE et al., 2003; RYZ et al., 2017) e pré-clínicos (COSTA et al., 2007; WARD et al., 2014; PHILPOTT et al., 2017) que destacaram a capacidade do CBD em atenuar a nocicepção. A amígdala é uma estrutura importante na modulação ascendente e descendente que medeia a analgesia. O agonista dos receptores CB₁ (WIN55,212-2) quando microinjetado no núcleo central e basolateral da amígdala aumentou significativamente a latência de retirada da cauda em ratos Sprague–Dawley, sugerindo assim, que os efeitos analgésicos dos canabinóides são mediados em parte por suas ações na amígdala (MARTIN et al., 1999).

Hasanein et al. (2007) mostraram que a administração intra-amígdala de WIN55,212-2 aumentou a latência de retirada da cauda e diminuiu os comportamentos relacionados à dor nas duas fases do teste de formalina. Esses efeitos foram revertidos pelo AM251 (antagonista do receptor CB₁). Manning et al. (2001) mostraram que o efeito antinociceptivo do agonista WIN55,212-2 foi reduzido em macacos *rhesus* com lesões bilaterais do complexo amigdalóide. Estes achados demonstram que a amígdala contribui para a produção de antinociceção induzida por canabinóides em primatas não humanos e roedores.

Dentro desse contexto, evidências a respeito da interação destas neurotransmissões sugerem que o canal iônico do receptor 5-HT₃ é um local afetado pelos agonistas de canabinóides no sistema nervoso, e a ação dos agonistas de canabinóides nos receptores de 5-HT₃ pode ser um mecanismo possível para explicar alguns dos efeitos comportamentais dos canabinóides, como antiemese e analgesia (FAN, 1995).

Assim, levando em consideração as evidências acima, observamos em nosso estudo que a administração combinada de ondansetron (0,3 nmol) com veículo intra-amígdala não apresentou efeito intrínseco quando o convívio foi realizado com o coespecífico com dor crônica (CNC) e sem dor (CS), assim como no experimento 1B, e a injeção intra-amígdala de canabidiol acarretou em atenuação da hipernociceção induzida pelo convívio com par em dor crônica, como no experimento 4. Deste modo, provavelmente a atenuação da hipernociceção seja decorrente da inibição da ação da enzima FAAH, facilitando conseqüentemente o aumento da concentração de endocanabinóides na fenda sináptica (RUSSO et al., 2007; DE PETROCELLIS et al., 2011). Os endocanabinóides apresentam alta afinidade para os receptores 5-HT₃ (XIONG et al., 2008), e parte dos efeitos terapêuticos dos canabinóides, endógenos ou sintéticos, são decorrentes da inibição da degradação dos endocanabinóides via FAAH, agindo alostericamente nos receptores 5-HT₃ (YANG et al., 2010), uma vez que esta inibição alostérica é considerada por alguns autores o mecanismo de ação principal dos compostos canabinóides (BARANN et al., 2002; PERTWEE, 2009; YANG et al., 2010).

O canabidiol é considerado um modulador alostérico negativo, ou inibitório, ou seja, age diminuindo a afinidade do agonista endógeno (serotonina) com o receptor 5-HT₃. Neste sentido, no intuito de verificar a modulação entre os receptores 5-HT₃ e o canabidiol, observamos que a administração de ondansetron, antagonista potente, seletivo e competitivo dos receptores 5-HT₃ (MILNE et al., 1991), prejudicou a resposta antinociceptiva do canabidiol, provavelmente por bloquear seu sítio ortostérico, impedindo assim a ligação do canabidiol ao seu sítio alostérico, através da alteração da conformação do receptor, influenciando assim a

ligação do canabidiol ao sítio alostérico (BARANN et al., 2002). Portanto, sugerimos que no experimento 5, a ação do canabidiol foi impedida devido à presença do antagonista ondansetron (administrado previamente) que competiu pelo mesmo receptor com o canabidiol, demonstrando que o canabidiol pode produzir efeitos farmacológicos antinociceptivos em parte via receptores 5-HT₃ (YANG et al., 2010). Estes resultados reforçam a hipótese inicial do trabalho de que o canabidiol atenuaria a hipernocicepção induzida pelo convívio e que os dois sistemas (serotonérgico e canabinoide) na amígdala estão interagindo na modulação social da nocicepção.

Evidências anteriores já destacaram que antagonistas 5-HT₃ e compostos canabinoides produzem efeitos farmacológicos semelhantes, como analgesia e antiemese (YANG et al., 2010), e que propriedades não psicotrópicas do canabidiol podem ser explicadas por uma afinidade muito baixa com os receptores CB₁ e CB₂ (MECHOULAM et al., 2007). No entanto, o canabidiol continua a ter efeitos antieméticos, provavelmente devido a sua ação no receptor 5-HT₃. Godlewski et al. (2003) também evidenciaram que o antagonista seletivo dos receptores CB₁ (SR141716A) não antagonizou o efeito inibitório do agonista CB₁ (WIN 55,212-2), devido a sua ação nos receptores 5-HT₃; além disso antagonistas canabinoides podem bloquear o efeito do *mCPBG* (agonista 5-HT₃) (GODLEWSKI et al., 2003).

Neurônios com dupla marcação para 5-HT_{3A}/CB₁ foram encontrados na amígdala, demonstrando que a análise da proporção de neurônios que co-expressam os receptores 5-HT₃ e CB₁ na amígdala mostrou que, dependendo da região do cérebro, 37-53% de todos os neurônios que expressam 5-HT₃ também expressavam o receptor CB₁; 16 a 72% da população total de neurônios que expressam o RNA mensageiro (RNAm) de CB₁ co-expressaram o receptor 5-HT₃. Usando uma combinação de hibridização dupla *in situ* e imunoistoquímica, o estudo demonstrou que os neurônios que expressam 5-HT₃/CB₁ continham o neurotransmissor inibitório GABA (MORALES et al., 2004). Assim, estes resultados mostram a co-expressão de RNAm de 5-HT₃ e CB₁ em neurônios GABAérgicos na amígdala e sugerem que os canabinoides e a serotonina podem regular o controle inibitório tônico no mesmo subconjunto de neurônios da amígdala (KOYAMA et al., 2000).

Contribuições de diversas pesquisas demonstram que as fibras serotonérgicas dos núcleos da rafe direcionam preferencialmente interneurônios GABAérgicos em áreas límbicas, como por exemplo, o córtex pré-frontal, o hipocampo e o complexo amigdalóide (SMILEY e GOLDMAN-RAKIC, 1996; GULYÁS et al., 1999; MASCAGNI; MCDONALD, 2007). Nessas estruturas, a expressão de receptores 5-HT₃ é restrita aos mesmos interneurônios

GABAérgicos (MORALES et al., 1996; MORALES; BLOOM, 1997), indicando que os receptores 5-HT₃ podem controlar a excitabilidade das redes neuronais corticais e subcorticais por meio de transmissão sináptica rápida via interneurônios GABAérgicos (FÉRÉZOU et al., 2002; PUIG et al., 2004). Os receptores CB₁ também são expressos pelos mesmos interneurônios nessas regiões do encéfalo (HÁJOS et al., 2000; BODOR et al., 2005). Os achados sugerem que as fibras serotoninérgicas originadas da rafe aumentam a liberação de GABA na amígdala e esse efeito é controlado pela sinalização retrógrada mediada pelos endocanabinoides (MIKICS et al., 2009).

Esses achados revelam uma interação funcional entre o receptor 5-HT₃ e a sinalização canabinóide, propondo que o substrato dessa interação seja uma rede compreendendo neurônios serotoninérgicos da rafe e contendo interneurônios GABAérgicos da amígdala, lembrando que a interação entre estes sistemas pode depender da espécie, cepa e expressão dos receptores 5-HT₃ e CB₁ (MIKICS et al., 2009).

Levando em consideração o importante papel da neurotransmissão serotoninérgica na modulação das emoções e psicopatologias como, por exemplo, ansiedade e depressão, e nocicepção, os resultados do presente estudo destacaram o envolvimento dos sistemas serotoninérgico-GABAérgico e serotoninérgico-canabinoide da amígdala no processo de modulação social da nocicepção. Considerando que a empatia é essencial para a vida social, torna-se evidente que o estabelecimento das bases neurais envolvidas nesta resposta pode promover conhecimento mais robusto sobre o próprio processo da empatia e possibilitar tratamento para indivíduos que sofrem de transtornos com empatia diminuída (PRESTON; DE WAAL, 2002; SHAMAY-TSOORY, 2011).

Portanto, estudos futuros nesta área são necessários para esclarecer quais as outras neurotransmissões e estruturas encefálicas envolvidas na modulação da empatia relacionada à nocicepção em camundongos que convivem com coespecífico em dor crônica.

6. CONCLUSÃO

O conjunto destes resultados contribui para fortalecer a hipótese da influência de estados emocionais nos comportamentos de roedores. Os resultados obtidos sobre a modulação da nocicepção induzida pelo convívio com coespecífico em dor crônica podem estar intrinsicamente associados ao estado emocional do coespecífico constricto, visto que por meio de mecanismos de percepção-ação, o sujeito passa a experienciar um estado emocional ou nociceptivo similar daquele que observa, como demonstrado neste estudo, que o convívio com coespecífico em dor crônica produz hipernocicepção.

Os resultados obtidos sugerem que, a amígdala tem um papel importante na modulação das respostas nociceptivas sensoriais e emocionais, e que a hipernocicepção induzida pelo convívio com parceiro em dor crônica, promoveu aumento na expressão dos receptores serotoninérgicos 5-HT₃ nos núcleos basolateral e central do complexo amigdalóide em ambos os hemisférios, sugerindo que estes receptores juntamente com outras redes de neurônios envolvidos medeiam à resposta emocional nociceptiva.

Além disso, os resultados demonstraram que os tratamentos intra-amígdala com ondansetron (experimento 1B), *m*CPBG (experimento 1C), midazolam (experimento 2) e canabidiol (experimento 4), podem reverter o padrão nociceptivo, seja através de atenuação ou acentuação da nocicepção presente nos animais submetidos ao protocolo de convivência com a nocicepção. Assim como as interações observadas nos experimentos 3 e 5, mostraram que o bloqueio dos receptores 5-HT₃ com ondansetron (0,3 nmol, dose desprovida de efeito), combinado com midazolam (3,0 nmol) ou canabidiol (30 nmol), atenua a antinocicepção produzida pelo midazolam e canabidiol, respectivamente, nos camundongos após convívio com coespecífico constricto.

Sumarizando, os resultados demonstram o envolvimento das neurotransmissões serotoninérgica, GABAérgica e endocanabinoide da amígdala e a interação entre estas neurotransmissões na hipernocicepção induzida pelo convívio com coespecífico em dor crônica.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHAM, A. D., LEUNG, E. J., WONG, B. A., RIVERA, Z. M., KRUSE, L. C., CLARK, J. J., LAND, B. B. Orally consumed cannabinoids provide long-lasting relief of allodynia in a mouse model of chronic neuropathic pain. **Neuropsychopharmacology**, p. 1-10, 2019.

AHRENS, J.; DEMIR, R.; LEUWER, M.; DE LA ROCHE, J.; KRAMPFL, K.; FOADI, N.; HAESLER, G. The nonpsychotropic cannabinoid cannabidiol modulates and directly activates alpha-1 and alpha-1-Beta glycine receptor function. **Pharmacology**, v. 83, p. 217-222, 2009.

ALCHETRON. Estrutura do receptor 5-HT₃. Disponível em URL de acesso: <https://alchetron.com>. Acesso em Janeiro de 2020.

ALHAIDER, A. A.; LEI, S. Z.; WILCOX, G. L. Spinal 5-HT₃ receptor-mediated antinociception: possible release of GABA. **Journal of Neuroscience**, v. 11, n. 7, p. 1881-1888, 1991.

ALVES, G. J., VISMARI, L., FLORIO, J. C., PALERMO-NETO, J. Cohabitation with a sick cage mate: effects on noradrenaline turnover and neutrophil activity. **Neuroscience research**, v. 56, n. 2, p. 172-179, 2006.

AMARAL, D. G.; BASSETT, J. L. Cholinergic innervation of the monkey amygdala: an immunohistochemical analysis with antisera to choline acetyltransferase. **Journal of comparative Neurology**, v. 281, n. 3, p. 337-361, 1989.

AMARAL, D. G.; INSAUSTI, R. Retrograde transport of D-[3 H]-aspartate injected into the monkey amygdaloid complex. **Experimental brain research**, v. 88, n. 2, p. 375-388, 1992.

ANDRE, C. M.; HAUSMAN, J. F.; GUERRIERO, G. Cannabis sativa: the plant of the thousand and one molecules. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 19, 2016.

ARGYROPOULOS, S. V.; NUTT, D. J. Neurochemical aspects of anxiety. **Anxiety disorders. Blackwell, Oxford**, p. 183-199, 2003.

AZIMARAGHI, O.; AGHAJANI, Y.; MOLAGHADIMI, M.; KHOSRAVI, M.; ESLAMI, K.; GHADIMI, F.; MOVAFEGH, A. Ondansetron reducing pain on injection of etomidate: a controlled randomized study. **Brazilian Journal of Anesthesiology** v. 64, p. 169-172, 2014.

BALAKRISHNAN, S.; BHARGAVA, V. K.; PANDHI, P. Anticonvulsant profile of ondansetron in rats. **Epilepsy & Behavior**, v. 1, n. 1, p. 22-26, 2000.

BAPTISTA, D.; BUSSADORI, K.; NUNES-DE-SOUZA, R. L.; CANTO-DE-SOUZA, A. Blockade of fear-induced antinociception with intra-amygdala infusion of midazolam: influence of prior test experience. **Brain research**, v. 1294, p. 29-37, 2009.

BAPTISTA-DE-SOUZA, D.; NUNCIATO, A. C.; PEREIRA, B. C.; FACHINNI, G.; ZANIBONI, C. R.; CANTO-DE-SOUZA, A. Mice undergoing neuropathic pain induce anxiogenic-like effects and hypernociception in cagemates. **Behavioral pharmacology**, v. 267, p. 664-672, 2015.

BAPTISTA-DE-SOUZA, D.; PELARIN, V.; CANTO-DE-SOUZA, L.; NUNES-DE-SOUZA, R. L.; CANTO-DE-SOUZA, A. Interplay between 5-HT_{2C} and 5-HT_{1A} receptors in the dorsal periaqueductal gray in the modulation of fear-induced antinociception in mice. **Neuropharmacology**, v. 140, p. 100-106, 2018.

BAPTISTA-DE-SOUZA, D.; TAVARES, L. R. R.; FURUYA-DA-CUNHA, E. M.; CARNEIRO DE OLIVEIRA, P. E.; CANTO-DE-SOUZA, L.; NUNES-DE-SOUZA, R. L.; CANTO-DE-SOUZA, A. Chronic fluoxetine impairs the effects of 5-HT_{1A} and 5-HT_{2C} receptors activation in the PAG and Amygdala on antinociception induced by aversive situation in mice. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, p. 260, 2020.

BARANN, M.; MOLDERINGS, G.; BRÜSS, M.; BÖNISCH, H.; URBAN, B. W.; GÖTHERT, M. Direct inhibition by cannabinoids of human 5-HT_{3A} receptors: probable involvement of an allosteric modulatory site. **British journal of pharmacology**, v. 137, n. 5, p. 589-596, 2002.

BARBALHO, C. A.; NUNES-DE-SOUZA, R. L.; CANTO-DE-SOUZA, A. Similar anxiolytic-like effects following intra-amygdala infusions of benzodiazepine receptor agonist and antagonist: evidence for the release of an endogenous benzodiazepine inverse agonist in mice exposed to elevated plus-maze test. **Brain research**, v. 1267, p. 65-76, 2009.

BARTAL, I. B. A.; DECETY, J.; MASON, P. Empathy and pro-social behavior in rats. **Science**, v. 334, n. 6061, p. 1427-1430, 2011.

BARTAL, I. B. A.; RODGERS, D. A.; SARRIA, M. S. B.; DECETY, J.; MASON, P. Pro-social behavior in rats is modulated by social experience. **Elife**, v. 3, p. e01385, 2014.

BARTAL, I. B. A.; SHAN, H.; MOLASKY, N. M.; MURRAY, T. M.; WILLIAMS, J. Z., DECETY, J.; MASON, P. Anxiolytic treatment impairs helping behavior in rats. **Frontiers in psychology**, v. 7, p. 850, 2016.

BASBAUM, A. I.; BAUTISTA, D. M.; SCHERRER, G.; JULIUS, D. Cellular and molecular mechanisms of pain. **Cell**, v. 139, n. 2, p. 267-284, 2009.

BENEDETTI, F.; BERNASCONI, A.; BOSIA, M.; CAVALLARO, R.; DALLASPEZIA, S.; FALINI, A.; SMERALDI, E. Functional and structural brain correlates of theory of mind and empathy deficits in schizophrenia. **Schizophrenia research**, v. 114, n. 1-3, p. 154-160, 2009.

BENNETT G.J.; XIE Y.K. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. **Pain** v. 33, p. 87-107, 1988.

BERNHARDT, Boris C.; SINGER, Tania. The neural basis of empathy. **Annual review of neuroscience**, v. 35, p. 1-23, 2012.

BLANCHARD, D. C.; MEYZA, K. Risk assessment and serotonin: animal models and human psychopathologies. **Behavioural brain research**, v. 357, p.9-17, 2019.

BLUCK, S.; BARON, J. M.; AINSWORTH, S. A.; GESSELMAN, A. N.; GOLD, K. L. Eliciting empathy for adults in chronic pain through autobiographical memory sharing. **Applied Cognitive Psychology**, v. 27, n. 1, p. 81-90, 2013.

BODOR, Á. L.; KATONA, I.; NYÍRI, G.; MACKIE, K.; LEDENT, C.; HÁJOS, N.; FREUND, T. F. Endocannabinoid signaling in rat somatosensory cortex: laminar differences and involvement of specific interneuron types. **Journal of Neuroscience**, v. 25, p. 6845-6856, 2005.

BOLLES, R.C.; FANSELOW, M. S. A perceptual-defensive-recuperative model of fear and pain. **Behavioral and Brain Sciences**, v. 3, n. 2, p. 291-301, 1980.

BORSOOK, D.; BECERRA, L. Emotional pain without sensory pain—dream on? **Neuron**, v. 61, n. 2, p. 153-155, 2009.

BOWSHER, D. The lifetime occurrence of herpes zoster and prevalence of post-herpetic neuralgia: a retrospective survey in an elderly population. **European journal of pain**, v. 3, n. 4, p. 335-342, 1999.

BUCHANAN, T.W.; BAGLEY, S.L.; STANSFIELD, R.B.; PRESTON, S.D. The empathic, physiological resonance of stress. **Social neuroscience**, v. 7, p.191-201, 2012.

BURSTEIN, S. Cannabidiol (CBD) and its analogs: a review of their effects on inflammation. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 23, n. 7, p. 1377-1385, 2015.

BUSHNELL, M. C.; ČEKO, M.; LOW, L. A. Cognitive and emotional control of pain and its disruption in chronic pain. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 14, n. 7, p. 502-511, 2013.

CAMPOS, A. C.; GUIMARÃES, F. S. Involvement of 5HT1A receptors in the anxiolytic-like effects of cannabidiol injected into the dorsolateral periaqueductal gray of rats. **Psychopharmacology**, v. 199, n. 2, p. 223, 2008.

CANTO-DE-SOUZA, A.; NUNES-DE-SOUZA, R. L.; PELÁ, I. R.; GRAEFF, F. G. High intensity social conflict in the Swiss albino mouse induces analgesia modulated by 5-HT1A receptors. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 56, p. 481–486, 1997.

CANTO-DE-SOUZA, A.; NUNES-DE-SOUZA, R. L.; PELÁ, I. R.; GRAEFF, F. G. Involvement of the midbrain periaqueductal gray 5-HT1A receptors in social conflict induced analgesia in mice. **European J Pharmacology**, v. 345, p. 253–256, 1998.

CANTO-DE-SOUZA, A.; NUNES-DE-SOUZA, R. L.; RODGERS, R. J. Anxiolytic-like effect of WAY-100635 microinfusions into the median (but not dorsal) raphe nucleus in mice exposed to the plus-maze: influence of prior test experience. **Brain research**, v. 928, n. 1-2, p. 50-59, 2002.

CAO, G.; KURIYAMA, S.; SAKAMOTO, T. A Complete regression of established murine hepatocellular carcinoma by in vivo tumor necrosis factor alpha gene transfer. **Gastroenterology**, v. 112, n. 2, p. 501-510, 1997.

CARHART-HARRIS, R.L., NUTT, D.J. Serotonin and brain function: a tale of two receptors. **J Psychopharmacol.** v. 31, p. 1091-1120, 2017

CARMONA, I.M., BAPTISTA-DE-SOUZA, D., A. CANTO-DE-SOUZA. Anxiogenic-like behaviors induced by living with a conspecific in neuropathic pain condition are attenuated by systemic injection of midazolam in mice. **The Journal of Pain**, v. 17, p. S58-S59, 2016.

CASCIO, M. G.; PERTWEE, R. G.; MARINI, P. The pharmacology and therapeutic potential of plant cannabinoids. In: **Cannabis sativa L.-Botany and Biotechnology**. Springer, Cham, p. 207-225, 2017.

CATTANEO, L.; RIZZOLATTI, G. The mirror neuron system. **Archives of neurology**, v. 66, n. 5, p. 557-560, 2009.

CEZAR, G. B.; CARMONA, I. M.; SOUZA, A. C. Chemical inactivation of the insula produces anxiolytic-like effect in mice exposed to the model of empathy for pain. **49th Annual Meeting of the Society for Neuroscience**, Chicago, EUA, 2019.

CHARMAN, T., SWETTENHAM, J., BARON-COHEN, S., COX, A., BAIRD, G., & DREW, A. Infants with autism: An investigation of empathy, pretend play, joint attention, and imitation. **Developmental psychology**, v. 33, n. 5, p. 781, 1997.

CHEN, Y.; OATWAY, M. A.; WEAVER, L. C. Blockade of the 5-HT₃ receptor for days causes sustained relief from mechanical allodynia following spinal cord injury. **Journal of neuroscience research**, v. 87, n. 2, p. 418-424, 2009.

CHIBA, S.; NISHIYAMA, T.; YOSHIKAWA, M.; YAMADA, Y. The antinociceptive effects of midazolam on three different types of nociception in mice. **Journal of pharmacological sciences**, v. 109, p. 71-77, 2009.

CHIERCHIA, G.; SINGER, T. The neuroscience of compassion and empathy and their link to prosocial motivation and behavior. **Decision neuroscience. Academic Press**, p. 247-257, 2017.

CONNELL, K.; BOLTON, N.; OLSEN, D.; PIOMELLI, D.. HOHMANN, A. G. Role of the basolateral nucleus of the amygdala in endocannabinoid-mediated stress-induced analgesia. **Neuroscience letters**, v. 397, p. 180-184, 2006.

COSTA, B.; COLLEONI, M.; CONTI, S.; TROVATO, A. E.; BIANCHI, M.; SOTGIU, M. L.; GIAGNONI, G. Repeated treatment with the synthetic cannabinoid WIN 55,212-2 reduces both hyperalgesia and production of pronociceptive mediators in a rat model of neuropathic pain. **British journal of pharmacology**, v. 141, n. 1, p. 4-8, 2004.

COSTA, B.; TROVATO, A. E.; COMELLI, F.; GIAGNONI, G.; COLLEONI, M. The non-psychoactive cannabis constituent cannabidiol is an orally effective therapeutic agent in rat chronic inflammatory and neuropathic pain. **European journal of pharmacology**, v. 556, n. 1-3, p. 75-83, 2007.

COSTA-PEREIRA, J. T.; SERRÃO, P.; MARTINS, I.; TAVARES, I. Serotonergic pain modulation from the rostral ventromedial medulla (RVM) in chemotherapy-induced neuropathy: The role of spinal 5-HT₃ receptors. **European Journal of Neuroscience**, v. 51, n. 8, p. 1756-1769, 2020. .

CRAIG, A. D.; CRAIG, A. D. How do you feel-now? The anterior insula and human awareness. **Nature reviews neuroscience**, v. 10, n. 1, 2009.

CRESTANI, C. C.; ALVES, F. H.; GOMES, F. V.; RESSTEL, L.; CORREA, F.; HERMAN, J. P. Mechanisms in the bed nucleus of the stria terminalis involved in control of autonomic and neuroendocrine functions: a review. **Current neuropharmacology**, v. 11, n. 2, p. 141-159, 2013.

DALE, E.; GRUNNET, M.; PEHRSON, A. L.; FREDERIKSEN, K.; LARSEN, P. H.; NIELSEN, J.; LIU, H. The multimodal antidepressant vortioxetine may facilitate pyramidal cell firing by inhibition of 5-HT₃ receptor expressing interneurons: An in vitro study in rat hippocampus slices. **Brain research**, v. 1689, p. 1-11, 2018.

DAVIES, P. A. Allosteric modulation of the 5-HT₃ receptor. **Current opinion in pharmacology**, v. 11, n. 1, p. 75-80, 2011.

DAVIS, M. H. Measuring individual differences in empathy: Evidence for a multidimensional approach. **Journal of personality and social psychology**, v. 44, n. 1, p. 113, 1983.

DE GREGORIO, D.; MCLAUGHLIN, R. J.; POSA, L.; OCHOA-SANCHEZ, R.; ENNS, J.; LOPEZ-CANUL, M.; GOBBI, G. Cannabidiol modulates serotonergic transmission and reverses both allodynia and anxiety-like behavior in a model of neuropathic pain. **Pain**, v. 160, p. 136, 2019.

DE OLIVEIRA, P. C.; ZANIBONI, C. R.; CARMONA, I. M.; FONSECA, A. R.; CANTO-DE-SOUZA, A. Preliminary behavioral assessment of cagemates living with conspecifics submitted to chronic restraint stress in mice. **Neuroscience letters**, v. 657, p. 204-210, 2017.

DE PETROCELLIS, L. De; CASCIO, M. G; MARZO, V. D. The endocannabinoid system: a general view and latest additions. **British journal of pharmacology**, v. 141, n. 5, p. 765-774, 2004.

DE PETROCELLIS, L.; LIGRESTI, A.; MORIELLO, A. S.; ALLARÀ, M.; BISOGNO, T.; PETROSINO, S.; DI MARZO, V. Effects of cannabinoids and cannabinoid-enriched *Cannabis* extracts on TRP channels and endocannabinoid metabolic enzymes. **British journal of pharmacology**, v. 163, n. 7, p. 1479-1494, 2011.

DEAKIN, J. F W.; GRAEFF, F. G. 5-HT and mechanisms of defence. **Journal of psychopharmacology**, v. 5, n. 4, p. 305-315, 1991.

DECETY, J.; JACKSON, P. L. The functional architecture of human empathy. **Behavioral and cognitive neuroscience reviews**, v. 3, n. 2, p. 71-100, 2004.

DECETY, J.; SVETLOVA, M. Putting together phylogenetic and ontogenetic perspectives on empathy. **Developmental cognitive neuroscience**, v. 2, n. 1, p. 1-24, 2012.

DELL'OSSO, L.; CARMASSI, C.; MUCCI, F.; MARAZZITI, D. Depression, serotonin and tryptophan. **Current pharmaceutical design**, v. 22, n. 8, p. 949-954, 2016.

DeLUCIA, R.; PLANETA, C.; GALLACCI, M.; AVELLAR, M.; OLIVEIRA FILHO, R. M. **Farmacologia Integrada: Uso racional de medicamentos**. Clube dos Autores, 2014.

DENG, L.; CORNETT, B. L.; MACKIE, K.; HOHMANN, A. G. CB1 knockout mice unveil sustained CB2-mediated antiallodynic effects of the mixed CB1/CB2 agonist CP55, 940 in a mouse model of paclitaxel-induced neuropathic pain. **Molecular pharmacology**, v. 88, n. 1, p. 64-74, 2015.

DEVANE, W. A.; DYSARZ, F.; JOHNSON, M. R.; MELVIN, L. S.; HOWLETT, A. C. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. **Molecular pharmacology**, v. 34, n. 5, p. 605-613, 1988.

DEVANE, W. A.; HANUS, L.; BREUER, A.; PERTWEE, R. G.; STEVENSON, L. A.; GRIFFIN, G.; MECHOULAM, R. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. **Science**, v. 258, n. 5090, p. 1946-1949, 1992.

DHOPESHWARKAR, A.; MACKIE, K. CB2 Cannabinoid receptors as a therapeutic target—what does the future hold?. **Molecular pharmacology**, v. 86, n. 4, p. 430-437, 2014.

DI MARZO, V.; BIFULCO, M.; DE PETROCELLIS, L. The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation. **Nature reviews Drug discovery**, v. 3, n. 9, p. 771-784, 2004.

D'MELLO, R.; DICKENSON, A. H. Spinal cord mechanisms of pain. **British journal of anaesthesia**, v. 101, n. 1, p. 8-16, 2008.

DOGRUL, A.; OSSIPOV, M. H.; PORRECA, F. Differential mediation of descending pain facilitation and inhibition by spinal 5HT-3 and 5HT-7 receptors. **Brain research**, v. 1280, p. 52-59, 2009.

DONVITO, G.; NASS, S. R.; WILKERSON, J. L.; CURRY, Z. A.; SCHURMAN, L. D.; KINSEY, S. G.; LICHTMAN, A. H. The endogenous cannabinoid system: a budding source of targets for treating inflammatory and neuropathic pain. **Neuropsychopharmacology**, v. 43, p. 52-79, 2018.

DRAY, A. Inflammatory mediators of pain. **British journal of anaesthesia**, v. 75, n. 2, p. 125-131, 1995.

DUKAT, M.; ABDEL-RAHMAN, A. A.; ISMAIEL, A. M.; INGHER, S.; TEITLER, M.; GYERMEK, L.; GLENNON, R. A. Structure–activity relationships for the binding of arylpiperazines and arylbiguanides at 5-HT₃ serotonin receptors. **Journal of medicinal chemistry**, v. 39, p. 4017-4026, 1996.

EGUCHI, J.; INOMATA, Y.; SAITO, K. The anxiolytic-like effect of MCI-225, a selective NA reuptake inhibitor with 5-HT₃ receptor antagonism. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 68, n. 4, p. 677-683, 2001.

EL-GUEBALY, N.; SAREEN, J.; STEIN, M. B. Are there guidelines for the responsible prescription of benzodiazepines? **The Canadian Journal of Psychiatry**, v. 55, n. 11, p. 709-714, 2010.

ELHWUEGI, A. S. Central monoamines and their role in major depression. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 28, n. 3, p. 435-451, 2004.

ELHWUEGI, A. S. Central monoamines and their role in major depression. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 28, p. 435-451, 2004.

FAERBER, L.; DRECHSLER, S.; LADENBURGER, S.; GSCHAIEMEIER, H.; FISCHER, W. The neuronal 5-HT₃ receptor network after 20 years of research—evolving concepts in management of pain and inflammation. **European journal of pharmacology**, v. 560, n. 1, p. 1-8, 2007.

FAN, P. Cannabinoid agonists inhibit the activation of 5-HT₃ receptors in rat nodose ganglion neurons. **Journal of neurophysiology**, v. 73, n. 2, p. 907-910, 1995.

FELDER, C. C.; JOYCE, K. E.; BRILEY, E. M.; GLASS, M.; MACKIE, K. P.; FAHEY, K. J.; KOPPEL, G. A. LY320135, a novel cannabinoid CB₁ receptor antagonist, unmasks coupling of the CB₁ receptor to stimulation of cAMP accumulation. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 284, p. 291-297, 1998.

FÉRÉZOU, I.; CAULI, B.; HILL, E. L.; ROSSIER, J.; HAMEL, E.; LAMBOLEZ, B. 5-HT₃ receptors mediate serotonergic fast synaptic excitation of neocortical vasoactive intestinal peptide/cholecystokinin interneurons. **Journal of Neuroscience**, v. 22, p. 7389-7397, 2002.

FERRARI, D. P. F.; CANTO-DE-SOUZA, A. Role of 5-HT₃ receptors in the modulation of nociceptive response in mice subjected to the model of empathy for pain. **2° FALAN CONGRESS**. Buenos Aires, Argentina, 2016.

FIELDS, HOWARD L.; HEINRICHER, MARY M.; MASON, PEGGY. Neurotransmitters in nociceptive modulatory circuits. **Annual Review of Neuroscience**, v. 14, n. 1, p. 219-245, 1991.

FIELDS, H. L. Pain: an unpleasant topic. **Pain**, v. 82, p. S61-S69, 1999.

FIELDS, H. State-dependent opioid control of pain. **Nature Review Neuroscience**, v. 5, p. 565–575, 2004.

FRERKER, B.; ROHDE, M.; MÜLLER, S.; BIEN, C. G.; KÖHLING, R.; KIRSCHSTEIN, T. Distinct effects of stereotactically injected human cerebrospinal fluid containing glutamic acid decarboxylase antibodies into the hippocampus of rats on the development of spontaneous epileptic activity. **Brain Sciences**, v. 10, n. 2, p. 123, 2020.

FUKUSHIMA, T.; OHTSUBO, T.; TSUDA, M.; YANAGAWA, Y.; HORI, Y. Facilitatory actions of serotonin type 3 receptors on GABAergic inhibitory synaptic transmission in the spinal superficial dorsal horn. **Journal of neurophysiology**, v. 102, p. 1459-1471, 2009.

FUNAHASHI, M.; MITOH, Y.; MATSUO, R. Activation of presynaptic 5-HT. **Methods Find Exp Clin Pharmacol**, v. 26, n. 8, p. 615-622, 2004.

FURUYA-DA-CUNHA, E. M.; DE SOUZA, R. R.; CANTO-DE-SOUZA, A. Rat exposure in mice with neuropathic pain induces fear and antinociception that is not reversed by 5-HT_{2C} receptor activation in the dorsal periaqueductal gray. **Behavioural Brain Research**, v. 307, p. 250-257, 2016.

GALDURÓZ, J. C. F.; NOTO, A. R.; NAPPO, S. A.; CARLINI, E. A. Uso de drogas psicotrópicas no Brasil: pesquisa domiciliar envolvendo as 107 maiores cidades do país. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 13, p. 888-895, 2005.

GALLESE, V.; KEYSERS, C.; RIZZOLATTI, G. A unifying view of the basis of social cognition. **Trends in cognitive sciences**, v. 8, n. 9, p. 396-403, 2004.

GALLUZZI, K. E. Managing neuropathic pain. **The Journal of the American Osteopathic Association**, v. 107, n.6, p. 39-48, 2007.

GAONI, Y.; MECHOULAM, R. Isolation, structure, and partial synthesis of an active constituent of hashish. **Journal of the American chemical society**, v. 86, n. 8, p. 1646-1647, 1964.

GARBER J.C.; BARBEE R.W.; BIELITZKI J.T.; CLAYTON L.A.; DONOVAN J.C.; HENDRIKSEN C.F.; KOHN D.F.; LIPMAN N.S.; LOCKE P.A.; MELCHER J.; QUIMBY F.W.; TURNER P.V.; WOOD G.A. WÜRBEL H: National Research Council (US) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Guide for the care and use of laboratory animals. 8th edition. Washington (DC): **National Academies Press**, 2011.

GARCIA A. M.; CARDENAS F.P.; MORATO S. Effect of different illumination levels on rat behavior in the elevated plus-maze. **Physiol. Behavioural**, v. 30, p. 265–270, 2005.

GENARO, K.; FABRIS, D.; ARANTES, A. L.; ZUARDI, A. W.; CRIPPA, J. A.; PRADO, W. A. Cannabidiol is a potential therapeutic for the affective-motivational dimension of incision pain in rats. **Frontiers in Pharmacology**, v. 8, p. 391, 2017.

GEWANDTER, J. S.; DWORKIN, R. H.; TURK, D. C.; MCDERMOTT, M. P.; BARON, R.; GASTONGUAY, M. R.; SENN, S. Research designs for proof-of-concept chronic pain clinical trials: IMMPACT recommendations. **PAIN®**, v. 155, n. 9, p. 1683-1695, 2014.

GIORDANO, J.; DALEO, C.; SACKS, S. M. Topical ondansetron attenuates nociceptive and inflammatory effects of intradermal capsaicin in humans. **European journal of pharmacology**, v. 354, p. 13-14, 1998.

GODLEWSKI, G.; GÖTHERT, M.; MALINOWSKA, B. Cannabinoid receptor-independent inhibition by cannabinoid agonists of the peripheral 5-HT₃ receptor-mediated von Bezold–Jarisch reflex. **British journal of pharmacology**, v. 138, n. 5, p. 767-774, 2003.

GODOY-MATOS, A. F. D.; GUEDES, E. P.; SOUZA, L. L. D.; VALÉRIO, C. M. O sistema endocanabinóide: novo paradigma no tratamento da síndrome metabólica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 50, n. 2, p. 390-399, 2006.

GONÇALVES, L.; DICKENSON, A. H. Asymmetric time-dependent activation of right central amygdala neurones in rats with peripheral neuropathy and pregabalin modulation. **European Journal of Neuroscience**, v. 36, n. 9, p. 3204-3213, 2012.

GOMES, F. V.; RESSTEL, L. B. M; GUIMARÃES, F. S. The anxiolytic-like effects of cannabidiol injected into the bed nucleus of the stria terminalis are mediated by 5-HT_{1A} receptors. **Psychopharmacology**, v. 213, n. 2-3, p. 465-473, 2011.

GOMES, F. V.; REIS, D. G.; ALVES, F. H.; CORRÊA, F. M.; GUIMARAES, F. S.; RESSTEL, L. B. Cannabidiol injected into the bed nucleus of the stria terminalis reduces the expression of contextual fear conditioning via 5-HT_{1A} receptors. **Journal of psychopharmacology**, v. 26, n. 1, p. 104-113, 2012.

GOUBERT, L.; CRAIG, K. D.; VERVOORT, T.; MORLEY, S.; SULLIVAN, M. J. L.; DE CAC, W.; CROMBEZ, G. Facing others in pain: the effects of empathy. **Pain**, v. 118, n. 3, p. 285-288, 2005.

GU, X.; EILAM-STOCK, T.; ZHOU, T.; ANAGNOSTOU, E.; KOLEVZON, A.; SOORYA, L.; FAN, J. Autonomic and brain responses associated with empathy deficits in autism spectrum disorder. **Human brain mapping**, v. 36, n. 9, p. 3323-3338, 2015.

GU, X.; GAO, Z.; WANG, X.; LIU, X.; KNIGHT, R. T.; HOF, P. R.; FAN, J. Anterior insular cortex is necessary for empathetic pain perception. **Brain**, v. 135, n. 9, p. 2726-2735, 2012.

GUIDOTTI, A.; BARALDI, M.; LEON, A.; COSTA, E. Benzodiazepines: a tool to explore the biochemical and neurophysiological basis of anxiety. In: **Federation proceedings**, p. 3039, 1980.

GUINDON, J.; HOHMANN, A. G. The endocannabinoid system and pain. **CNS & Neurological Disorders-Drug Targets**, v. 8, n. 6, p. 403-421, 2009.

GULYÁS, A. I.; ACSÁDY, L.; FREUND, T. F. Structural basis of the cholinergic and serotonergic modulation of GABAergic neurons in the hippocampus. **Neurochemistry international**, v. 34, n. 5, p. 359-372, 1999.

HADJISTAVROPOULOS, T.; CRAIG, K. D.; DUCK, S.; CANO, A.; GOUBERT, L.; JACKSON, P. L.; VERVOORT, T. A. biopsychosocial formulation of pain communication. **Psychological bulletin**, v. 137, n. 6, p. 910, 2011.

- HAEFELY, W.; MARTIN, J. R.; SCHOCH, P. Novel anxiolytics that act as partial agonists at benzodiazepine receptors. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 11, n. 11, p. 452-456, 1990.
- HÁJOS, N.; LEDENT, C.; FREUND, T. F. Novel cannabinoid-sensitive receptor mediates inhibition of glutamatergic synaptic transmission in the hippocampus. **Neuroscience**, v. 106, p. 1-4, 2001.
- HAN, J. S.; NEUGEBAUER, V. Synaptic plasticity in the amygdala in a visceral pain model in rats. **Neuroscience letters**, v. 361, n. 1-3, p. 254-257, 2004.
- HANNA, M. C.; DAVIES, P. A.; HALES, T. G.; KIRKNESS, E. F. Evidence for expression of heteromeric serotonin 5-HT₃ receptors in rodents. **Journal of neurochemistry**, v. 75, n. 1, p. 240-247, 2000.
- HANNON, J.; HOYER, D. Molecular biology of 5-HT receptors. **Behavioural brain research**, v. 195, n. 1, p. 198-213, 2008.
- HASSAINE, G.; DELUZ, C.; LI, X. D.; GRAFF, A.; VOGEL, H.; NURY, H. Large scale expression and purification of the mouse 5-HT₃ receptor. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes**, v. 1828, n. 11, p. 2544-2552, 2013.
- HEIN, G.; SILANI, G.; PREUSCHOFF, K.; BATSON, C. D.; SINGER, T. Neural responses to ingroup and outgroup members' suffering predict individual differences in costly helping. **Neuron**, v. 68, n. 1, p. 149-160, 2010.
- HEINRICHER, M. M.; MCGARAUGHTY, S.; FARR, D. A. The role of excitatory amino acid transmission within the rostral ventromedial medulla in the antinociceptive actions of systemically administered morphine. **Pain**, v. 81, n. 1-2, p. 57-65, 1999.
- HEINRICHER, M. M.; TAVARES, I.; LEITH, J. L.; LUMB, B. M. Descending control of nociception: specificity, recruitment and plasticity. **Brain research reviews**, v. 60, n. 1, p. 214-225, 2009.
- HERZBERG, U.; ELIAV, E.; BENNETT, G. J.; KOPIN, I. J. The analgesic effects of R (+)-WIN 55,212-2 mesylate, a high affinity cannabinoid agonist, in a rat model of neuropathic pain. **Neuroscience letters**, v. 221, n. 2-3, p. 157-160, 1997.
- HILL, K. P.; PALASTRO, M. D.; JOHNSON, B.; DITRE, J. W. Cannabis and pain: a clinical review. **Cannabis and cannabinoid research**, v. 2, n. 1, p. 96-104, 2017.
- HOWLETT, A. C.; BREIVOGEL, C. S.; CHILDERS, S. R.; DEADWYLER, S. A.; HAMPSON, R. E.; PORRINO, L. J. Cannabinoid physiology and pharmacology: 30 years of progress. **Neuropharmacology**, v. 47, p. 345-358, 2004.
- HOYER, D.; HANNON, J. P.; MARTIN, GRAEME, R. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 71, n. 4, p. 533-554, 2002.

HOYER, D.; MARTIN, G. 5-HT receptor classification and nomenclature: towards a harmonization with the human genome. **Neuropharmacology**, v. 36, n. 4-5, p. 419-428, 1997.

HUANG, Z. J.; SCHEIFFELE, P. GABA and neuroligin signaling: linking synaptic activity and adhesion in inhibitory synapse development. **Current opinion in neurobiology**, v. 18, n. 1, p. 77-83, 2008.

HUTCHISON, W. D.; DAVIS, K. D.; LOZANO, A. M.; TASKER, R. R.; DOSTROVSKY, J. O. Pain-related neurons in the human cingulate cortex. **Nature neuroscience**, v. 2, n. 5, p. 403-405, 1999.

HUYSER, B. A.; PARKER, J. C. Negative affect and pain in arthritis. **Rheumatic Disease Clinics of North America**, v. 25, n. 1, p. 105-121, 1999.

IASP, Subcommittee on Taxonomy. Pain terms: a list with definitions and notes on usage. Recommended by the IASP Subcommittee on Taxonomy. **PAIN**, v. 6, p. 52, 1979.

IASP, IASP Public Comment Policy. Available at: www.iasp-pain.org. Acesso Setembro. 2020.

IKRAM, H.; TASNEEM, S.; PERVEEN, S.; HALEEM, D. J. Neurochemical and behavioral effects of midazolam: A dose related study. Pakistan **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 33, 2020.

JENNINGS, E. M.; OKINE, B. N.; ROCHE, M.; FINN, D. P. Stress-induced hyperalgesia. **Progress in neurobiology**, v. 121, p. 1-18, 2014.

JEON, D.; KIM, S.; CHETANA, M.; JO, D.; RULEY, H. E.; LIN, S. Y.; SHIN, H. S. Observational fear learning involves affective pain system and Ca^v1.2 Ca²⁺ channels in ACC. **Nature neuroscience**, v. 13, n. 4, p. 482, 2010.

JI, G.; FU, Y.; RUPPERT, K. A.; NEUGEBAUER, V. Pain-related anxiety-like behavior requires CRF1 receptors in the amygdala. **Molecular pain**, v. 3, n. 1, p. 13, 2007.

JI, G.; NEUGEBAUER, V. Hemispheric lateralization of pain processing by amygdala neurons. **Journal of neurophysiology**, v. 102, n. 4, p. 2253-2264, 2009.

JULIUS, D.; BASBAUM, A. I. Molecular mechanisms of nociception. **Nature**, v. 413, n. 6852, p. 203-210, 2001.

KANDEL, E. R.; SCHWARTZ J. H.; JESSELL, T. M. Department of Biochemistry and Molecular Biophysics Thomas Jessell, Siegelbaum, S., & Hudspeth, A. J. **Principles of neural science**, v. 4, p. 1227-1246, 2000.

KATSURABAYASHI, S.; KUBOTA, H.; TOKUTOMI, N.; AKAIKE, N. A distinct distribution of functional presynaptic 5-HT receptor subtypes on GABAergic nerve terminals projecting to single hippocampal CA1 pyramidal neurons. **Neuropharmacology**, v. 44, n. 8, p. 1022-1030, 2003.

KATSURABAYASHI, S.; KUBOTA, H.; TOKUTOMI, N.; AKAIKE, N. A distinct distribution of functional presynaptic 5-HT receptor subtypes on GABAergic nerve terminals projecting to single hippocampal CA1 pyramidal neurons. **Neuropharmacology**, v. 44, p. 1022-1030, 2003.

KAWAMATA, T.; OMOTE, K.; TORIYABE, M.; YAMAMOTO, H.; NAMIKI, A. The activation of 5-HT₃ receptors evokes GABA release in the spinal cord. **Brain research**, v. 978, n. 1-2, p. 250-255, 2003.

KENNEDY, D. P.; ADOLPHS, Ralph. The social brain in psychiatric and neurological disorders. **Trends in cognitive sciences**, v. 16, n. 11, p. 559-572, 2012.

KEYSERS, C.; WICKER, B.; GAZZOLA, V.; ANTON, J. L.; FOGASSI, L.; GALLESE, V. A touching sight: SII/PV activation during the observation and experience of touch. **Neuron**, v. 42, n. 2, p. 335-346, 2004.

KILPATRICK, G. J.; BUNCE, K. T.; TYERS, M. B. 5-HT₃ receptors. **Medicinal research reviews**, v. 10, p. 441-475, 1990.

KIM, B. S.; LEE, J.; BANG, M.; AM SEO, B.; KHALID, A.; JUNG, M. W.; JEON, D. Differential regulation of observational fear and neural oscillations by serotonin and dopamine in the mouse anterior cingulate cortex. **Psychopharmacology**, v. 231, n. 22, p. 4371-4381, 2014.

KING, G. R.; XIONG, Z.; DOUGLASS, S.; ELLINWOOD JR, E. H. Long-term blockade of the expression of cocaine sensitization by ondansetron, a 5-HT₃ receptor antagonist. **European journal of pharmacology**, v. 394, p. 97-101, 2000.

KING, K. M.; MYERS, A. M.; SOROKA-MONZO, A. J.; TUMA, R. F.; TALLARIDA, R. J.; WALKER, E. A.; WARD, S. J. Single and combined effects of Δ^9 -tetrahydrocannabinol and cannabidiol in a mouse model of chemotherapy-induced neuropathic pain. **British journal of pharmacology**, v. 174, p. 2832-2841, 2017.

KINSEY, S. G.; MAHADEVAN, A.; ZHAO, B.; SUN, H.; NAIDU, P. S.; RAZDAN, R. K.; LICHTMAN, A. H. The CB₂ cannabinoid receptor-selective agonist O-3223 reduces pain and inflammation without apparent cannabinoid behavioral effects. **Neuropharmacology**, v. 60, n. 2-3, p. 244-251, 2011.

KLEIN R.L.; SANNA E.; MCQUILKIN S.J.; WHITING P.J.; HARRIS R.A. Effects of 5-HT₃ receptor antagonists on binding and function of mouse and human GABA_A receptors. **European Journal of Pharmacology: Molecular Pharmacology**, v. 268, n. 2, p. 237-246, 1994.

KOLTZENBURG, M.; WAHREN, L. K.; TOREBJÖRK, H. E. Dynamic changes of mechanical hyperalgesia in neuropathic pain states and healthy subjects depend on the ongoing activity of unmyelinated nociceptive afferents. **Pflügers Archiv**, p. 52, 1992.

KOMHOFF, M.; GRONE, H. J.; KLEIN, T.; SEYBERTH, H. W.; NUSING, R. M. Localization of cyclooxygenase-1 and-2 in adult and fetal human kidney: implication for renal function. **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, v. 272, n. 4, p. F460-F468, 1997.

KOYAMA, S.; KUBO, C.; RHEE, J. S.; AKAIKE, N. Presynaptic serotonergic inhibition of GABAergic synaptic transmission in mechanically dissociated rat basolateral amygdala neurons. **The Journal of physiology**, v. 518, n. 2, p. 525-538, 1999.

KOYAMA, S.; MATSUMOTO, N.; KUBO, C.; AKAIKE, N. Presynaptic 5-HT₃ receptor-mediated modulation of synaptic GABA release in the mechanically dissociated rat amygdala neurons. **The Journal of physiology**, v. 529, p. 373-383, 2000.

KOYAMA, Y.; KONDO, M.; SHIMADA, S. Building a 5-HT_{3A} receptor expression map in the mouse brain. **Scientific reports**, v. 7p. 1-27, 2017.

KRAFT, B.; FRICKEY, N. A.; KAUFMANN, R. M.; REIF, M.; FREY, R.; GUSTORFF, B.; KRESS, H. G. Lack of analgesia by oral standardized cannabis extract on acute inflammatory pain and hyperalgesia in volunteers. **Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists**, v. 109, n. 1, p. 101-110, 2008.

KURASHI, Y.; HARADA, Y.; ARATANI, S.; SATOH, M.; TAKAGI, H. Separate involvement of the spinal noradrenergic and serotonergic systems in morphine analgesia: the differences in mechanical and thermal algesic tests. **Brain research**, v. 273, n. 2, p. 245-252, 1983.

KWAN, C.; FROUNI, I.; BÉDARD, D.; HAMADJIDA, A.; HUOT, P. Ondansetron, a highly selective 5-HT₃ receptor antagonist, reduces L-DOPA-induced dyskinesia in the 6-OHDA-lesioned rat model of Parkinson's disease. **European Journal of Pharmacology**, v. 871, p. 172914, 2020.

LAINE, L.; CANTO-DE-SOUZA, A. Administration of ondansetron in the amygdala of mice produces anxiolytic effect, **I IBRO/LARC Congress of Neurosciences of Latin America, Caribbean and Iberian Peninsula**. 2008.

LAMM, C.; BATSON, Ch D.; DECETY, J. The neural substrate of human empathy: effects of perspective taking and emotion regulation. **J. Cogn. Neurosci**, v. 19, n. 1, p. 42-58, 2007.

LAMM, C.; DECETY, J.; SINGER, T. Meta-analytic evidence for common and distinct neural networks associated with directly experienced pain and empathy for pain. **Neuroimage**, v. 54, n. 3, p. 2492-2502, 2011.

LANDEIRA-FERNANDEZ, J. Efeitos do benzodiazepínico midazolam no labirinto em cruz elevado em linhagens de ratos com traços altos ou baixos de ansiedade. **Tese de Doutorado**. PUC-Rio, 2018.

LANGFORD, D. J.; CRAGER, S. E.; SHEHZAD, Z.; SMITH, S. B.; SOTOCINAL, S. G.; LEVENSTADT, J. S.; MOGIL, J. S. Social modulation of pain as evidence for empathy in mice. **Science**, v. 312, n. 5782, p. 1967-1970, 2006.

LANGFORD, D. J.; TUTTLE, A. H.; BRISCOE, C.; HARVEY-LEWIS, C.; BARAN, I., GLEESON, P.; MOGIL, J. S. Varying perceived social threat modulates pain behavior in male mice. **The Journal of Pain**, v. 12, n. 1, p. 125-132, 2011.

LANGFORD, D. J.; TUTTLE, A. H.; BROWN, K.; DESCHENES, S.; FISCHER, D. B.; MUTSO, A.; STERNBERG, W. F. Social approach to pain in laboratory mice. **Social neuroscience**, v. 5, n. 2, p. 163-170, 2010.

LANGFORD, R. M.; MARES, J.; NOVOTNA, A.; VACHOVA, M.; NOVAKOVA, I.; NOTCUTT, W.; RATCLIFFE, S. A double-blind, randomized, placebo-controlled, parallel-group study of THC/CBD oromucosal spray in combination with the existing treatment regimen, in the relief of central neuropathic pain in patients with multiple sclerosis. **Journal of neurology**, v. 260, p. 984-997, 2013.

LAPRAIRIE, R. B.; BAGHER, A. M.; KELLY, M. E. M.; DENO VAN-WRIGHT, E. M. Cannabidiol is a negative allosteric modulator of the cannabinoid CB1 receptor. **British journal of pharmacology**, v. 172, n. 20, p. 4790-4805, 2015.

LARIVIERE, W. R.; MELZACK, R. The role of corticotropin-releasing factor in pain and analgesia. **Pain**, v. 84, n. 1, p. 1-12, 2000.

LEDOUX, J. E. Emotion circuits in the brain. **Annual review of neuroscience**, v. 23, n. 1, p. 155-184, 2000.

LEE, S.; KIM, S. J.; KWON, O. B.; LEE, J. H.; KIM, J. H. Inhibitory networks of the amygdala for emotional memory. **Frontiers in neural circuits**, v. 7, p. 129, 2013.

LEE, J. L.; BERTOGLIO, L. J.; GUIMARÃES, F. S.; STEVENSON, C. W. Cannabidiol regulation of emotion and emotional memory processing: relevance for treating anxiety-related and substance abuse disorders. **British journal of pharmacology**, v. 174, p. 3242-3256, 2017.

LEHMANN, C.; FISHER, N. B.; TUGWELL, B.; SZCZESNIAK, A.; KELLY, M.; ZHOU, J. Experimental cannabidiol treatment reduces early pancreatic inflammation in type 1 diabetes. **Clinical hemorheology and microcirculation**, v. 64, p. 655-662, 2016.

LEITE-PANISSI, C. R. A.; BRENTGANI, M. R.; MENESCAL-DE-OLIVEIRA, L. Cholinergic-opioidergic interaction in the central amygdala induces antinociception in the guinea pig. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 37, n. 10, p. 1571-1579, 2004.

LEMBECK, F.; GAMSE, R. Substance P in peripheral sensory processes. **Substance P in the nervous system**. Pitman London, p. 35-54, 1982.

- LEMOS, J. I.; RESSTEL, L. B.; GUIMARÃES, F. S. Involvement of the prelimbic prefrontal cortex on cannabidiol-induced attenuation of contextual conditioned fear in rats. **Behavioural brain research**, v. 207, n. 1, p. 105-111, 2010.
- LI, Z. L.; XUE, Y.; TAO, Z. Y.; DU, W. Z.; JIANG, Y. G.; CAO, D. Y. Spinal 5-HT₃ receptor contributes to somatic hyperalgesia induced by sub-chronic stress. **Molecular pain**, v. 15, 2019.
- LIU, X. Effects of group housing on stress induced emotional and neuroendocrine alterations. **Brain research**, v. 1502, p. 71-80, 2013.
- LIU, Z. Y.; ZHUANG, D. B.; LUNDERBERG, T.; YU, L. C. Involvement of 5-hydroxytryptamine_{1A} receptors in the descending anti-nociceptive pathway from periaqueductal gray to the spinal dorsal horn in intact rats, rats with nerve injury and rats with inflammation. **Neuroscience**, v. 112, n. 2, p. 399-407, 2002.
- LODZKI, M.; GODIN, B.; RAKOU, L.; MECHOULAM, R.; GALLILY, R.; TOUITOU, E. Cannabidiol—transdermal delivery and anti-inflammatory effect in a murine model. **Journal of controlled release**, v. 93, p. 377-387, 2003.
- LOGGIA, M. L.; MOGIL, J. S.; BUSHNELL, M. C. Empathy hurts: compassion for another increases both sensory and affective components of pain perception. **Pain**, v. 136, n. 1-2, p. 168-176, 2008.
- LOHMEIER, J. Calbindin-D28k and its role in apoptosis. **PhD Thesis**. Lmu, 2018.
- LORENZETTI, B. VEIGA, A. Cytokine-induced neutrophil chemoattractant 1(CINC-1) mediates the sympathetic component of inflammatory mechanical hypersensitivity in rats. **Eur Cytokine Netw**, v.13, n.4, Oct-Dec, p.456-61. 2002.
- LOVALLO, W. R. Stress and health: Biological and psychological interactions. **Sage publications**, 2015.
- LU, Y. F.; YANG, Y.; LI, C. L.; WANG, Y.; LI, Z.; CHEN, J. The locus coeruleus–norepinephrine system mediates empathy for pain through selective up-regulation of P2X₃ receptor in dorsal root ganglia in rats. **Frontiers in neural circuits**, v. 11, p. 66, 2017.
- LUMLEY, M. A.; COHEN, J. L.; BORSZCZ, G. S.; CANO, A.; RADCLIFFE, A. M.; PORTER, L. S.; KEEFE, F. J. Pain and emotion: a biopsychosocial review of recent research. **Journal of clinical psychology**, v. 67, n. 9, p. 942-968, 2011.
- LUO, W. J.; LI, C. L.; GENG, K. W.; WANG, X. L.; DU, R.; YU, Y.; CHEN, J. The similar past pain experience evokes both observational contagious pain and consolation in stranger rat observers. **Neuroscience Letters**, v. 722, p. 134840, 2020.
- LYNCH, M. E.; WARE, M. A. Cannabinoids for the treatment of chronic non-cancer pain: an updated systematic review of randomized controlled trials. **Journal of neuroimmune pharmacology**, v. 10, n. 2, p. 293-301, 2015.

MACIEL, E. N.; VERCESI, A. E.; CASTILHO, R. F. Oxidative stress in Ca²⁺-induced membrane permeability transition in brain mitochondria. **Journal of neurochemistry**, v. 79, n. 6, p. 1237-1245, 2001.

MALFAIT, A. M.; GALLILY, R.; SUMARIWALLA, P. F.; MALIK, A. S.; ANDREAKOS, E. MECHOULAM, R.; FELDMANN, M. The nonpsychoactive cannabis constituent cannabidiol is an oral anti-arthritic therapeutic in murine collagen-induced arthritis. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** v. 97, p. 9561–9566, 2000.

MANNING, B. H.; MERIN, N. M.; MENG, I. D.; AMARAL, D. G. Reduction in opioid- and cannabinoid-induced antinociception in rhesus monkeys after bilateral lesions of the amygdaloid complex. **Journal of Neuroscience**, v. 21, p. 8238-8246, 2001.

MANNING, B. H.; MARTIN, W. J.; MENG, I. D. The rodent amygdala contributes to the production of cannabinoid-induced antinociception. **Neuroscience**, v. 120, n. 4, p. 1157-1170, 2003.

MARICQ, A. V.; PETERSON, A. S.; BRAKE, A. J.; MYERS, R. M.; JULIUS, D. Primary structure and functional expression of the 5HT₃ receptor, a serotonin-gated ion channel. **Science**, v. 254, n. 5030, p. 432-437, 1991.

MAJERUS, P. W. Prostaglandins: critical roles in pregnancy and colon cancer. **Curr Biol**, v.8, n.3, Jan 29, p.R87-9. 1998.

MARTIN, L. J.; HATHAWAY, G.; ISBESTER, K.; MIRALI, S.; ACLAND, E. L.; NIEDERSTRASSER, N.; STERNBERG, W. F. Reducing social stress elicits emotional contagion of pain in mouse and human strangers. **Current Biology**, v. 25, p. 326-332, 2015.

MARTIN, L. J.; TUTTLE, A. H.; MOGIL, J. S. The interaction between pain and social behavior in humans and rodents. **Behavioral Neurobiology of Chronic Pain**. p. 233-250, 2014.

MARTIN, W. J.; LOO, C. M.; BASBAUM, A. I. Spinal cannabinoids are anti-allodynic in rats with persistent inflammation. **Pain**, v. 82, n. 2, p. 199-205, 1999.

MARTINS, D. Serotonin and nociception: from nociceptive transduction at the periphery to pain modulation from the brain. In: *The Serotonin System*. **Academic Press**, p. 203-224, 2019.

MARUCCI F. A. F.; CANTO-DE-SOUZA A. Microinjection of 5-HT₃ receptor antagonists in the amygdala of mice produces anxiolytic effect. In: **Federation of Societies of Experimental Biology**, Águas de Lindóia, São Paulo, 2006.

MASCAGNI, F.; MCDONALD, A. J. A novel subpopulation of 5-HT type 3A receptor subunit immunoreactive interneurons in the rat basolateral amygdala. **Neuroscience**, v. 144, n. 3, p. 1015-1024, 2007.

MAZER, C.; MUNEYYIRCI, J.; TAHENY, K.; RAIIO, N.; BORELLA, A.; WHITAKER-AZMITIA, P. Serotonin depletion during synaptogenesis leads to decreased synaptic density

and learning deficits in the adult rat: a possible model of neurodevelopmental disorders with cognitive deficits. **Brain research**, v. 760, n. 1-2, p. 68-73, 1997.

MCCLEANE, G. J.; SUZUKI, R.; DICKENSON, A. H. Does a single intravenous injection of the 5HT₃ receptor antagonist ondansetron have an analgesic effect in neuropathic pain? A double-blinded, placebo-controlled cross-over study. **Anesthesia & Analgesia**, v. 97, p. 1474-1478, 2003.

MCDOWELL, T. S. Neurotransmitters Involved in Pain Modulation. In: **Pain**. Springer, Cham, p. 49-51, 2019.

MCGARAUGHTY, S.; FARR, D. A.; HEINRICHER, M. M. Lesions of the periaqueductal gray disrupt input to the rostral ventromedial medulla following microinjections of morphine into the medial or basolateral nuclei of the amygdala. **Brain research**, v. 1009, n. 1-2, p. 223-227, 2004.

MCGAUGH, J. L. The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. **Review Neuroscience.**, v. 27, p. 1-28, 2004.

MECHOULAM, R.; BEN-SHABAT, S.; HANUS, L.; LIGUMSKY, M.; KAMINSKI, N. E.; SCHATZ, A. R.; PERTWEE, R. G. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors **Biochemical pharmacology**, v. 50, n. 1, p. 83-90, 1995.

MECHOULAM, R.; PARKER, L. A.; GALLILY, R. Cannabidiol: an overview of some pharmacological aspects. **The Journal of Clinical Pharmacology**, v. 42, n. S1, p. 11S-19S, 2002.

MECHOULAM, R.; PETERS, M.; MURILLO-RODRIGUEZ, E.; HANUŠ, L. O. Cannabidiol—recent advances. **Chemistry & biodiversity**, v. 4, n. 8, p. 1678-1692, 2007.

MEHTA, A K.; TICKU, M. K. An update on GABA_A receptors. **Brain Research Reviews**, v. 29, n. 2-3, p. 196-217, 1999.

MEHTA, R.; BHANDARI, R.; KUHAD, A. Z. GABA-A receptor positive allosteric modulator, treatment of major depressive disorder, treatment of postpartum depression. **Drugs of the future**, v. 44, n. 6, p. 443-451, 2019.

MELZACK, R. Pain and stress: A new perspective. **Psychosocial factors in pain: Critical perspectives**, p. 89-106, 1999.

MELZACK, R.; CASEY, K. L. The affective dimension of pain. In: **Feelings and Emotions: The Loyola Symposium**. Academic Press, p. 55, 2013.

MERSKEY, N. Classification of chronic pain; Description of chronic pain syndromes and definitions of pain Terms. **Task force on taxonomy of the International Association for the study of pain**, p. 41-43, 1994.

- MESSLINGER, K. Was ist ein Nozizeptor? **Der Anaesthetist**, v. 46, n. 2, p. 142-153, 1997.
- MIKICS, E.; VAS, J.; ALICZKI, M.; HALASZ, J.; HALLER, J. Interactions between the anxiogenic effects of CB1 gene disruption and 5-HT₃ neurotransmission. **Behavioural pharmacology**, v. 20, p. 265-272, 2009.
- MILLAN, M. J. The induction of pain: an integrative review. **Progress in neurobiology**, v. 57, n. 1, p. 1-164, 1999.
- MILLAN, Mark J. The neurobiology and control of anxious states. **Progress in neurobiology**, v. 70, n. 2, p. 83-244, 2003.
- MILNE, R. J.; HEEL, R. C. Ondansetron. **Drugs**, v. 41, n. 4, p. 574-595, 1991.
- MIQUEL, M. C.; EMERIT, M. B.; NOSJEAN, A.; SIMON, A.; RUMAJOGEE, P.; BRISORGUEIL, M. J.; VERGE, D. Differential subcellular localization of the 5-HT₃-A₅ receptor subunit in the rat central nervous system. **European Journal of Neuroscience**, v. 15, p. 449-457, 2002.
- MOGIL J.S. Social modulation of and by pain in humans and rodents. **PAIN**, v. 156, p. s3541, 2015.
- MOLENBERGHS, P.; CUNNINGTON, R.; MATTINGLEY, J. B. Brain regions with mirror properties: a meta-analysis of 125 human fMRI studies. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 36, n. 1, p. 341-349, 2012.
- MORALES, M.; BATTENBERG, E.; DE LECEA, L.; BLOOM, F. E. The type 3 serotonin receptor is expressed in a subpopulation of GABAergic neurons in the rat neocortex and hippocampus. **Brain research**, v. 731, p. 199-202, 1996.
- MORALES, M.; BLOOM, Floyd E. The 5-HT₃ receptor is present in different subpopulations of GABAergic neurons in the rat telencephalon. **Journal of Neuroscience**, v. 17, n. 9, p. 3157-3167, 1997.
- MORALES, M.; WANG, S. D.; DIAZ-RUIZ, O.; HYUN-JIN JHO, D. Cannabinoid CB1 receptor and serotonin 3 receptor subunit A (5-HT_{3A}) are co-expressed in GABA neurons in the rat telencephalon. **Journal of Comparative Neurology**, v. 468, p. 205-216, 2004.
- MORALES, P.; REGGIO, P. H.; JAGEROVIC, N. An overview on medicinal chemistry of synthetic and natural derivatives of cannabidiol. **Frontiers in pharmacology**, v. 8, p. 422, 2017.
- MOYA-ALBIOL, L.; HERRERO, N.; BERNAL, M. Consuelo. Bases neuronales de la empatía. **Rev Neurol**, v. 50, n. 2, p. 89-100, 2010.
- MUNGER, B. L.; BENNETT, G. J.; KAJANDER, K. C. An experimental painful peripheral neuropathy due to nerve constriction: I. Axonal pathology in the sciatic nerve. **Experimental neurology**, v. 118, n. 2, p. 204-214, 1992.

MYERS, B.; GREENWOOD-VANMEERVELD, B. Role of anxiety in the pathophysiology of irritable bowel syndrome: importance of the amygdala. **Frontiers in Neuroscience**, v. 3, p. 2, 2009.

NAKAMURA, K.; SEKINE, Y.; OUCHI, Y.; TSUJII, M.; YOSHIKAWA, E.; FUTATSUBASHI, M.; MATSUZAKI, H. Brain serotonin and dopamine transporter bindings in adults with high-functioning autism. **Archives of general psychiatry**, v. 67, n. 1, p. 59-68, 2010.

NAKAMURA, M.; FERREIRA, S.. A peripheral sympathetic component in inflammatory hyperalgesia. **Eur J Pharmacol**, v.135, n.2, Mar 17, p.145-53. 1987.

NAKASHIMA, S. F., UKEZONO, M., NISHIDA, H., SUDO, R., & TAKANO, Y. Receiving of emotional signal of pain from conspecifics in laboratory rats. **Royal Society open science**, v. 2, n. 4, p. 140381, 2015.

NESTLER, E. J.; KELZ, M. B.; CHEN, J. Δ FosB: a molecular mediator of long-term neural and behavioral plasticity. **Brain research**, v. 835, n. 1, p. 10-17, 1999.

NEUGEBAUER, V. Forebrain pain mechanisms. **Brain research reviews**, v. 60, n. 1, p. 226-242, 2009.

NEUGEBAUER, V. The amygdala: different pains, different mechanisms. **Pain**, v. 127, n. 1-2, p. 1, 2007.

NEUGEBAUER, V.; LI, W.; BIRD, G. C.; HAN, J. S. The amygdala and persistent pain. **The Neuroscientist**, v. 10, n. 3, p. 221-234, 2004.

NIESLER, B.; FRANK, B.; KAPPELLER, J.; RAPPOLD, G. A. Cloning, physical mapping and expression analysis of the human 5-HT₃ serotonin receptor-like genes HTR3C, HTR3D and HTR3E. **Gene**, 310, 101-111, 2003.

NITANDA A.; YASUNAMI N.; TOKUMO K.; FUJII H.; HIRAI T.; NISHIO H. Contribution of the peripheral 5-HT_{2A} receptor to mechanical hyperalgesia in a rat model of neuropathic pain. **Neurochemistry international**, 47:394-400. 2005.

NUNES-DE-SOUZA, R. L.; CANTO-DE-SOUZA, A.; DA-COSTA, M.; FORNARI, R. V.; GRAEFF, F. G.; PELA, I. R. Anxiety-induced antinociception in mice: effects of systemic and intra-amygdala administration of 8-OH-DPAT and midazolam. **Psychopharmacology**, v. 150, n. 3, p. 300-310, 2000.

NUNES-DE-SOUZA, V.; NUNES-DE-SOUZA, R. L.; RODGERS, R. J.; CANTO-DE-SOUZA, A. 5-HT₂ receptor activation in the midbrain periaqueductal grey (PAG) reduces anxiety-like behaviour in mice. **Behavioural brain research**, v. 187, n. 1, p. 72-79, 2008.

OATWAY, M. A.; CHEN, Y.; WEAVER, L. C. The 5-HT₃ receptor facilitates at-level mechanical allodynia following spinal cord injury. **Pain**, 110.1-2: 259-268, 2004.

OBATA, K.; YAMANAKA, H.; DAI, Y.; TACHIBANA, T.; FUKUOKA, T.; TOKUNAGA, A.; NOGUCHI, K. Differential activation of extracellular signal-regulated protein kinase in primary afferent neurons regulates brain-derived neurotrophic factor expression after peripheral inflammation and nerve injury. **Journal of Neuroscience**, 23, 4117-4126, 2003.

OLESEN, A. E.; ANDRESEN, T. STAAHL, C.; DREWES, A. M. Human experimental pain models for assessing the therapeutic efficacy of analgesic drugs. **Pharmacological reviews**, v. 64, n. 3, p. 722-779, 2012.

PASCUAL, D.; GOICOECHEA, C.; SUARDÍAZ, M.; MARTÍN, M. I. A cannabinoid agonist, WIN 55,212-2, reduces neuropathic nociception induced by paclitaxel in rats. **Pain**, v. 118, n. 1-2, p. 23-34, 2005.

PAXINOS, G. Franklin. K.B.J. **The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates**, p. 1-93, 2001.

PEDERSEN, L. H.; SCHEEL-KRÜGER, J.; BLACKBURN-MUNRO, G. Amygdala GABA-A receptor involvement in mediating sensory-discriminative and affective-motivational pain responses in a rat model of peripheral nerve injury. **Pain**, v. 127, n. 1-2, p. 17-26, 2007.

PELARIN V.; CANTO-DE-SOUZA A. Empathy in mice: evaluation of the role of the amygdala, insula and anterior cingulate cortex in nociception in mice exposed to the abdominal writhing test. **Dissertation**. Federal University of São Carlos, 2014.

PERTWEE, R. G. Cannabinoid receptor ligands: clinical and neuropharmacological considerations, relevant to future drug discovery and development. **Expert opinion on investigational drugs**, v. 9, n. 7, p. 1553-1571, 2000.

PERTWEE, R. G. Cannabinoid receptors and pain. **Progress in neurobiology**, v. 63, n. 5, p. 569-611, 2001.

PERTWEE, R. G. Emerging strategies for exploiting cannabinoid receptor agonists as medicines. **British journal of pharmacology**, v. 156, n. 3, p. 397-411, 2009.

PERTWEE, R. G. Pharmacology of cannabinoid CB1 and CB2 receptors. **Pharmacology & therapeutics**, v. 74, n. 2, p. 129-180, 1997.

PERTWEE, R. G. The diverse CB1 and CB2 receptor pharmacology of three plant cannabinoids: Δ^9 -tetrahydrocannabinol, cannabidiol and Δ^9 -tetrahydrocannabivarin. **British journal of pharmacology**, v. 153, n. 2, p. 199-215, 2008.

PESOLD, C.; TREIT, D. The central and basolateral amygdala differentially mediate the anxiolytic effects of benzodiazepines. **Brain research**, v. 671, n. 2, p. 213-221, 1995.

PETERSEN, K. L.; FIELDS, H. L.; BRENNUM, J.; SANDRONI, P.; ROWBOTHAM, M. C. Capsaicin evoked pain and allodynia in post-herpetic neuralgia. **Pain**, v. 88, n. 2, p. 125-133, 2000.

PETRENKO, A. B.; SHIMOJI, K. A possible role for glutamate receptor-mediated excitotoxicity in chronic pain. **Journal of anesthesia**, 15.1, 39-48, 2001.

PETRILLI, L. A.; TAVARES, L. R. R.; BAPTISTA-DE-SOUZA, D.; CHAGAS, M. H. N.; GUIMARAES, F. S.; CANTO-DE-SOUZA, A. L. M. Empathy for Pain: Systemic treatment with cannabidiol reverses the hyperalgesia induced by cohabitation with a pair in chronic pain condition. **Congresso da Sociedade Brasileira de Neurociência e Comportamento**, Campos do Jordão, SP, 2019.

PHAM, T. M.; HAGMAN, B.; CODITA, A.; VAN LOO, P. L. P.; STRÖMMER, L.; BAUMANS, V. Housing environment influences the need for pain relief during post-operative recovery in mice. **Physiology & behavior**, v. 99, n. 5, p. 663-668, 2010.

PHILPOTT, H. T.; O'BRIEN, M.; MCDOUGALL, J. J. Attenuation of early phase inflammation by cannabidiol prevents pain and nerve damage in rat osteoarthritis. **Pain**, v. 158, n. 12, p. 2442, 2017.

PLOGHAUS, A.; BECERRA, L.; BORRAS, C.; BORSOOK, D. Neural circuitry underlying pain modulation: expectation, hypnosis, placebo. **Trends in cognitive sciences**, v. 7, n. 5, p. 197-200, 2003.

PRESTON, S. D.; DE WAAL, F. B. M. Empathy: Its ultimate and proximate bases. **Behavioral and brain sciences**, v. 25, n. 1, p. 1-20, 2002.

PRICE, D. D. Psychological and neural mechanisms of the affective dimension of pain. **Science**, v. 288, n. 5472, p. 1769-1772, 2000.

PRICE, D. D.; DUBNER, R. Neurons that subserve the sensory-discriminative aspects of pain. **Pain**, v. 3, n. 4, p. 307-338, 1977.

PUIG, M. V.; SANTANA, N.; CELADA, P.; MENGOD, G.; ARTIGAS, F. In vivo excitation of GABA interneurons in the medial prefrontal cortex through 5-HT₃ receptors. **Cerebral Cortex**, 14, 1365-1375, 2004.

PUROHIT, A.; GIDAMUDI, S. S.; KHANWELKAR, C. C.; THORAT, V. M.; JADHAV, S. A. Antinociceptive Effect of Ondansetron in Albino Mice Using Acetic Acid Induced Writhing Model. **Journal of Krishna Institute of Medical Sciences**, 5, 4, 2016.

RAHN, E. J.; HOHMANN, A. G. Cannabinoids as pharmacotherapies for neuropathic pain: from the bench to the bedside. **Neurotherapeutics**, v. 6, n. 4, p. 713-737, 2009.

RAHN, E. J.; HOHMANN, A. G. Cannabinoids as pharmacotherapies for neuropathic pain: from the bench to the bedside. **Neurotherapeutics**, v. 6, n. 4, p. 713-737, 2009.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J.; HENDERSON, G. *Farmacologia 7a*. **Elsevier**. 2012.

RESSLER, K. J.; MCCULLOUGH, K.; DASKALAKIS, N. P.; GAFFORD, G.; MORRISON, F. G. Cell-Type Specific Interrogation of Amygdala Drd2-Expressing Neurons Identifies Targets for Pharmacological Modulation of Fear Extinction. **BioRxiv**, p. 224261, 2017.

REVES, J. D.; FRAGEN, R. J.; VINIK, H. R.; GREENBLATT, D. J. Midazolam: pharmacology and uses. **Anesthesiology**, v. 62(3), p. 310-324, 1985.

RHUDY, J. L.; MEAGHER, M. W. Fear and anxiety: divergent effects on human pain thresholds. **Pain**, v. 84, n. 1, p. 65-75, 2000.

RIBEIRO, P. G. Evaluation of the antinociceptive effect in different routes of administration and of the pharmacological interaction with opioid and cannabinoid receptors of protonectin-F, 2019.

RICHARDSON, J. D. Cannabinoids modulate pain by multiple mechanisms of action. **The Journal of Pain**, v. 1, n. 1, p. 2-14, 2000.

RINALDI-CARMONA, M.; PIALOT, F.; CONGY, C.; REDON, E.; BARTH, F.; BACHY, A.; LE FUR, G. Characterization and distribution of binding sites for [3H]-SR 141716A, a selective brain (CB1) cannabinoid receptor antagonist, in rodent brain. **Life sciences**, 58, 1239-1247, 1996.

RING, C.; KAVUSSANU, M.; WILLOUGHBY, A. Pain thresholds, pain-induced frontal alpha activity and pain-related evoked potentials are associated with antisocial behavior and aggressiveness in athletes. **Psychology of Sport and Exercise**, v. 22, p. 303-311, 2016.

ROCHE, M.; JOHNSTON, P.; MHUIRCHEARTAIGH, O. N.; OLANGO, W. M.; MACKIE, K.; FINN, D. P. Effects of intra-basolateral amygdala administration of rimonabant on nociceptive behaviour and neuronal activity in the presence or absence of contextual fear. **European Journal of Pain**, 14, 487-495, 2010.

ROME J.R.; Howard P.; ROME, J. D. Limbically augmented pain syndrome (LAPS): kindling, corticolimbic sensitization, and the convergence of affective and sensory symptoms in chronic pain disorders. **Pain Medicine**, v. 1, n. 1, p. 7-23, 2000.

RUSSO, E. B. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. **British journal of pharmacology**, v. 163, n. 7, p. 1344-1364, 2011.

RUSSO, E.; GUY, G. W. A tale of two cannabinoids: the therapeutic rationale for combining tetrahydrocannabinol and cannabidiol. **Medical hypotheses**, v. 66, n. 2, p. 234-246, 2006.

RUSSO, R.; LOVERME, J.; LA RANA, G.; COMPTON, T. R.; PARROTT, J.; DURANTI, A.; PIOMELLI, D. The fatty acid amide hydrolase inhibitor URB597 (cyclohexylcarbamic acid 3'-carbamoylbiphenyl-3-yl ester) reduces neuropathic pain after oral administration in mice. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 322, 236-242, 2007

RYZ, N. R.; REMILLARD, D. J.; RUSSO, E. B. Cannabis roots: a traditional therapy with future potential for treating inflammation and pain. **Cannabis and cannabinoid research**, v. 2, n. 1, p. 210-216, 2017.

SADOCK, B. J.; SADOCK, V. A.; SUSSMAN, N. Manual de farmacologia psiquiátrica de Kaplan & Sadock-6. **Artmed Editora**, 2018.

SAH, P.; FABER, E. L.; LOPEZ DE ARMENTIA, M.; POWER, J. M. J. P. R. The amygdaloid complex: anatomy and physiology. **Physiological reviews**, v. 83, n. 3, p. 803-834, 2003.

SBEC – Sociedade Brasileira de Estudos da Cannabis – **SBEC**, 2019. Acesso em Janeiro de 2020.

SBED - Sociedade Brasileira do Estudo da Dor – **SBED**, 2018. Disponível em <https://sbed.org.br/>. Acesso em 21 de Janeiro de 2020.

SCHLICKER, E.; KATHMANN, M. Modulation of transmitter release via presynaptic cannabinoid receptors. **Trends in pharmacological sciences**, v. 22, n. 11, p. 565-572, 2001.

SEHN, R., CAMARGO, A. L., HEINECK, I., & FERREIRA, M. B. C. (2003). Interações medicamentosas potenciais em prescrições de pacientes hospitalizados. *Infarma*, 15(9-10), 77-81.

SHAMAY-TSOORY, S G.; AHARON-PERETZ, J.; PERRY, D. Two systems for empathy: a double dissociation between emotional and cognitive empathy in inferior frontal gyrus versus ventromedial prefrontal lesions. **Brain**, v. 132, n. 3, p. 617-627, 2009.

SHAMAY-TSOORY, S. G. The neural bases for empathy. **The Neuroscientist**, v. 17, n. 1, p. 18-24, 2011.

SHI, C.; DAVIS, M. Pain pathways involved in fear conditioning measured with fear-potentiated startle: lesion studies. **Journal of Neuroscience**, v. 19, n. 1, p. 420-430, 1999.

SIEGHART, W.; FUCHS, K.; TRETTER, V.; EBERT, V.; JECHLINGER, M.; HÖGER, H.; ADAMIKER A. Structure and subunit composition of GABAA receptors. **Neurochemistry international**, v. 34, n. 5, p. 379-385, 1999.

SILVEIRA, L. M.; TAVARES, L. R. R.; ZANIBONI, C. R.; BAPTISTA-DE-SOUZA, D; CANTO-DE-SOUZA, A. L. M. The role of GABAergic neurotransmission in insula and amygdaloid complex on social modulation of pain in mice that cohabited with a conspecific in chronic pain condition. **Congresso da Sociedade Brasileira de Neurociência e Comportamento**, Santos, SP, 2018.

SIMPSON, K.; SPENCER, C.M; MCCLELLAN, K.J. Tropisetron, an update of its use in the prevention of chemotherapy-induced nausea and vomiting. **Drugs**, 59, 1297-1131, 2000.

SINGER, T.; LAMM, C. The social neuroscience of empathy. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1156, n. 1, p. 81-96, 2009.

SINGER, T.; SEYMOUR, B.; O'DOHERTY, J.; KAUBE, H.; DOLAN, R. J.; FRITH, C. D. Empathy for pain involves the affective but not sensory components of pain. **Science**, v. 303, n. 5661, p. 1157-1162, 2004.

SMILEY, J. F.; GOLDMAN-RAKIC, P. S. Serotonergic axons in monkey prefrontal cerebral cortex synapse predominantly on interneurons as demonstrated by serial section electron microscopy. **Journal of Comparative Neurology**, v. 367, n. 3, p. 431-443, 1996.

SMITH, M. L.; HOSTETLER, C. M.; HEINRICHER, M. M.; RYABININ, A. E. Social transfer of pain in mice. **Science advances**, v. 2, n. 10, p. e1600855, 2016.

SMITH, M. L.; WALCOTT, A. T.; HEINRICHER, M. M.; RYABININ, A. E. Anterior cingulate cortex contributes to alcohol withdrawal-induced and socially transferred hyperalgesia. **Eneuro**, v. 4, n. 4, 2017.

SOARES OT. Interações medicamentosas em psiquiatria. FMUSP. 2014. Disponível em: <http://www.ipqhc.org.br/pdfs/Psico.pdf>.

SOMMER, C. Is serotonin hyperalgesic or analgesic?. **Current pain and headache reports**, v. 10, n. 2, p. 101-106, 2006.

SOMMER, C.; SCHÄFERS, M. Painful mononeuropathy in C57BL/Wld mice with delayed wallerian degeneration: differential effects of cytokine production and nerve regeneration on thermal and mechanical hypersensitivity. **Brain research**, v. 784, n. 1-2, p. 154-162, 1998.

SORREGOTI, T. Avaliação do papel da amígdala na antinocicepção induzida pelo medo: análises comportamental, imunoistoquímica e farmacológica. Tese apresentada ao programa interinstitucional de pós-graduação em ciências fisiológicas – Universidade Federal de São Carlos (UFSCar)/Universidade Estadual Paulista (UNESP-Araraquara). 2017.

SORREGOTTI, T.; CIPRIANO, A. C.; CRUZ, F. C.; MASCARENHAS, D. C.; RODGERS, R. J.; NUNES-DE-SOUZA, R. L. Amygdaloid involvement in the defensive behavior of mice exposed to the open elevated plus-maze. **Behavioural brain research**, v. 338, p. 159-165, 2018.

SOTOCINAL, S. G.; SORGE, R. E.; ZALOUM, A.; TUTTLE, A. H.; MARTIN, L. J.; WIESKOPF, J. S. The Rat Grimace Scale: a partially automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expressions. **Molecular Pain**, v. 7, p. 55, 2011.

STARR, C. J.; SAWAKI, L.; WITTENBERG, G. F.; BURDETTE, J. H.; OSHIRO, Y.; QUEVEDO, A. S.; COGHILL, R. C. Roles of the insular cortex in the modulation of pain: insights from brain lesions. **Journal of Neuroscience**, v. 29, p. 2684-94, 2009.

STATON, P. C.; HATCHER, J. P.; WALKER, D. J.; MORRISON, A. D.; SHAPLAND, E. M.; HUGHES, J. P.; FULLEYLOVE, M. The putative cannabinoid receptor GPR55 plays a role in mechanical hyperalgesia associated with inflammatory and neuropathic pain. **Pain**, 139, 225-236, 2008.

STEPANOVIC-PETROVIC R. M.; MICOV A.M.; TOMIC M.A.; KOVACEVIC J.M.; BOŠKOVIC B.D. Antihyperalgesic/antinociceptive effects of ceftriaxone and its synergistic interactions with different analgesics in inflammatory pain in rodents. **Anesthesiology** 120:737-750, 2014.

SUFKA, K. J.; SCHOMBURG, F. M.; GIORDANO, J. Receptor mediation of 5-HT-induced inflammation and nociception in rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 41, n. 1, p. 53-56, 1992.

SUN, J. J.; YANG, H. L.; JI, C.; ZHOU, J. Transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells reduces GluR1 expression in the hippocampus and amygdala and affects secretion of stress-related hormones in rats with spinal cord injuries: a potential anti-chronic stress mechanism. **Int J Clin Exp Med**, 11, 9017-9027, 2018.

TAVARES, L. R. R.; BAPTISTA-DE-SOUZA, D; CANTO-DE-SOUZA, A. Activation of 5-HT_{2C} (but not 5-HT_{1A}) receptors in the amygdala enhances fear-induced antinociception: Blockade with local 5-HT_{2C} antagonist or systemic fluoxetine. **Neuropharmacology**, v. 135, p. 376-385, 2018.

TEIXEIRA, J. M.; OLIVEIRA, M. C. G.; NOCITI JR, F. H.; CLEMENTE-NAPIMOGA, J. T.; PELEGRINI-DA-SILVA, A. PARADA, C. A.; TAMBELI, C. H. Involvement of temporomandibular joint P2X₃ and P2X_{2/3} receptors in carrageenan-induced inflammatory hyperalgesia in rats. **European journal of pharmacology**, v. 645, n. 1-3, p. 79-85, 2010.

TERRY J.R.; Alvin V.; BUCCAFUSCO, J. J.; WILSON, C. Cognitive dysfunction in neuropsychiatric disorders: selected serotonin receptor subtypes as therapeutic targets. **Behavioural Brain Research**, v. 195, n. 1, p. 30-38, 2008.

THOMAS, A.; BAILLIE, G. L.; PHILLIPS, A. M.; RAZDAN, R. K.; ROSS, R. A.; PERTWEE, R. G. Cannabidiol displays unexpectedly high potency as an antagonist of CB₁ and CB₂ receptor agonists in vitro. **British journal of pharmacology**, v. 150, n. 5, p. 613-623, 2007.

THOMPSON, A. J.; LUMMIS, S. C. R. The 5-HT₃ receptor as a therapeutic target. **Expert opinion on therapeutic targets**, v. 11, n. 4, p. 527-540, 2007.

TOTH, C. C.; JEDRZEJEWSKI, N. M.; ELLIS, C. L.; FREY, W. H. Cannabinoid-mediated modulation of neuropathic pain and microglial accumulation in a model of murine type I diabetic peripheral neuropathic pain. **Molecular pain**, v. 6, n. 1, p. 16, 2010.

TRAMULLAS, M.; DINAN, T.G.; CRYAN, J.F. Chronic psychosocial stress induces visceral hyperalgesia in mice. **Stress**, v.15(3), p.281-292, 2012.

UENO, H.; SUEMITSU, S.; MURAKAMI, S.; KITAMURA, N.; WANI, K.; OKAMOTO, M.; ISHIHARA, T. Empathic behavior according to the state of others in mice. **Brain and Behavior**, v. 8, n. 7, p. e00986, 2018.

ULRICH-LAI, Y. M.; XIE, W.; MEIJ, J. T.; DOLGAS, C. M.; YU, L.; HERMAN, J. P. Limbic and HPA axis function in an animal model of chronic neuropathic pain. **Physiology & behavior**, v. 88, n. 1-2, p. 67-76, 2006.

ULUGÖL, A. The endocannabinoid system as a potential therapeutic target for pain modulation. **Balkan medical journal**, v. 31, n. 2, p. 115, 2014.

VACHON-PRESSEAU, E., MARTEL, M. O., ROY, M., CARON, E., JACKSON, P. L., & RAINVILLE, P. The multilevel organization of vicarious pain responses: effects of pain cues and empathy traits on spinal nociception and acute pain. **PAIN®**, v. 152, n. 7, p. 1525-1531, 2011.

VANDER WENDE C.; MARGOLIN S. Analgesic tests based upon experimentally induced acute abdominal pain in rats. In **Fed Proc** 15:494, 1956.

VANDERAH, T. W. Pathophysiology of pain. **Medical Clinics**, v. 91, n. 1, p. 1-12, 2007.

VILLANUEVA, L.; FIELDS, H. L. Endogenous central mechanisms of pain modulation. **The pain system in normal and pathological states: a primer for clinicians. Progress in pain research and management**, v. 31, p. 223-243, 2004.

VIVIAN, J. A.; KISHIOKA, S.; BUTELMAN, E. R.; BROADBEAR, J.; LEE, K. O.; WOODS, J. H. Analgesic, respiratory and heart rate effects of cannabinoid and opioid agonists in rhesus monkeys: antagonist effects of SR 141716A. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 286, 697-703, 1998.

VOGT, B. A. Pain and emotion interactions in subregions of the cingulate gyrus. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 6, n. 7, p. 533-544, 2005.

VOLK, D. W.; SAMPSON, A. R.; ZHANG, Y.; EDELSON, J. R.; LEWIS, D. A. Cortical GABA markers identify a molecular subtype of psychotic and bipolar disorders. **Psychological medicine**, v. 46, n. 12, p. 2501-2512, 2016.

VOOG, Ü.; ALSTERGREN, P.; LEIBUR, E.; KALLIKORM, R.; KOPP, S. Immediate effects of the serotonin antagonist granisetron on temporomandibular joint pain in patients with systemic inflammatory disorders. **Life Sciences**, v. 68, n. 5, p. 591-602, 2000.

VYAS, A.; MITRA, R.; RAO, B. S.; CHATTARJI, S. Chronic stress induces contrasting patterns of dendritic remodeling in hippocampal and amygdaloid neurons. **Journal of Neuroscience**, 22, 6810-6818, 2002

WADE, D. T.; ROBSON, P.; HOUSE, H.; MAKELA, P.; ARAM, J. A preliminary controlled study to determine whether whole-plant cannabis extracts can improve intractable neurogenic symptoms. **Clinical rehabilitation**, 17, 21-29, 2003.

WALCOTT, A. T.; SMITH, M. L.; LOFTIS, J. M.; RYABININ, A. E. Social transfer of alcohol withdrawal-induced hyperalgesia in female prairie voles. **Social neuroscience**, v. 13, n. 6, p. 710-717, 2018.

WALKER, J. M.; HUANG, S. M. Cannabinoid analgesia. **Pharmacology & therapeutics**, v. 95, n. 2, p. 127-135, 2002.

WALL, P.; MELZACK, R.; MCGRATH, P. Textbook of pain. **Canadian Psychology**, v. 32, n. 1, p. 92-93, 1991.

WALSTAB, J.; RAPPOLD, G.; NIESLER, B. 5-HT₃ receptors: role in disease and target of drugs. **Pharmacology & therapeutics**, v. 128, n. 1, p. 146-169, 2010.

WARD, S. J.; MCALLISTER, S. D.; KAWAMURA, R.; MURASE, R.; NEELAKANTAN, H.; WALKER, E. A. Cannabidiol inhibits paclitaxel-induced neuropathic pain through 5-HT_{1A} receptors without diminishing nervous system function or chemotherapy efficacy. **British journal of pharmacology**, 171, 636-645, 2014.

WATSON C.J. Insular balance of glutamatergic and gabaergic signaling modulates pain processing. **PAIN**, v. 157, p. 2194-2207, 2016.

WHITAKER-AZMITIA, P. M.; DRUSE, M.; WALKER, P.; LAUDER, J. M. Serotonin as a developmental signal. **Behavioural brain research**, v. 73, n. 1-2, p. 19-29, 1995.

WHITING, P. F.; WOLFF, R. F.; DESHPANDE, S.; DI NISIO, M.; DUFFY, S.; HERNANDEZ, A. V.; SCHMIDLKOFER, S. Cannabinoids for medical use: a systematic review and meta-analysis. **Jama**, 313, 2456-2473, 2015.

WIDERSTRÖM-NOGA, E. Metabolite concentrations in the anterior cingulate cortex predict high neuropathic pain impact after spinal cord injury. **Pain**, v. 154, n. 2, p. 204-212, 2013.

WIECH, K.; TRACEY, I. The influence of negative emotions on pain: behavioral effects and neural mechanisms. **Neuroimage**, v. 47, n. 3, p. 987-994, 2009.

WILLIAMS, A. C. C. Facial expression of pain: an evolutionary account. **Behavioral and brain sciences**, v. 25, n. 4, p. 439-455, 2002.

WILLIS J. R. W. D. The pain system: the neural basis of nociceptive transmission in the mammalian nervous system. **Pain and headache**, v. 8, 1985.

WILLIS, W. D.; WESTLUND, K. N. The role of the dorsal column pathway in visceral nociception. **Current Pain and Headache Reports**, v. 5, n. 1, p. 20-26, 2001.

WISE, R. G.; LUJAN, B. J.; SCHWEINHARDT, P.; PESKETT, G. D.; ROGERS, R.; TRACEY, I. The anxiolytic effects of midazolam during anticipation to pain revealed using fMRI. **Magnetic resonance imaging**, v. 25, p. 801-810, 2007.

WOOLF, C. J.; SHORTLAND, P.; REYNOLDS, M.; RIDINGS, J.; DOUBELL, T.; COGGESHALL, R. E. Reorganization of central terminals of myelinated primary afferents in the rat dorsal horn following peripheral axotomy. **Journal of Comparative Neurology**, 360, 121-134, 1995.

WOOLF, C. J.; MANNION, R. J. Neuropathic pain: an etiology, symptoms, mechanisms, and management. **The lancet**, v. 353, n. 9168, p. 1959-1964, 1999.

XIAO, H. S.; HUANG, Q. H.; ZHANG, F. X.; BAO, L.; LU, Y. J.; GUO, C.; CHENG, X. P. Identification of gene expression profile of dorsal root ganglion in the rat peripheral axotomy model of neuropathic pain. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 99, 8360-8365, 2002.

XIONG, W.; CUI, T.; CHENG, K.; YANG, F.; CHEN, S. R.; WILLENBRING, D. Cannabinoids suppress inflammatory and neuropathic pain by targeting alpha3 glycine receptors. **Journal of Experimental Medicine**. 209, 1121–1134, 2012.

XIONG, W.; HOSOI, M.; KOO, B. N.; ZHANG, L. Anandamide inhibition of 5-HT3A receptors varies with receptor density and desensitization. **Molecular pharmacology**, 73, 314-322, 2008.

XIONG, W.; WU, X.; LOVINGER, D. M.; ZHANG, L. A common molecular basis for exogenous and endogenous cannabinoid potentiation of glycine receptors. **Journal of Neuroscience**, v. 32, n. 15, p. 5200-5208, 2012.

YAMAMOTO, W.; MIKAMI, T.; IWAMURA, H. Involvement of central cannabinoid CB2 receptor in reducing mechanical allodynia in a mouse model of neuropathic pain. **European journal of pharmacology**, v. 583, n. 1, p. 56-61, 2008.

YANG, K. H.; GALADARI, S.; ISAEV, D.; PETROIANU, G.; SHIPPENBERG, T. S.; OZ, M. THE nonpsychoactive cannabinoid cannabidiol inhibits 5-hydroxytryptamine3A receptor-mediated currents in *Xenopus laevis* oocytes. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 333, n. 2, p. 547-554, 2010.

YE, J. H.; MUI, W. C.; REN, J.; HUNT, T. E.; WU, W. H.; ZBUZEK, V. K. Ondansetron exhibits the properties of a local anesthetic. **Anesthesia & Analgesia**, 85, 1116-1121, 1997.

YOWTAK, J.; WANG, J.; KIM, H. Y.; LU, Y.; CHUNG, K.; CHUNG, J. M. Effect of antioxidant treatment on spinal GABA neurons in a neuropathic pain model in the mouse. **PAIN®**, 154, 2469-2476, 2013.

ZAKI, J.; OCHSNER, K. N. The neuroscience of empathy: progress, pitfalls and promise. **Nature neuroscience**, v. 15, p. 675-80, 2012.

ZANGROSSI JR. H.; DEL BEN, C. M.; GRAEFF, F. G.; GUIMARÃES, F. S. Serotonin in panic and anxiety disorders. In: **Handbook of Behavioral Neuroscience**, p. 611-633, 2020.

ZANGROSSI, H. JR.; GRAEFF, F. G. Behavioral effects of intra-amygdala injections of GABA and 5-HT acting drugs in the elevated plus-maze. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 27, n. 10, p. 2453-2456, 1994.

ZANIBONI, C. R.; PELARIN, V.; BAPTISTA-DE-SOUZA, D.; CANTO-DE-SOUZA, A. Empathy for pain: insula inactivation and systemic treatment with midazolam reverses the

hyperalgesia induced by cohabitation with a pair in chronic pain condition. **Frontiers in behavioral neuroscience**, v. 12, p. 278, 2018.

ZANOVELI, J. M.; CARVALHO, M. C.; CUNHA, J. M.; BRANDÃO, M. L. Extracellular serotonin level in the basolateral nucleus of the amygdala and dorsal periaqueductal gray under unconditioned and conditioned fear states: an in vivo microdialysis study. **Brain research**, v. 1294, p. 106-115, 2009.

ZEILHOFER, U. B.; CRESTANI, F.; RUDOLPH, U.; ZEILHOFER, H. U. Genuine antihyperalgesia by systemic diazepam revealed by experiments in GABAA receptor point-mutated mice. **Pain**, 141, 233-238, 2009.

ZEITZ, K. P.; GUY, N.; MALMBERG, A. B.; DIRAJLAL, S.; MARTIN, W. J.; SUN, L.; BASBAUM, A. I. The 5-HT₃ subtype of serotonin receptor contributes to nociceptive processing via a novel subset of myelinated and unmyelinated nociceptors. **Journal of Neuroscience**, v. 22, n. 3, p. 1010-1019, 2002.

ZEMLAN, Frank P.; BEHBEHANI, M. M.; MURPHY, R. Maureen. Serotonin receptor subtypes and the modulation of pain transmission. In: **Progress in brain research**. Elsevier, p. 349-355, 1988.

ZUARDI, A. W.; CRIPPA, J. A. D. S.; HALLAK, J. E. C.; MOREIRA, F. A.; GUIMARÃES, F. S. Cannabidiol, a Cannabis sativa constituent, as an antipsychotic drug. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 39, n. 4, p. 421-429, 2006.

ZUARDI, A. W.; CRIPPA, J. A.; HALLAK, J. E.; BHATTACHARYYA, S.; ATAKAN, Z.; MARTÍN-SANTOS, R.; GUIMARÃES, F. S. A critical review of the antipsychotic effects of cannabidiol: 30 years of a translational investigation. **Current Pharmaceutical Design**, v. 18, n. 32, p. 5131-5140, 2012.

ANEXO 1

Pró Reitoria *Comissão de Ética no Uso de Animais*
 Pesquisa Universidade Federal de São Carlos



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Empatia para dor: envolvimento das neurotransmissões serotoninérgica e gabaérgica do complexo amigdalóide no convívio com um coespecífico em quadro de dor crônica.", protocolada sob o CEUA nº 8863220217 (ID 000561), sob a responsabilidade de **Lígia Renata Rodrigues Tavares e equipe; Azair Liane Matos do Canto de Souza; Daniela Baptista de Souza** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de São Carlos (CEUA/UFSCAR) na reunião de 06/03/2017.

We certify that the proposal "Empathy for pain: involvement of the serotonergic and gabaergic neurotransmissions of the amygdaloid complex in the coexistence with a co-specific in chronic pain.", utilizing 284 Heterogenics mice (284 males), protocol number CEUA 8863220217 (ID 000561), under the responsibility of **Lígia Renata Rodrigues Tavares and team; Azair Liane Matos do Canto de Souza; Daniela Baptista de Souza** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of São Carlos (CEUA/UFSCAR) in the meeting of 03/06/2017.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **03/2017** a **04/2020**

Área: **Ciências Fisiológicas**

Origem: **Biotério Central da UFSCar**

Espécie: **Camundongos heterogênicos**

sexo: **Machos**

idade: **6 a 8 semanas**

N: **284**

Linhagem: **Swiss**

Peso: **30 a 45 g**

Local do experimento: Laboratório de Psicologia da Aprendizagem da UFSCar. Total da animais utilizados neste projeto: Experimento 1 Veículo: 24 animais. Ondansetron 0,3nmol/0,1µl: 24 animais. Ondansetron 1,0nmol/0,1µl: 24 animais. Ondansetron 3,0nmol/0,1µl: 24 animais. Experimento 2 Salina: 24 animais. Midazolam 3,0 nmol/0,1µl: 24 animais. Midazolam 30,0 nmol/0,1µl: 24 animais. Experimento 3 Salina/Veículo: 24 animais. Veículo/Ondansetron dose exp 1: 24 animais. Salina/Midazolam dose exp. 2 24 animais. Ondansetron dose exp 1/Midazolam dose exp. 2: 24 animais. Experimento 4 Dupla marcação para Delta-FosB: 20 animais. Total de animais utilizados: 284 animais Total de animais: 142 animais para a infusão da droga e 142 animais para a constrição do nervo ciático = 284 animais Assim, 152 animais que receberão a infusão da drogas serão eutanasiados, sendo 132 do experimento 1 ao 3, e 20 animais do experimento 4. Com isso, os animais que não forem eutanasiados será encaminhados ao Parque Ecológico de São Carlos, pois estes não receberam infusão de drogas.

São Carlos, 05 de maio de 2020

Profa. Dra. Luciana Thie Seki Dias
 Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
 Universidade Federal de São Carlos

Profa. Dra. Cleoni dos Santos Carvalho
 Vice-presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
 Universidade Federal de São Carlos

ANEXO 2

Pró Reitoria
Pesquisa

Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de São Carlos



São Carlos, 27 de setembro de 2018
CEUA N 8863220217

Ilmo(a). Sr(a).
Responsável: Lígia Renata Rodrigues Tavares
Área: Ciências Fisiológicas

Título da proposta: "Empatia para dor: envolvimento das neurotransmissões serotoninérgica e gabaérgica do complexo amigdalóide no convívio com um coespecífico em quadro de dor crônica."

Parecer Consubstanciado da Comissão de Ética no Uso de Animais UFSCar (ID 000483)

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de São Carlos, no cumprimento das suas atribuições, analisou e **APROVOU** a Emenda (versão de 14/agosto/2018) da proposta acima referenciada.

Resumo apresentado pelo pesquisador: "Emenda de Projeto de Doutorado da aluna Ms. Lígia Renata Rodrigues Tavares, sob orientação da Profa. Dra. Azair Liane Matos do Canto de Souza Inicialmente este projeto de doutorado intitulado [EMPATIA PARA DOR: ENVOLVIMENTO DAS NEUROTRANSMISSÕES SEROTONÉRGICA E GABAÉRGICA DO COMPLEXO AMIGDALÓIDE NO CONVÍVIO COM UM COESPECÍFICO EM QUADRO DE DOR CRÔNICA], foi submetido e aprovado com o CEUA nº 8863220217, com o objetivo de realizarmos 4 experimentos detalhados no projeto inicial que segue anexo. Para tanto, após as análises satisfatórias dos experimentos acima mencionados, cujo alguns resultados já foram apresentados em congressos e outros serão apresentados neste mês de Agosto e Setembro, nosso objetivos para esta emenda é realizar mais dois experimentos acerca do papel do receptor 5-HT3 de serotonina na empatia para dor, sendo o primeiro experimento a ser realizado de modo sistêmico e segundo de modo intra-amígdala em camundongos. Segue abaixo os experimentos detalhados: Experimento 5. Investigação dos efeitos da injeção sistêmica de mCPBG (agonista 5-HT3) sobre os índices de nocicepção, após convívio com coespecífico submetido à condição de dor crônica (n=96 animais / 48 animais que receberão a droga e 48 animais que passarão pelo constrição do nervo ciático; n=16 por dose). Aos 21 dias pós-nascimento (desmame) os animais serão alojados em pares nas caixas viveiro. Após 14 dias de convivência, para estabelecimento de familiaridade, um dos animais de cada par será submetido à cirurgia de constrição do nervo ciático (Animal 1, grupo CNC) ou não (Animal 1, grupo Sham) e retornará à caixa viveiro. No 28º dia de convívio, 14 dias após constrição do nervo do animal 1, o animal 2 receberá injeção sistêmica de veículo ou mCPBG (3,0 ou 10 mg/Kg) e após 30 minutos, uma injeção de ácido acético (estímulo nociceptivo), e após o início das contorções será submetido ao teste de contorções abdominais para avaliação da nocicepção. O animal 2 permanecerá em uma gaiola individual até o início das contorções, retornando logo após para a mesma caixa de convívio com o parceiro (animal 1) para o teste. O teste de contorções será filmado por uma câmera acoplada a um computador durante 5 minutos (Figura 1). O número de contorções abdominais será registrado por meio do programa X-PLO-RAT 2005, versão 1.1.0 (Garcia, et al., 2005). Os sujeitos que não contorcerem no período de 5 minutos antes do teste serão excluídos do estudo. Ao final do experimento, os animais com constrição do nervo ciático ou não, CNC e Sham, serão submetidos ao teste da placa quente para confirmação da hiperalgesia induzida pelo procedimento cirúrgico. Experimento 6. Investigação dos efeitos da injeção intra-amígdala de mCPBG (agonista 5-HT3) sobre os índices de nocicepção, após convívio com coespecífico submetido à condição de dor crônica (n=96 animais / 48 animais que receberão a infusão da droga e 48 animais que passarão pelo constrição do nervo ciático, n=16 por dose). Aos 21 dias pós-nascimento (desmame) os animais serão alojados em pares nas caixas viveiro. Após 14 dias de convivência, para estabelecimento de familiaridade, um dos animais de cada par será submetido à cirurgia de constrição do nervo ciático (Animal 1, grupo CNC) ou não (Animal 1, grupo Sham) e retornará à caixa viveiro. No 23º dia o animal que conviverá com o par em quadro de dor crônica ou não (animal 2), passará por cirurgia estereotáxica para implantação de cânulas-guia na amígdala. No 28º dia de convívio, 14 dias após constrição do nervo do animal 1, o animal 2 receberá injeção bilateral intra-amígdala de veículo ou mCPBG (10nmol e 20nmol/0,1µl) e, imediatamente após, uma injeção de ácido acético (estímulo nociceptivo), e após o início das contorções será submetido ao teste de contorções abdominais para avaliação da nocicepção. O animal 2 permanecerá em uma gaiola individual até o início das contorções, retornando logo após para a mesma caixa de convívio com o parceiro (animal 1) para o teste. O teste de contorções será filmado por uma câmera acoplada a um computador durante 5 minutos. O número de contorções abdominais será registrado por meio do programa X-PL-RAT 2005, versão 1.1.0 (Garcia, et al., 2005). Os sujeitos que não contorcerem no período de 5 minutos antes do teste serão excluídos do estudo. Ao final do experimento, os animais com constrição do nervo ciático ou não, CNC e Sham, serão submetidos ao teste da placa quente para confirmação da hiperalgesia induzida pelo procedimento cirúrgico. "

Comentário da CEUA: "A emenda foi analisada e aprovada. "

Pró Reitoria
Pesquisa

Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de São Carlos



Profa. Dra. Luciana Thie Seki Dias
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de São Carlos

Profa. Dra. Cleoni dos Santos Carvalho
Vice-presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de São Carlos

ANEXO 3

Pró Reitoria
de Pesquisa

Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de São Carlos



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "EFEITOS DO CANABIDIOL EM CAMUNDONGOS EXPOSTOS AO MODELO DE EMPATIA PARA DOR", protocolada sob o CEUA nº 3305221018 (ID 001046), sob a responsabilidade de **Lígia Renata Rodrigues Tavares e equipe; Azair Liane Matos do Canto de Souza; Leonardo Abdelnur Petrilli; Isabela Miranda Carmona; Paulo Eduardo Carneiro de Oliveira; Lara Maria Silveira** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de São Carlos (CEUA/UFSCAR) na reunião de 06/11/2018.

We certify that the proposal "Effects of cannabidiol in mice exposed to empathy for pain model", utilizing 560 Heterogenics mice (560 males), protocol number CEUA 3305221018 (ID 001046), under the responsibility of **Lígia Renata Rodrigues Tavares and team; Azair Liane Matos do Canto de Souza; Leonardo Abdelnur Petrilli; Isabela Miranda Carmona; Paulo Eduardo Carneiro de Oliveira; Lara Maria Silveira** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of São Carlos (CEUA/UFSCAR) in the meeting of 11/06/2018.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **11/2018 a 12/2019** Área: **Ciências Fisiológicas**

Origem: **Biotério Central da UFSCar**
Espécie: **Camundongos heterogênicos** sexo: **Machos** idade: **3 a 5 semanas** N: **560**
Linhagem: **Swiss Albino** Peso: **14 a 45 g**

Local do experimento: Laboratório de Psicologia e Aprendizagem da UFSCar

São Carlos, 24 de maio de 2020

Prof. Dra. Luciana Thie Seki Dias
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de São Carlos

Prof. Dra. Cleoni dos Santos Carvalho
Vice-presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal de São Carlos