



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS – UFSCAR
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE – CCBS
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOLOGIA –
PIPGCF

VINÍCIUS PELARIN DO NASCIMENTO COSTA

**EMPATIA EM CAMUNDONGOS:
AVALIAÇÃO DO PAPEL DA AMÍDALA, INSULA E CÓRTEX
CINGULADO ANTERIOR NA NOCICEPÇÃO EM CAMUNDONGOS
EXPOSTOS AO TESTE DE CONTORÇÕES ABDOMINAIS**

São Carlos - SP

2014

VINÍCIUS PELARIN DO NASCIMENTO COSTA

**EMPATIA EM CAMUNDONGOS:
AVALIAÇÃO DO PAPEL DA AMÍDALA, INSULA E CÓRTEX
CINGULADO ANTERIOR NA NOCICEPÇÃO EM CAMUNDONGOS
EXPOSTOS AO TESTE DE CONTORÇÕES ABDOMINAIS**

Dissertação 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 Mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientação: Prof.^a Dr.^a Azair Liane Matos do Canto de Souza

Coorientação: Doutoranda Daniela Baptista de Souza

São Carlos - SP

2014

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

C837ec

Costa, Vinícius Pelarin do Nascimento.

Empatia em camundongos : avaliação do papel da amígdala, insula e córtex cingulado anterior na nocicepção em camundongos expostos ao teste de contorções abdominais / Vinícius Pelarin do Nascimento Costa. -- São Carlos : UFSCar, 2014.

56 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2014.

1. Dor. 2. Empatia. 3. Amígdala. 4. Insula. 5. Córtex cingulado anterior. 6. Camundongo. I. Título.

CDD: 616.0472 (20^a)

Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências
Fisiológicas
Associação Ampla UFSCar/UNESP

Folha de Aprovação

Dissertação de Mestrado de Vinicius Pelarin do Nascimento
Costa

Dia 09/05/2014

Profª. Drª. Azair Liane Matos do Canto de Souza

Azair Liane Matos do Canto de Souza

Prof. Dr. Tarciso Tadeu Miguel

Tarciso Miguel

Prof. Dr. Carlos Cesar Crestani

Carlos Cesar Crestani

Dedico este trabalho a minha família, principalmente a meus pais, Silvio e Vanilde, pelo apoio e amor incondicional. A vocês, que muitas vezes abriram mãos de sonhos e prioridades para que eu pudesse realizar os meus, meu eterno e exíguo amor e gratidão.



AGRADECIMENTOS

À professora Azair, pela orientação, incentivo, paciência e crença em mim e na realização desse trabalho;

À doutoranda Daniela, pela co-orientação, amizade, incentivo, troca de conhecimentos e profissionalismo inspirador;

À banca examinadora, pela atenção prestada na leitura e colaboração para com este trabalho;

À técnica do laboratório, Lara Maria Silveira, pelo auxílio e amizade no dia-a-dia;

Aos amigos do laboratório Elke, Lígia, Marília e Rimenez, sempre presentes em todos os momentos;

Aos amigos do laboratório de Farmacologia-UNESP e Neurociências-UFSCar, pelo apoio e amizade;

Aos meus pais, pelo amor e apoio *incondicionais* em todas as escolhas da minha vida;

Aos demais amigos e pessoas que, de certa forma, me apoiaram;

Ao Alexandre pela competência profissional na secretaria do Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas;

Ao Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela bolsa concedida durante a realização deste estudo.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP, processo nº 2012/22238-6, pelo apoio financeiro concedido durante a realização deste trabalho.

As opiniões, hipóteses e conclusões ou recomendações expressas neste material são de responsabilidade do autor e não necessariamente refletem a visão da FAPESP.

“Loucura? Mas afinal o que vem a ser a loucura?... Um enigma... Por isso mesmo é que às pessoas enigmáticas, incompreensíveis, se dá o nome de loucos...

Que a loucura, no fundo, é como tantas outras, uma questão de maioria. A vida é uma convenção: *isto* é vermelho, *aquilo* é branco, unicamente porque se determinou chamar à cor *disto* vermelho e à cor *daquilo* branco. A maior parte dos homens adotou um sistema determinado de convenções. É a gente de juízo... Pelo contrário, um número reduzido de indivíduos vê os objetos com outros olhos, chama-lhe outros nomes, pensa de maneira diferente, encara a vida de modo diverso. Como estão em minoria... são doidos...”

(Mário de Sá-Carneiro, 1997).

Empatia em camundongos: Avaliação do papel da amígdala, insula e córtex cingulado anterior na nociceção em camundongos expostos ao teste de contorções abdominais

RESUMO

Sob uma perspectiva evolucionista, a empatia é expressa pela capacidade de captar sinais emocionais nos outros. Neste sentido, a habilidade em perceber a dor também possui valor claramente adaptativo e evolutivo. A dor pode ser definida como uma experiência subjetiva que inclui componentes sensoriais, afetivo-emocionais e cognitivos. Evidências apontam para o papel da amígdala, córtex cingulado anterior (CCA) e insula na modulação da dor e da empatia. Estudos indicam para a capacidade de roedores em apresentarem empatia frente à dor ou ao sofrimento de seus coespecíficos. Trabalhos da literatura e do nosso grupo demonstram que a convivência em pares é capaz de alterar bidirecionalmente a resposta nociceptiva em camundongos. Entretanto, nenhum estudo havia ainda evidenciado se ocorrem alterações nociceptivas devido à convivência com um coespecífico em quadro de dor crônica, e quais estruturas encefálicas estariam envolvidas nessa modulação. Neste sentido, camundongos machos Suíço-albinos foram alojados em grupos ou em duplas para avaliação do papel da amígdala, insula e córtex cingulado anterior por meio de inativação com cloreto de cobalto (CoCl_2). Os animais alojados em grupo (Experimento 1), ao atingirem idade entre 6-8 semanas, passaram por cirurgia estereotáxica. De 4 à 5 dias após a cirurgia, esses animais receberam microinjeção de salina ou CoCl_2 e, após 10 minutos, foram submetidos ao teste de contorções abdominais (ácido acético 0,6%, i.p., estímulo nociceptivo) durante 5 minutos. Nas duplas (Experimento 2), os animais conviveram por um período de 28 dias após o desmame. No 14º dia, um animal de cada par foi submetido à cirurgia de constrição do nervo ciático (animal CNC) ou não (animal sham). No 24º dia, o camundongo que conviveu com o animal CNC ou animal sham passou por uma cirurgia estereotáxica, e, no 28º dia, foi submetido ao teste de contorções abdominais, após microinjeção de salina ou CoCl_2 , conforme Experimento 1. Para o Experimento 1 foi utilizado o teste *t* de Student para amostras independentes; no Experimento 2 foi utilizada a análise de variância (ANOVA) de dois fatores (convívio x tratamento). O *post hoc* utilizado foi o teste de comparações múltiplas de Duncan. Os valores de *p* menores ou iguais a 0,05 foram considerados como significativos nos dois experimentos. No Experimento 1, a inativação da amígdala aumentou o número de contorções, enquanto a inativação do CCA e da insula não alterou esse parâmetro, sugerindo um papel modulatório distinto dessas estruturas no componente sensorial da dor para o teste de contorções. No experimento 2, o convívio com um animal CNC aumentou o número de contorções no parceiro, sugerindo que essa convivência causou ativação dos circuitos de representatividade neural da dor no camundongo observador (state of “priming”). Dessa forma, quando esse animal experiencia nociceção, sua resposta é exacerbada. Nessa condição, a inativação da insula e amígdala produziu resultados opostos, ou seja, diminuição e aumento das contorções naqueles animais que conviveram com o animal CNC, respectivamente. A inativação do CCA não alterou o número de contorções. Nesse sentido, nossos resultados sugerem um papel modulatório distinto dessas estruturas nos componentes cognitivo, afetivo-emocional e sensorial da dor, e na empatia para a dor.

Palavras-chave: Dor. Empatia. Amígdala. Córtex cingulado anterior. Insula. Camundongo.

Empathy in mice: Evaluation of the role of Amygdala, Insula and Anterior Cingulate Cortex in nociception in mice exposed to the Writhing Test

ABSTRACT

Empathy can be defined as the capacity for perceive emotional signals from others. Among these signals, the ability to perceive pain has clear adaptive and evolutionary value. Pain can be defined as a subjective experience that includes sensorial, emotional and cognitive components. Evidence has emphasized the role of amygdala, anterior cingulate cortex (ACC) and insula in modulation of pain and empathy. Research indicates the capacity of rodents to express empathy to a conspecific in pain or suffering. Works from literature and finds from our laboratory demonstrated that living together with a cagemate is able to alter the nociceptive behavior in mice. However, there are no works evidencing if occur alterations in nociception by living together with a cagemate with chronic pain and which encephalic structures would be involved in this modulation. To overcome this, male Swiss-albino mice were housed in groups or in pairs. The role of amygdala, ACC and insula are accessed by non-selective inactivation with cobalt chloride (CoCl₂). Mice housed in groups (Experiment 1), aging 6-8 weeks, underwent a stereotaxic surgery. 4 to 5 days after surgery, these animals received saline or CoCl₂ microinjection, and, after 10 minutes, they were submitted to the writhing test during 5 minutes (acetic acid 0.6%, i.p., nociceptive stimulus). On the dyads (Experiment 2), animals lived together for 28 days since weaning. On the 14th day, one animal of each pair were submitted to a sciatic nerve constriction (SNC animal) or not (sham animal). On the 24th day, the cagemate underwent a stereotaxic surgery, and, on the 28th day, they were submitted to the writhing test after microinjection of saline or CoCl₂, like the procedure described to Experiment 1. To Experiment 1 were utilized Student's *t* test to independent samples; to Experiment 2 were utilized two-way analysis of variance (ANOVA; living together x treatment). Duncan's multiple range tests were utilized as *post hoc*. A *p* value of 0.05 or less was required for significance in both experiments. In Experiment 1, inactivation of the amygdala increased the number of writhing, while inactivation of ACC and insula did not alter this measure, suggesting a distinct modulatory role of these structures on the sensorial compound of pain. Our results demonstrated that for the mice that lived in groups, while inactivation of the ACC and insula did not change writhing, inactivation of amygdala increased it, suggesting a distinct modulatory role of these structures on sensory component of pain in the writhing test. In Experiment 2, living together with a SNC-cagemate increased writhing on the pair, suggesting that this experience activates the circuitry of neural representation of pain on the observer mouse (state of 'priming'). Thus, when this animal experienced nociception, its response was exacerbated. In this condition, inactivation of insula and amygdala produces opposite results, i.e., decreased and increased in contortions in those animals that lived together with a SNC animal, respectively. ACC inactivation did not alter writhing behavior. In this sense, our results suggest a different modulatory role of these structures on cognitive, affective-emotional and sensorial components of pain, and on empathy for pain.

Keywords: Pain; Empathy; Amygdala; Anterior Cingulate Cortex; Insula; Mice.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1. Histograma indicando a sequência de procedimentos empregados no Experimento 2 29
- Figura 2. Esquemas de seções coronais representando os sítios de injeções na: A. amígdala, B. córtex cingulado anterior e C. insula de camundongos. Os círculos preenchidos representam as áreas de infusão da droga nas estruturas-alvo. Os círculos vazados representam sítios de injeção fora das estruturas-alvo (Paxinos e Franklin, 2001) 33
- Figura 3. As barras representam as médias e o erro padrão da média (M+EPM) do número de contorções abdominais em camundongos alojados em grupos. A. Amígdala (n=10); B. CCA (n=10-11); C. Insula (n=8-9). * $p < 0,01$ comparado ao grupo salina 35
- Figura 4. As barras representam as médias e o erro padrão da média (M+EPM) do número de contorções abdominais em camundongos alojados em duplas com ou sem lesão da amígdala (n=7-8). * $p < 0,05$ em relação ao grupo CNC-salina; # $p < 0,05$ em relação ao respectivo grupo sham 36
- Figura 5. As barras representam as médias e o erro padrão da média (M+EPM) do número de contorções abdominais em camundongos alojados em duplas com ou sem lesão do córtex cingulado anterior (n=8-9). # $p < 0,05$ em relação ao respectivo grupo sham. 37
- Figura 6. As barras representam as médias e o erro padrão da média (M+EPM) do número de contorções abdominais em camundongos alojados em duplas com ou sem lesão da insula (n=7-9). * $p < 0,05$ em relação ao grupo CNC-salina; # $p < 0,05$ em relação ao respectivo grupo sham 38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Grupos experimentais formados no Experimento 1	28
Tabela 2. Grupos experimentais formados no Experimento 2	29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AP	Anteroposterior
BLA	Núcleo basolateral da Amígdala
CCA	Córtex Cingulado Anterior
CeA	Núcleo central da Amígdala
CNC	Constricção do Nervo Ciático
CoCl ₂	Cloreto de Cobalto
CPFm	Córtex Pré-Frontal medial
DV	Dorsoventral
EPM	Erro Padrão da Média
GFI	Giro Frontal Cortical inferior
i.p.	intraperitoneal
L	Lateral
La	Núcleo lateral da Amígdala
M	Média
n	número de sujeitos
SCP	Substância Cinzenta Periaquedutal

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
1.1	OBJETIVO GERAL	23
1.1.2	Objetivos Específicos	23
2	MATERIAL E MÉTODOS	24
2.1	SUJEITOS.....	24
2.2	ÉTICA	24
2.3	DROGA.....	24
2.4	CIRURGIA ESTEREOTÁXICA	25
2.5	MICROINJEÇÃO DE CLORETO DE COBALTO	25
2.6	CONSTRIÇÃO DO NERVO CIÁTICO	26
2.7	TESTE PARA MEDIR NOCICEPÇÃO.....	26
2.8	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	27
2.8.1	Experimento 1	27
2.8.2	Experimento 2	28
2.9	HISTOLOGIA.....	30
3	ANÁLISE ESTATÍSTICA	31
4	RESULTADOS	32
4.1	EXPERIMENTO 1	34
4.2	EXPERIMENTO 2	36
5	DISCUSSÃO	39
6	CONCLUSÃO	46
7	REFERÊNCIAS	47

1 INTRODUÇÃO

Diariamente tomamos decisões baseadas em emoções, pensamentos e intenções em relação às pessoas ao nosso redor. Muitas vezes, sem consciência, com rapidez e precisão, notamos as entrelinhas de uma conversa, ou ainda, sinais sutis de desconforto no outro. Essas observações nos leva à elaboração de inferências sobre os pensamentos e desejos do outro. Em muitos aspectos esta habilidade facilita a vida social, assim como estas rápidas inferências nos permite modificar nossas interações com os outros e responder adequadamente aos estímulos por esses enviados, mesmo quando não nos tenha sido diretamente comunicado (Morrison, 2004).

Partindo do ponto de vista evolutivo, é importante que um indivíduo seja capaz de perceber não apenas suas emoções, mas também daqueles ao seu redor, a fim de viabilizar/aperfeiçoar a sobrevivência da espécie e facilitar comportamentos pertinentes como reprodução e fuga do predador (Plutchik, 1992; Preston e de Waal, 2002). A habilidade para perceber estas emoções, para discriminá-las e usar esta informação para guiar nossos pensamentos e ações é denominada inteligência emocional (Salovey e Mayer, 1989-90). De acordo com Gardner (1983), inteligência emocional é parte da inteligência social e pessoal, sendo que estas incluem conhecimento a respeito de si e dos outros.

Na sua forma mais primitiva, a inteligência emocional é considerada a capacidade de distinguir entre o sentimento de prazer e o sentimento de dor, enquanto que em seu nível mais avançado, nos permite detectar e simbolizar grupos de sentimentos complexos e altamente diferenciados (Gardner, 1983). Nesse sentido, essa sensibilidade social é frequentemente associada à empatia, a característica central da inteligência emocional, que consiste na habilidade de comunicação, de forma inata, intimamente ligada ao aparecimento de vínculos afetivos, ou seja, é um processo afetivo/cognitivo de modulação social das respostas emocionais e aprendizagem (Grenier e Luthi, 2010). De acordo com revisão realizada por Salovey e Mayer (1989-90), este processo nos permite entender o ponto de vista de outra pessoa, identificar acuradamente a emoção do outro, experimentar a mesma emoção ou outra apropriada em resposta à do outro e comunicar e/ou agir em resposta a esta experiência. Portanto, indivíduos que se comportam de uma forma mais empática devem apresentar uma sensibilidade social competente o suficiente para manter suas relações interpessoais (Salovey e Mayer, 1989-90).

Da mesma forma que em humanos, animais apresentam comportamentos relacionados aos seus comuns. Em virtude disto, Preston e de-Waal (2002) propuseram um modelo animal que incorpora pontos teóricos e empíricos sobre empatia. Esse modelo, denominado de modelo de percepção-ação, que engloba diversos pontos teóricos sobre o fenômeno da empatia e seus mecanismos, permite explicar diversos efeitos empíricos encontrados na literatura como a familiaridade, similaridade e experiências anteriores. O ponto chave sugere que a observação ou imaginação de outro indivíduo em um estado emocional particular ativa automaticamente a representação do mesmo estado no observador, e isto estaria associado a respostas autonômicas e somáticas pertinentes (Singer *et al.*, 2004). Esse modelo, juntamente com a ação do córtex pré-frontal e o entendimento de como as respostas comportamentais são refinadas com a experiência, poderia explicar os diferentes níveis de empatia em diferentes espécies e em diferentes faixas etárias em indivíduos de uma mesma espécie (Preston e de-Wall, 2002).

Estudos recentes envolvendo os mecanismos encefálicos da empatia oferecem algumas hipóteses intrigantes sobre o porquê da percepção de si mesmo e dos outros estarem relacionadas. Alguns trabalhos, como o apresentado anteriormente, propõem que a empatia é baseada no mecanismo de percepção-ação (Preston e de Waal, 2002; Gallese *et al.*, 2004). Isso implica que a observação de um estado motor, perceptivo ou emocional desenvolvido por um indivíduo ativa algumas das mesmas estruturas e processos neurais no observador como quando este desenvolve esta mesma ação ou experimenta esta mesma emoção (Moya-Albiol *et al.*, 2010). Mais recentemente, Zaki e Ochsner (2012) propuseram a divisão da empatia em três grandes faces: o mentalizar (*mentalizing*), que se caracteriza pela capacidade de perceber e entender o estado emocional do outro; o compartilhamento de experiências (*experience sharing*), como a habilidade de sentir o que o outro está sentindo ou algo convergente e adequado; e, o comportamento pró-social (*prosocial concern*), que seria a capacidade e propensão para pensar e agir frente ao estado do outro e ao contexto.

Estruturas como córtex pré-motor e parietal tem sido apontadas como sendo ativadas durante a execução de uma determinada ação e durante a observação da mesma ação realizada pelo outro (Cattaneo e Rizzolatti, 2009), sugerindo, dessa forma, 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 e Rizzolatti, 2009). Dessa forma, por meio dos sistemas espelho, uma reação emocional de um indivíduo pode levar a ativação de um 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 ou *mentalizing* (Gallese *et al.*, 2004; Shamay-Tsoory, 2011).

Evidências clínicas têm demonstrado que pessoas que convivem com um familiar ou são cuidadoras de indivíduos acometidos por algum tipo de quadro algico, apresentam percepção da dor alterada (Flor *et al.*, 1987; Miaskowski *et al.*, 1997), o que pode estar relacionado ao processo de empatia. Por outro lado, em alguns tipos de transtornos psiquiátricos relevantes, a habilidade de empatia está prejudicada, como, por exemplo, transtorno de personalidade antissocial (psicopatia) e transtornos do espectro do autismo (Muller *et al.*, 2003; Richell *et al.*, 2003; Dawson *et al.*, 2004; Hutman *et al.*, 2010).

Dessa forma, enquanto a empatia pode incluir diferentes níveis de habilidades cognitivas que variam de acordo com o contexto social, temporal, ambiental e as características individuais (Singer e Lamm, 2009), a emoção é um substrato básico para todos os tipos de capacidade empática (Panksepp e Lahvis, 2011). Neste sentido, a habilidade de perceber a dor também possui valor claramente adaptativo e evolutivo (Williams, 2002; Craig, 2009). Quando a situação potencialmente dolorosa é identificada, o observador pode tentar escapar da situação (fuga; comportamento nocifensivo ou defensivo frente a um estímulo nocivo) ou então auxiliar (luta; comportamento pró-social) aquele que está com dor (Shamay-Tsoory, 2011).

A existência de vias da dor foi primeiramente descrita por Descartes, em 1644, e, no início do século XX, Sherrington sugeria o termo nocicepção, relacionando o estímulo doloroso a manutenção da integridade do organismo (Brooks e Tracey, 2005). 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). Esses componentes são ativados por receptores

morfologicamente diferenciados denominados nociceptores, que respondem a estímulos nociceptivos como os térmicos, mecânicos e químicos, permitindo a sensação, identificação e localização dos estímulos dolorosos ou não, bem como possibilitam sua quantificação, duração e intensidade (Brandão, 2004; Machado, 2006).

A informação dolorosa é transmitida através de dois principais tipos de fibras sensoriais aferentes primárias: A δ , com pouca mielina e de diâmetro médio; e C, não mielinizadas e finas (Vitor *et al.*, 2008; Steeds, 2009). Os corpos celulares das fibras nociceptivas aferentes penetram na medula pelas raízes dorsais até alcançarem a substância cinzenta do corno dorsal, que se subdivide em lâminas. Dentre essas, a lâmina II ou Substância Gelatinosa, e as lâminas I e V são os principais sítios de terminação das fibras nociceptivas primárias (Suzuki *et al.*, 2004; Steeds, 2009). Após transmitida para os neurônios secundários e interneurônios do corno dorsal da medula, a informação dolorosa é enviada, por meio das vias espinotalâmicas, espinoparabrânquio-amidalóide e espinoretículo-talâmica (Bushnell *et al.*, 2013), para estruturas corticais e subcorticais envolvidas de forma diferente em cada um de seus componentes (Bornhovd *et al.*, 2002; Gebhart, 2004; Suzuki *et al.*, 2004; Steeds, 2009). Algumas das estruturas corticais que fazem parte dessas vias são o córtex somatossensorial primário e secundário, córtex cingulado anterior (CCA), insula, córtex pré-frontal e tálamo. Além dessas, estruturas subcorticais também integram as vias nociceptivas, tais como substância cinzenta periaquedutal (SCP), bulbo rostral ventromedial (RVM) e amígdala, constituindo, assim, a matriz de dor (Bornhovd *et al.*, 2002; Neugebauer *et al.*, 2009; Bushnell *et al.*, 2013).

Pesquisas recentes demonstraram que áreas cerebrais dessa matriz de dor, como a insula e o CCA, 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 e 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 tissular ou estímulo nocivo seria, de fato, necessário para a experiência de dor ou para a ativação das vias da dor nessa situação (Borsook e Becerra, 2009; Vachon-Pressseau *et al.*, 2011; Bushnell *et al.*, 2013)

Nesse sentido, na avaliação de estruturas que modulam os diferentes componentes da dor, em trabalho desenvolvido por Bushnell *et al.* (1999), foi observado que os córtices sensorial primário e secundário, estruturas do sistema lateral de transmissão dos estímulos dolorosos, estão implicados, principalmente, nos aspectos sensoriais discriminativos da dor, enquanto o CCA e a insula, estruturas do sistema medial, estão mais envolvidos no componente afetivo-emocional (Rainville *et al.*, 1997; Jeon *et al.*, 2010). Estudos apontam também que a ativação do CCA está correlacionada com processos atencionais e avaliativos associados com situações potencialmente dolorosas (Jackson *et al.*, 2005) e à memória de trabalho de dor, que diz respeito à memorização de informações relacionadas à dor e codificação de situações para evitar danos futuros (Bornhovd *et al.*, 2002), enquanto que a insula está mais correlacionada à intensidade do estímulo e à predição da dor (Corradi-Dell'Acqua *et al.*, 2011; Kross *et al.*, 2011), bem como é uma estrutura de conexão entre o córtex sensorial e o sistema límbico (Borsook e Becerra, 2009).

Em relação à amígdala, trabalhos demonstram que a injeção de morfina, um agonista opióide, no núcleo basolateral da amígdala aumenta a latência de retirada da cauda em ratos (McGaraughty e Heinricher, 2002) e, quando microinjetada no núcleo central da amígdala (CeA), essa mesma droga produz antinocicepção em ratos submetidos ao teste de formalina na pata (Manning e Mayer, 1995). Ainda no CeA, Ji *et al.* (2007) evidenciam o envolvimento de receptores CRF1 do CeA na ansiedade e na dor em ratos submetidos a um modelo de dor artrítica e expostos ao labirinto em cruz elevado (LCE). Em camundongos, estudos têm mostrado que a microinjeção de midazolam, um agonista dos receptores do ácido gama-aminobutírico (GABA), GABA_A-benzodiazepínicos, na amígdala bloqueia a antinocicepção induzida pelo medo em camundongos confinados aos braços abertos (BA) do LCE (Nunes-de-Souza *et al.*, 2000; Baptista *et al.*, 2009) e em outros testes, como, por exemplo, no teste de exposição ao predador (rato) (Canto-de-Souza e Barbalho, 2013).

Em relação à empatia, trabalho realizado com camundongos, em que um animal tem a possibilidade de ver um coespecífico receber choque nas patas, Jeon *et al.* (2010) demonstraram, também, ativação de estruturas do sistema límbico, como a amígdala, modulando comportamentos relacionados à empatia durante a observação de respostas nociceptivas de um camundongo pelo outro. 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), são transmitidas ao núcleo lateral (La) da amígdala por meio do sistema medial da dor. Estudos demonstram, ainda, que a ativação do CeA aumenta a resposta visceromotora à distensão

colorretal (Myers *et al.*, 2007), enquanto que a desativação desse mesmo diminui comportamentos nocifensivos 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 e a ampla modulação neuroquímica presente nessa estrutura (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 (Fields, 2004; Neugebauer *et al.*, 2009).

Assim, embora já tenha sido demonstrada a existência de uma relação recíproca entre dor e distúrbios e/ou habilidades de caráter afetivo em modelos animais, como a empatia (Boccalon *et al.*, 2006; Narita *et al.*, 2006; Hasnie *et al.*, 2007; Benbouzid *et al.*, 2008), e evidências neuroanatômicas de que estruturas encefálicas envolvidas na empatia são peças fundamentais na psicopatologia de distúrbios emocionais (Jeon *et al.*, 2010), o esclarecimento sobre como estes processos estariam se relacionando ainda permanece controverso na literatura. Nesse contexto, estudos têm se voltado a esclarecer as bases da empatia e a relação desta habilidade com diferentes estados emocionais e respostas comportamentais em modelos animais (Singer *et al.*, 2004; Langford *et al.*, 2006; Singer e Lamm, 2009).

Grenier e Luthi (2010) demonstram que roedores exibem modulação social sobre comportamentos emocionais, sendo que este comportamento poderia estar correlacionado a uma definição mais inicial de empatia, o contágio emocional. O contágio emocional é um processo psicológico relevante para empatia e se refere ao fenômeno cuja percepção da mudança comportamental em um indivíduo parece ativar automaticamente a mesma resposta em outro observador, como, por exemplo, o bocejo, o sorriso e o choro (Panksepp e Lahvis, 2011). Essa alteração comportamental pode ocorrer por observação de expressões faciais e corporais de emoções no outro, e ocorre por meio da ativação de estruturas cerebrais associadas com os sentimentos e emoções, como a insula, e, também, com a produção de expressões faciais que expressam emoção (Singer *et al.*, 2004).

Nesse sentido, estudos mais recentes apontam que roedores são capazes de exibir comportamento pró-social, uma das três grandes faces da empatia (Zaki e Ochsner, 2012), frente a um coespecífico em sofrimento (Ben-Ami Bartal *et al.*, 2011). Esses achados demonstram que, além da capacidade de contágio emocional, os roedores possuem a habilidade de empatia. Outros trabalhos também evidenciaram que os comportamentos

relacionados à dor são bidirecionalmente influenciados pelo comportamento do outro animal. Assim, ver um coespecífico sentindo dor pode aumentar ou diminuir a sensação de dor no camundongo observador quando submetido ao teste de contorções abdominais, ao teste de retirada da pata e ao teste de formalina na pata, dependendo da familiaridade entre os indivíduos (Langford *et al.*, 2006; Fachini *et al.*, 2011; Langford *et al.*, 2011).

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 vias e estruturas estariam envolvidas nessa modulação e se há a ocorrência desta modulação quando o sujeito não apenas observa o outro exibir respostas relacionadas à nocicepção no período de teste (Langford *et al.*, 2006), mas, sim, quando é submetido ao convívio (Pham *et al.*, 2010). A partir de trabalhos da literatura (Langford *et al.*, 2006; Jeon *et al.*, 2010) e resultados recentes do nosso grupo (Fachini *et al.*, 2011), em que se destaca que a modulação social e a sensibilidade à dor em camundongos podem ser influenciadas por uma relação de familiaridade ou experiências prévias que os animais compartilham, é possível evidenciar a importância do convívio entre esses, no que diz respeito à intensidade da empatia expressa entre ambos, principalmente em seu aspecto cognitivo e afetivo.

A avaliação da resposta nociceptiva em roedores pode ser realizada por vários tipos de testes. Um deles se dá pela aplicação de substâncias irritantes no peritônio de roedores, o que irá causar um desconforto abdominal devido à inflamação peritoneal (Collier *et al.*, 1968). Este modelo, conhecido como teste de contorções abdominais, foi inicialmente empregado por Vanderwende e Margolin (1956), e permite mensurar a dor através do registro do número de contorções abdominais induzidas por estímulos químicos, sendo esse comportamento um indicativo de uma dor visceral aguda, tônica e difusa, com grande carga emocional (Tanimoto *et al.*, 2003; Steeds, 2009). As fibras que transmitem dor dos nociceptores viscerais (fibras A δ e C) atingem os centros encefálicos superiores pelas vias de dor que atingem o corno dorsal da medula. A informação transmitida por essas vias, ao atingirem o tálamo, e regiões do tronco encefálico, vão ser enviadas a estruturas como a amígdala, principalmente para o CeA, hipotálamo e para a porção posterior da insula, responsáveis pelo processamento, geração de uma memória e uma resposta apropriada, e atribuição de significado emocional a esse estímulo nociceptivo (Saper, 1982; Cervero e Laird, 1999; Tanimoto *et al.*, 2003).

Por se tratar de um estímulo nociceptivo inescapável para o animal e visível para o experimentador, o teste de contorções abdominais permite avaliar a nocicepção concomitantemente à exposição do animal a um ambiente ou situação potencialmente aversiva, bem como a análise das possíveis mudanças produzidas por esses fatores, ainda que

sutis. Desta forma, pode-se investigar a influência de estímulos externos, ambientais e sociais, na resposta nociceptiva (Nunes-de-Souza *et al.*, 2000; Baptista *et al.*, 2009).

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 são menos conhecidos (Langford *et al.*, 2006; Borsook e Becerra, 2009; Neugebauer *et al.*, 2009). Em modelos animais tradicionalmente usados para avaliar a nocicepção, a dissociação entre esses componentes ainda é um desafio, uma vez que estes são altamente correlacionados, tornando difícil individualizar a contribuição de cada estrutura em termos de como o cérebro integra a experiência dolorosa (Neugebauer *et al.*, 2009). Para tentar esclarecer alguns desses aspectos, ferramentas científicas e protocolos experimentais, como os de empatia, têm sido desenvolvidos (Langford *et al.*, 2006; Langford *et al.*, 2010). Assim, o modelo de empatia que permite a análise das respostas autonômicas de roedores após um determinado período de convívio com um coespecífico (convívio em duplas) tem demonstrado avanços nesse sentido (Langford *et al.*, 2006; Ben-Ami Bartal *et al.*, 2011).

No presente estudo, para esclarecer como a empatia frente à dor influenciaria na resposta nociceptiva de camundongos após o convívio com um coespecífico, um dos animais da dupla foi submetido a um modelo de dor crônica. Para isso, foi realizado o método de constrição do nervo ciático (Bennett e Xie, 1988). Este caracteriza-se por ser um dos modelos mais frequentemente utilizado como método experimental na investigação sobre dor neuropática, que é classificada como um dos tipos de dor crônica (Bardin *et al.*, 2000; Ardid *et al.*, 2001; Vogel *et al.*, 2003; Nitanda *et al.*, 2005; Reis, 2007).

Para acessar o possível papel das estruturas encefálicas aqui estudadas, amígdala, córtex cingulado anterior e insula, foi realizada a inibição reversível com cloreto de cobalto (CoCl_2) (Crestani *et al.*, 2010). O CoCl_2 é um cátion bivalente que se dissocia em cobalto e cloreto. Assim como o cálcio entra na célula, o cobalto também entra, ocupando o lugar deste íon. Desta forma, biologicamente, o CoCl_2 causa indução de uma inativação não-seletiva das sinapses por competir com o cálcio, produzindo, na membrana neuronal pré-sináptica, inativação da transmissão sináptica, sem, contudo, afetar as fibras de passagem (Kretz, 1984).

Diante das evidências da literatura apresentadas acima, *permanece desconhecido o papel da amígdala, córtex cingulado anterior e insula na modulação da nocicepção e na empatia promovida pela convivência com o par submetido a um modelo de dor crônica em camundongos.*

1.1 OBJETIVO GERAL

Investigar o papel da amígdala, insula e córtex cingulado anterior na nocicepção e na empatia promovida pela convivência com o par submetido a um modelo de dor crônica em camundongos.

1.1.2 Objetivos Específicos

Para isso, foram realizados os seguintes experimentos:

- 1) Experimento 1. Avaliação do papel da amígdala, insula e córtex cingulado anterior na nocicepção em camundongos expostos ao teste de contorções abdominais;
- 2) Experimento 2. Avaliação do papel da amígdala, da insula e do córtex cingulado anterior na empatia promovida em camundongos pela convivência com um coespecífico em quadro de dor neuropática induzido por constrição do nervo ciático, e no número de contorções abdominais nesse contexto.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 SUJEITOS

Para a realização deste estudo foram utilizados 152 camundongos machos da cepa Suíço-albino, com idade entre 6-8 semanas, provenientes do biotério central da Universidade Federal de São Carlos - UFSCar. Os animais foram agrupados em gaiolas coletivas (41 x 34 x 16cm, 10 animais) ou aos pares (30 x 19 x 13cm), mantidos em condições controladas de temperatura (24 +/- 1 °C), luz (ciclo claro/escuro de 12/12 horas, luzes acesas às 7:00 horas e apagadas às 19:00 horas) e livre acesso ao alimento e água, exceto durante as breves sessões de teste. Todos os testes foram realizados durante a fase clara do ciclo de luz.

2.2 ÉTICA

O projeto apresentado foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de São Carlos - CEUA/UFSCar (Processo nº 045/2012). Além disso, os experimentos seguiram as normas e preceitos especificados pela diretriz brasileira para o cuidado e a utilização de animais para fins científicos e didáticos, elaborada pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA.

2.3 DROGA

Foi utilizado cloreto de cobalto (CoCl_2 ; Sigma, St. Louis, Missouri, USA), na dose de 1 mM/0,1 μL (Crestani *et al.*, 2010), dissolvido em salina estéril (0,9% NaCl).

2.4 CIRURGIA ESTEREOTÁXICA

Após anestesia com solução de cloridrato de cetamina e xilazina [100 mg/kg e 10 mg/kg, intraperitoneal (i.p.)], os animais passaram por uma cirurgia para a implantação bilateral intracraniana de cânulas-guia (25-gauge) de 7 mm de comprimento. As cânulas foram fixadas com cimento acrílico no crânio do animal. As coordenadas estereotáticas para implantação das cânulas-guia, baseadas no Atlas de Paxinos e Franklin (2001), foram: amígdala: anteroposterior (AP) = -0,8 mm, lateral (L) = $\pm 3,1$ mm e dorsoventral (DV) = -2,0 mm, em relação ao bregma; insula: AP = +0,7 mm, L = $\pm 3,3$ mm e DV = -2,0 mm; e, CCA: AP = +1,0 mm, L = $\pm 0,5$ mm e DV = -1,0 mm. O mandril, removido durante o procedimento de microinjeção, foi inserido dentro das cânulas-guia para evitar problemas com obstrução e para reduzir possível contaminação. Durante a cirurgia, os animais receberam cetoprofeno (5 mg/kg, i.p.) (Lu *et al.*, 2004) e ceftriaxona (4 mg/kg, i.p.) (Stepanovic-Petrovic *et al.*, 2014). Os animais permaneceram em recuperação por 4 a 5 dias após a cirurgia, e posteriormente foram submetidos ao teste comportamental.

2.5 MICROINJEÇÃO DE CLORETO DE COBALTO

Para investigar o papel específico da amígdala, insula e CCA, inativações não-seletivas e reversíveis bilaterais com CoCl_2 foram realizadas nessas estruturas, separadamente. Para isso, 10 minutos antes do teste nociceptivo cada animal foi manual e gentilmente contido pelo experimentador e recebeu microinjeções de 0,1 μL (na estrutura alvo) de solução 1mM de CoCl_2 . A agulha de injeção (33-gauge) foi inserida dentro da cânula-guia para a injeção da solução dentro das estruturas citadas na cirurgia estereotática, sendo que o comprimento da mesma ultrapassou 3,0 mm, 2,0 mm e 1,0 mm a ponta da cânula-guia para amígdala, insula, e CCA, respectivamente. A agulha de microinjeção foi conectada, por meio de tubo de polietileno (PE-10), à microsseringa Hamilton (10 μL). Uma bomba de infusão (Insight BI2000) foi programada para injetar 0,1 μL de solução durante um período de 60 segundos. O procedimento de microinjeção consistiu na remoção do mandril, inserção da agulha de microinjeção, infusão da solução de CoCl_2 por 60 segundos e permanência da agulha de injeção por 90 segundos, a fim de evitar refluxo da solução injetada. O movimento de uma

pequena bolha de ar no tubo de polietileno antes, durante e depois das injeções confirmou o fluxo da solução (Nunes-de-Souza *et al.*, 2000; Reis e Canto-de-Souza, 2008).

2.6 CONSTRIÇÃO DO NERVO CIÁTICO (CNC)

O método de Bennet e Xie (1988) foi utilizado como modelo de dor neuropática e consistiu em, após anestesia com cetamina e xilazina (100 mg/kg e 10 mg/kg, i.p.), a realização de uma secção da fáscia entre o glúteo e o bíceps femural dos animais e a exposição do nervo ciático direito próximo a sua trifurcação. O tecido ao redor do nervo era cuidadosamente cortado a uma distância de aproximadamente 8 mm e, posteriormente, a compressão do nervo foi realizada através de três ligaduras com fio estéril, não inflamatório e não absorvível, mononylon 6.0. Nesses animais, assim como o demonstrado por Bennet e Xie (1988), a confirmação da dor crônica foi possível por meio da observação de comportamentos como a manutenção da pata com o nervo constricto em uma posição resguardada, sinais inflamatórios como rubor e edema, e respostas nocifensivas espontâneas como o comportamento de coçar o ar.

2.7 TESTE PARA MEDIR A NOCICEPÇÃO

A nocicepção foi avaliada pelo teste de contorções abdominais, descrito por Vanderwende 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 de ácido acético a 0,6% (10 mL/kg, i.p.) (Nunes-de-Souza *et al.*, 2000; Baptista *et al.*, 2009).

2.8 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

2.8.1 Experimento 1. Avaliação do papel da amígdala, da insula e do córtex cingulado anterior, por meio da microinjeção de CoCl_2 , na nocicepção em camundongos submetidos ao teste de contorções abdominais.

Camundongos alojados em grupos de 10 por gaiola foram submetidos à cirurgia estereotáxica da amígdala, insula ou CCA de acordo com o procedimento descrito para a cirurgia. Ao final da cirurgia, os animais receberam injeções de cetoprofeno (5 mg/kg) (Lu *et al.*, 2004) e ceftriaxona (4 mg/kg) (Stepanovic-Petrovic *et al.*, 2014). Em seguida, os animais retornaram à caixa viveiro, permanecendo em recuperação após cirurgia por um período de 4 a 5 dias. No 5º dia, cada camundongo recebeu microinjeção de solução salina (0,9 % NaCl) ou CoCl_2 (0,1 μL), formando, assim, dois grupos para cada uma das estruturas: Salina (camundongos sem inativação, controle) e CoCl_2 (camundongos com inativação). Após a infusão de CoCl_2 ou salina, conforme descrito no procedimento de microinjeção, foi realizada a injeção de ácido acético 0,6% (0,1 ml/10g, i.p.). Os animais permaneceram em gaiolas individuais por 5 minutos até o início das contorções. Os animais que não contorceram durante esse período foram eliminados do experimento. Após a confirmação do início das contorções, foi realizado o registro do número de contorções abdominais na gaiola, durante 5 minutos.

Imediatamente após o término do experimento, os animais foram anestesiados com solução de cloridrato de cetamina e xilazina (100 mg/kg e 10 mg/kg, i.p., respectivamente) para marcação dos sítios de microinjeção (ver sessão 2.9), e, em seguida, sacrificados por deslocamento cervical. Os experimentos foram filmados por uma câmera conectada a um computador alocado em uma sala adjacente à sala de testes. Os resultados coletados foram analisados posteriormente utilizando o programa X-Plo-Rat 2005, versão 1.1.0 (Garcia *et al.*, 2005).

Tabela 1. Grupos experimentais formados no Experimento 1

Estrutura	Salina	CoCl₂
Amígdala	n = 10	n = 10
CCA	n = 10	n = 11
Insula	n = 9	n = 8

Os números representam o total de camundongos utilizados por grupo.

2.8.2 Experimento 2: Avaliação do papel da amígdala, da insula e do córtex cingulado anterior na empatia promovida em camundongos pela convivência com um coespecífico em quadro de dor neuropática induzido por constrição do nervo ciático, e no número de contorções abdominais nesse contexto.

Aos 21 dias pós-nascimento (desmame) os animais foram alojados em pares nas caixas viveiro. Após 14 dias de convivência, um dos animais de cada par (animal 1) foi submetido à constrição do nervo ciático (animais CNC) ou não (animais sham, em que foi realizada a cirurgia, porém não houve a compressão do nervo). Após 10 dias, o animal que conviveu com o par em quadro de dor crônica (CNC) ou SHAM (animal 2), passou por cirurgia estereotáxica, e após 5 dias foi submetido ao teste de contorções abdominais, conforme procedimento descrito no Experimento 1, totalizando, assim, 28 dias de convivência (Langford *et al.*, 2006).

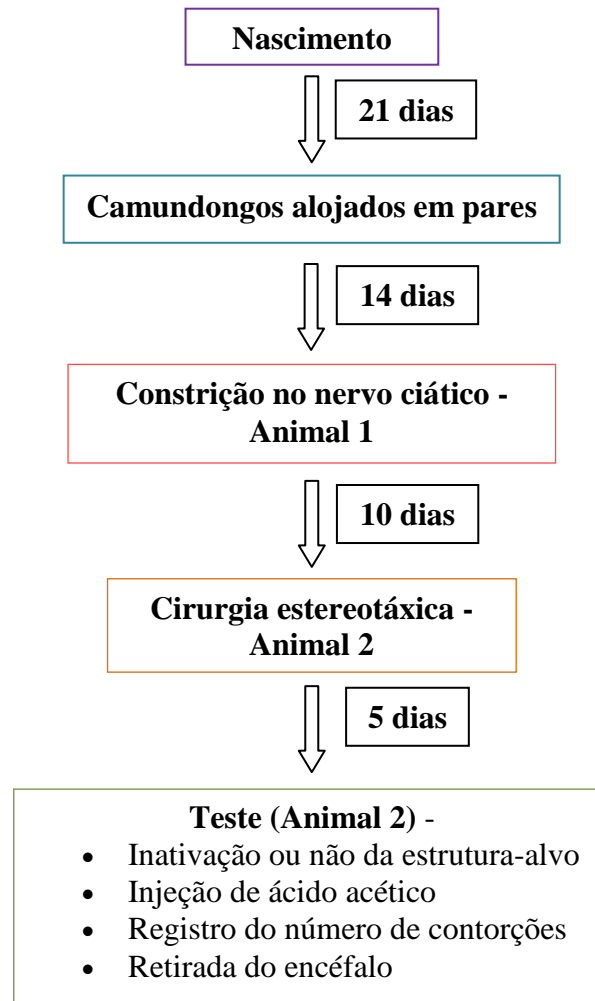


Figura 1. Histograma indicando a sequência de procedimentos experimentais empregados no Experimento 2.

No Experimento 2, diferente do Experimento 1, as contorções abdominais foram avaliadas na mesma caixa de convívio com o parceiro com dor crônica.

Dessa forma, foram formados 4 grupos experimentais para cada estrutura avaliada, conforme mostrado na tabela abaixo:

Tabela 2. Grupos experimentais formados no Experimento 2

Estrutura	Sham-salina	Sham-CoCl₂	CNC-salina	CNC-CoCl₂
Amígdala	n = 7	n = 8	n = 8	n = 8
CCA	n = 8	n = 8	n = 9	n = 8
Insula	n = 7	n = 7	n = 9	n = 7

Os números representam o total de camundongos utilizados por grupo.

2.9 HISTOLOGIA

Após o término dos experimentos os animais foram anestesiados (cetamina e xilazina, 100 mg/kg e 10 mg/kg, i.p.) e receberam injeção de 0,1 µL de solução de 2% de azul de Evans, de acordo com o procedimento descrito para a microinjeção de drogas. Os animais foram, em seguida, sacrificados por deslocamento cervical, decapitados, seus cérebros removidos e acomodados em recipientes contendo solução de formalina (10%). Posteriormente, com o uso de micrótomo (Leica CM1850), os encéfalos foram seccionados em sentido coronal ao longo do trajeto das cânulas. As secções foram analisadas com o uso de um microscópio óptico (Olympus BX41TF), e a visualização da marcação com o azul de Evans indicou os sítios da injeção, confirmados de acordo com o atlas de Paxinos e Franklin (2001).

3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

No Experimento 1, os dados foram analisados pelo teste t de Student para amostras independentes. No experimento 2, os dados foram analisados pela Análise de Variância (ANOVA) de dois fatores (fator 1: convívio; e fator 2: tratamento), seguida pelo teste de comparações múltiplas de Duncan.

Os valores de p menores ou iguais a 0,05 foram considerados como significativos em ambos os experimentos.

4 RESULTADOS

As análises histológicas confirmaram que, no total, 51 camundongos foram canulados na amígdala, sendo que, desses, 20 foram distribuídos no Experimento 1 [Salina (n=10), CoCl₂ (n=10)] e 31 no Experimento 2 [Sham-Salina (n=7), Sham-CoCl₂ (n=8), CNC-Salina (n=8), CNC-CoCl₂ (n=8)] (Figura 2A); 55 no CCA, sendo que, desses, 21 foram distribuídos no Experimento 1 [Salina (n=10), CoCl₂ (n=11)] e 34 no Experimento 2 [Sham-Salina (n=8), Sham-CoCl₂ (n=9), CNC-Salina (n=9), CNC-CoCl₂ (n=8)] (Figura 2B); e 47 na insula, sendo que, desses, 17 foram distribuídos no Experimento 1 [Salina (n=9), CoCl₂ (n=8)] e 30 no Experimento 2 [Sham-Salina (n=7), Sham-CoCl₂ (n=7), CNC-Salina (n=9), CNC-CoCl₂ (n=7)] (Figura 2C).

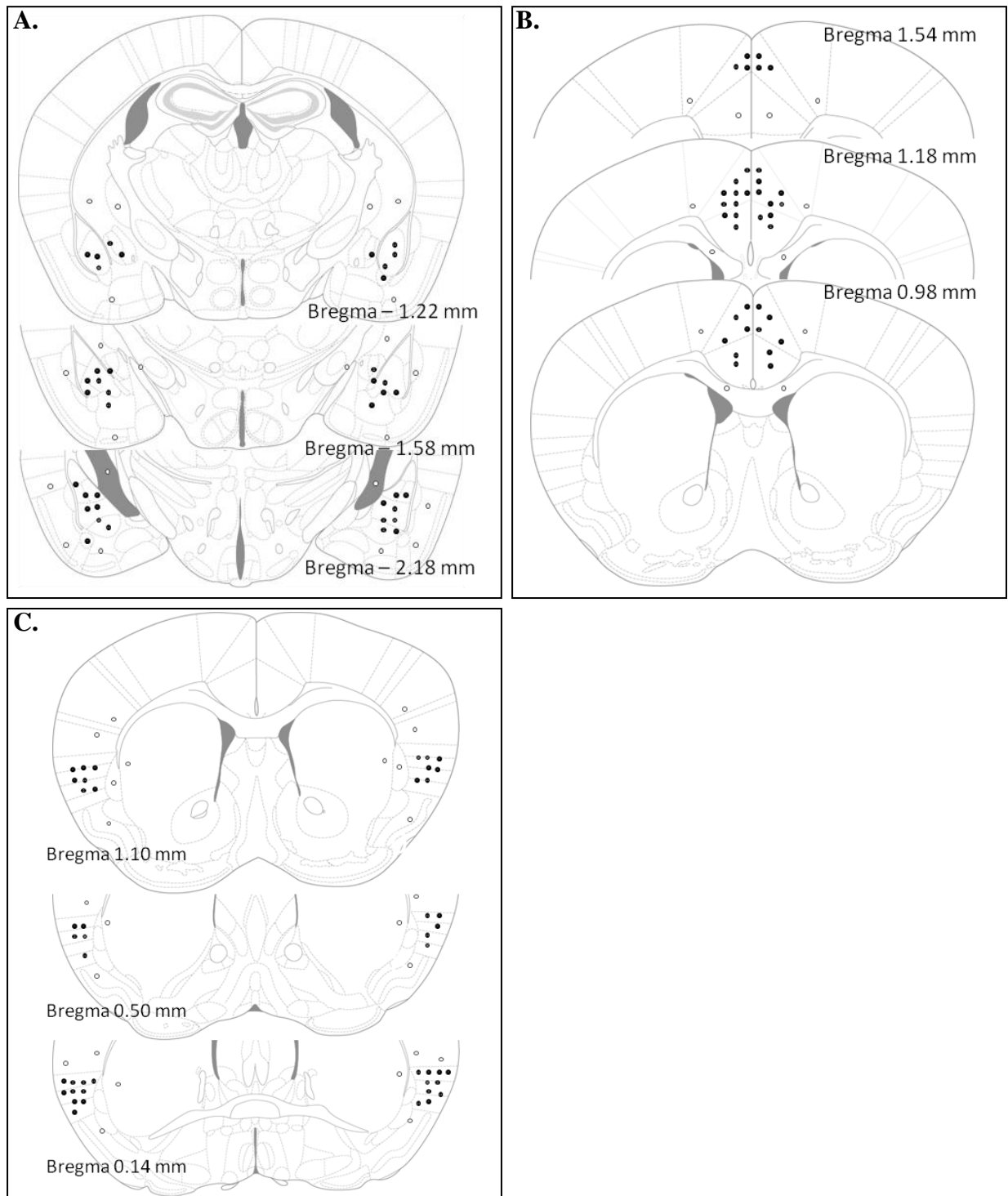


Figura 2. Esquemas de seções coronais representando alguns dos sítios de injeção na: A. amígdala, B. CCA e C. insula de camundongos. Os círculos preenchidos representam as áreas de infusão da droga nas estruturas-alvo. Os círculos vazados representam sítios de injeção fora das estruturas-alvo (Paxinos e Franklin, 2001). O número de círculos é inferior ao número de acertos devido à sobreposição dos acertos.

4.1 Experimento 1. Avaliação do papel da amígdala, da insula e do córtex cingulado anterior, por meio da microinjeção de CoCl_2 , na nocicepção em camundongos submetidos ao teste de contorções abdominais.

Para os camundongos que receberam injeções intra-amígdala o teste t de Student revelou efeito estatisticamente significativo para o tratamento [$t_{(18)} = -3,65$; $p < 0,01$]. O teste indicou que o número de contorções foi significativamente maior nos animais tratados com CoCl_2 quando comparados com aqueles tratados com salina (Figura 3A).

Para aqueles animais que receberam injeções intra-CCA ou intra-insula o teste t não revelou efeito significativo para o tratamento [$t_{(18)} = 0,37$; $p > 0,05$; $t_{(15)} = -0,98$; $p > 0,05$, respectivamente] (Figuras 3B, 3C).

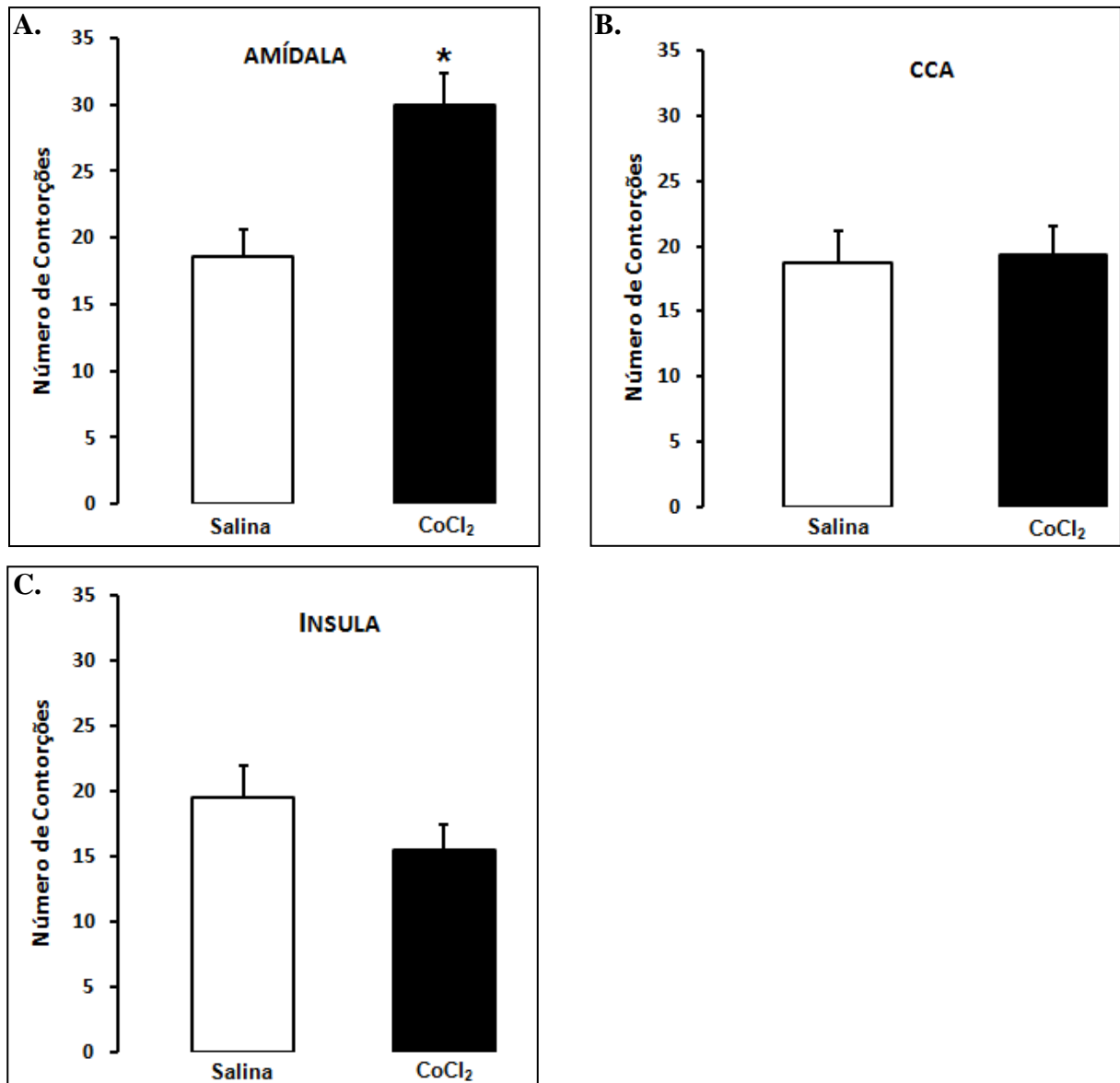


Figura 3. As barras representam as médias e o erro padrão da média (M+EPM) do número de contorções abdominais em camundongos alojados em grupos. A. Amígdala (n=10); B. CCA (n=10-11); C. Insula (n=8-9). * $p < 0,01$ comparado ao grupo salina.

4.2 Experimento 2. Avaliação do papel da amígdala, da insula e do córtex cingulado anterior na empatia promovida em camundongos pela convivência com um coespecífico em quadro de dor neuropática induzido por constrição do nervo ciático, e no número de contorções abdominais nesse contexto.

Para os animais que receberam injeção intra-amígdala de salina ou CoCl_2 (Figura 4), a ANOVA de duas vias (convívio x tratamento) demonstrou efeitos significativos para o tipo de convívio ($F_{(1,27)}=15,45$; $p < 0,01$) e para o tratamento ($F_{(1,27)}=7,52$; $p < 0,05$), sem efeito significativo para a interação entre tratamento e convívio ($F_{(1,27)}=0,05$; $p > 0,05$). Comparações posteriores utilizando o teste de comparações múltiplas de Duncan revelaram que os animais que conviveram com o parceiro com constrição no nervo ciático (CNC) apresentaram aumento do número de contorções abdominais quando comparados aos animais que conviveram com um coespecífico sham, independente do tratamento utilizado. Entretanto, o grupo com inativação da amígdala que conviveu com um parceiro CNC (grupo CNC- CoCl_2) apresentou aumento do número de contorções abdominais quando comparado ao grupo CNC-salina. Nos grupos sham, independente do tratamento utilizado não ocorreu alteração significativa no número de contorções.

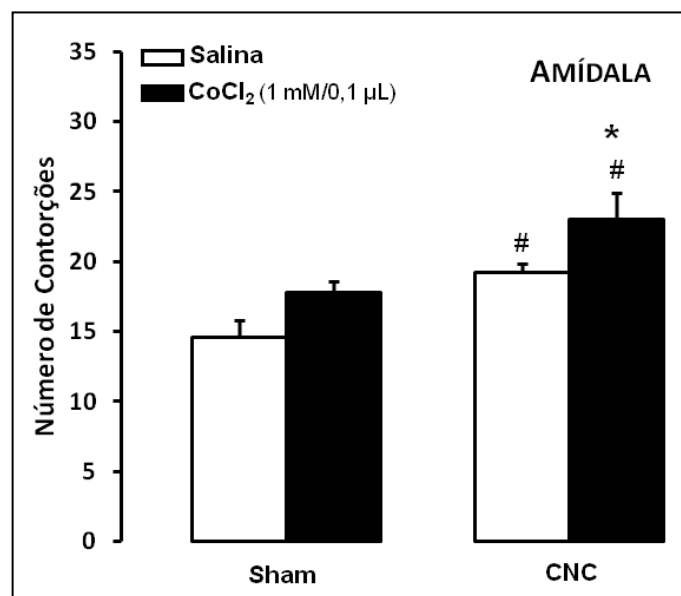


Figura 4. As barras representam as médias e o erro padrão da média (M+EPM) do número de contorções abdominais em camundongos alojados em duplas com ou sem lesão da amígdala (n=7-8). * $p < 0,05$ em relação ao grupo CNC-salina; # $p < 0,05$ em relação ao respectivo grupo sham.

Para os animais que receberam microinjeções de salina ou CoCl_2 no CCA (Figura 5), a ANOVA revelou diferença significativa para o convívio ($F_{(1,29)}=9,9$; $p < 0,05$), mas não demonstrou diferença para o tratamento ($F_{(1,29)}=1,82$; $p > 0,05$) ou para interação entre tratamento e convívio ($F_{(1,29)}=0,003$; $p > 0,05$). O teste de comparações múltiplas de Duncan demonstrou aumento no número de contorções nos animais que conviveram com um coespecífico com constrição do nervo ciático (grupos CNC-salina e CNC- CoCl_2) quando comparados com os respectivos grupos de camundongos que conviveram com um parceiro sham (grupos sham-salina e sham- CoCl_2).

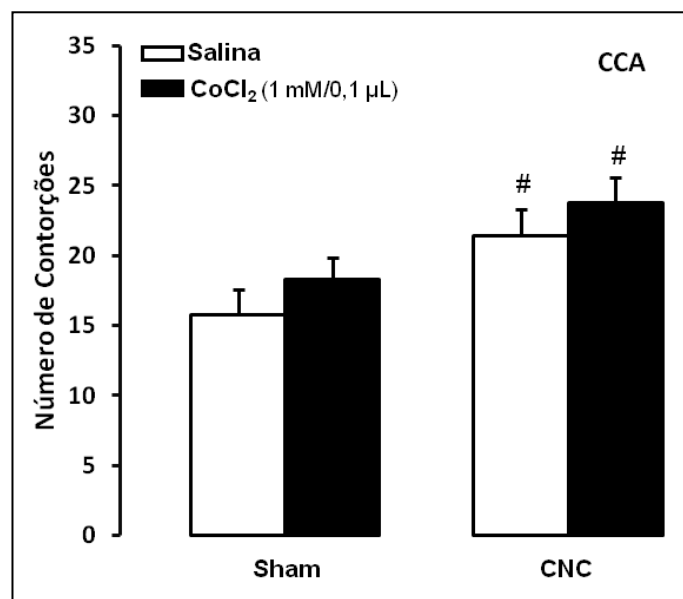


Figura 5. As barras representam as médias e o erro padrão da média (M+EPM) do número de contorções abdominais em camundongos alojados em duplas com ou sem lesão do córtex cingulado anterior (n=8-9). # $p < 0,05$ em relação ao respectivo grupo sham.

Para os animais que receberam microinjeções de salina ou CoCl_2 na insula (Figura 6), a ANOVA de duas vias demonstrou uma diferença significativa para o convívio ($F_{(1,26)}=19,52$; $p < 0,05$), mas não demonstrou diferença para o tratamento ($F_{(1,26)}=3,47$; $p = 0,07$) nem para a interação entre tratamento e convívio ($F_{(1,26)}=1,59$; $p > 0,05$). O teste de comparações múltiplas de Duncan revelou um aumento no número de contorções nos grupos que conviveram com um coespecífico em quadro de dor crônica (grupos CNC-salina e CNC- CoCl_2) quando comparados com os respectivos grupos sham (sham-salina e sham- CoCl_2).

Apesar da ANOVA não ter apresentado efeito do tratamento ou da interação entre convívio e tratamento, o valor de p ficou muito próximo da significância. Portanto, ao realizarmos o *post hoc* de Duncan foi observado diminuição no número de contorções no grupo com inativação da insula que conviveu com um parceiro com constrição do nervo ciático (grupo CNC-CoCl₂) quando comparado ao grupo de animais que também conviveu com um coespecífico com constrição do nervo sem inativação da insula (grupo CNC-salina).

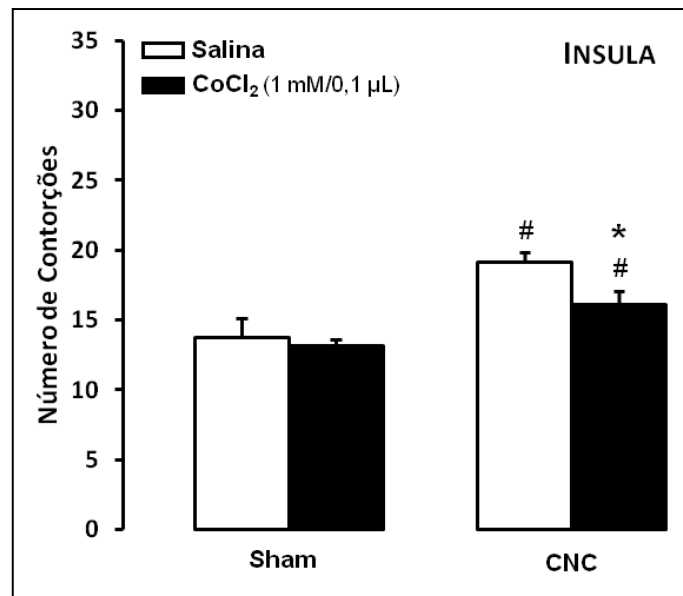


Figura 6. As barras representam as médias e o erro padrão da média (M+EPM) do número de contorções abdominais em camundongos alojados em duplas com ou sem lesão da insula (n=7-9). * $p < 0,05$ em relação ao grupo CNC-salina; # $p < 0,05$ em relação ao respectivo grupo sham.

5 DISCUSSÃO

Os resultados demonstram que a inativação da amígdala causa um efeito pró-nociceptivo, aumentando o número de contorções nos camundongos alojados em grupos, enquanto que inativação do CCA e da insula com CoCl_2 não produz alterações no número de contorções abdominais (Experimento 1). Para os animais alojados em pares (Experimento 2), independente se a estrutura estava inativada ou não, o convívio com o animal com constrição no nervo ciático (CNC) produziu aumento no número de contorções quando comparados com aqueles que conviveram com o animal sham. Entretanto, a avaliação intra-grupos produziu respostas diferentes dependentes da estrutura e do tratamento. Assim, enquanto a inativação da amígdala produziu aumento do número de contorções, a inativação da insula produziu redução das contorções nos camundongos CNC- CoCl_2 quando comparados aos CNC-salina. A inativação do CCA não alterou o número de contorções nos camundongos CNC- CoCl_2 comparados aos CNC-salina.

A participação das três estruturas aqui investigadas na modulação de situações dolorosas ou potencialmente dolorosas tem sido largamente descrita na literatura em roedores, primatas e humanos (Peyron *et al.*, 2000; Bornhovd *et al.*, 2002; Singer *et al.*, 2004). Também é descrito o papel delas na empatia (Shamay-Tsoory, 2011), e na empatia para dor ou sofrimento do outro indivíduo nesses mesmos grupos (Loggia *et al.*, 2008; Neugebauer *et al.*, 2009; Corradi-Dell'Acqua *et al.*, 2011).

Nesse sentido, estudos com lesão excitotóxica dos núcleos central (CeA) e basolateral da amígdala (BLA) revelaram um aumento no número de contorções em ratos (Tanimoto *et al.*, 2003), e, também, lesões eletrolíticas do CeA atenuaram a analgesia induzida por situações aversivas (Fox e Sorenson, 1994). Além disso, Nakagawa *et al.* (2003) demonstraram que injeções de ácido acético (i.p.) induzem aumento da expressão de RNAm para *c-fos* nos núcleos CeA e La da amígdala em ratos, confirmando a participação dessa estrutura na modulação do processamento sensorial da dor no modelo empregado no presente trabalho. Nossos resultados do Experimento 1 corroboram tais estudos, uma vez que a inativação da amígdala com CoCl_2 em camundongos produziu aumento no número de contorções, uma medida do componente sensorial da dor. Nós sugerimos que essa resposta seja devido à inativação de uma estrutura relevante para o circuito descendente inibitório da dor (Fields, 2004; McGaraughty *et al.*, 2004), o que, dessa forma, exacerbou a resposta nociceptiva sensorial.

A participação do CCA e da insula nas vias nociceptivas é descrita em vários estudos (Peyron *et al.*, 2000; Bornhovd *et al.*, 2002). Evidências demonstram que a ativação ou inativação dessas estruturas corticais modulam os níveis de percepção e predição da dor (Ploghaus *et al.*, 2003), e, além disso, que a ativação do CCA (Zhuo, 2008) ou a desinibição da insula (Jasmin *et al.*, 2003) pode facilitar reflexos nocifensivos. Esses resultados elucidam, portanto, a participação dessas regiões nos componentes cognitivo e afetivo-emocional da dor.

Jeon (2010) demonstrou o envolvimento do CCA no componente afetivo-emocional da dor, mas não diretamente no componente sensorial. Zhuo (2008) evidencia a importância dessa estrutura para certos aspectos cognitivos da dor como antecipação, atenção e avaliação do estímulo. Dessa forma, por meio de conexões com demais estruturas da matriz dolorosa, a ativação do CCA poderia modular a intensidade da sensação dolorosa (Fields, 2004), embora isso não necessariamente ocorra em uma primeira experiência de dor (Singer e Lamm, 2009; Yan *et al.*, 2012).

Em relação a insula, trabalhos apontam para a extensa conectividade que essa estrutura possui (Saper, 1982; Starr *et al.*, 2009), o que lhe confere um papel complexo e multifacetado na dor. Nesse sentido, estudos demonstram que a ativação dessa região pode produzir tanto um efeito antinociceptivo (Craggs *et al.*, 2007) quanto um efeito pró-nociceptivo (Derbyshire *et al.*, 2004). Além disso, Berthier *et al.* (1988) (1987) demonstraram que pacientes com lesões da insula podem apresentar alterações comportamentais complexas quando em experiências de dor, como assimbolia, onde as respostas emocionais à dor são reduzidas, mas o limiar nociceptivo não é afetado.

Nesse sentido, apesar de não observarmos alterações na intensidade da primeira experiência de dor aguda em camundongos submetidos ao teste de contorções com inibição do CCA e da insula quando alojados em grupos (Experimento 1), não podemos descartar o envolvimento dessas estruturas em componentes mais altamente processados da dor como as respostas nocifensivas, emocionais e cognitivas (Bornhovd *et al.*, 2002; Neugebauer *et al.*, 2009; Shamay-Tsoory, 2011). Entretanto, investigações complementares se mostram necessárias para investigar essa possibilidade.

Levando em consideração esses resultados e o comprovado envolvimento dessas estruturas na empatia (Borsook e Becerra, 2009; Singer e Lamm, 2009; Bernhardt e Singer, 2012) e em estímulos de dor aguda visceral (Gao *et al.*, 2004; Langford *et al.*, 2010; Moisset *et al.*, 2010), nenhum estudo havia demonstrado o efeito da inibição dessas estruturas na modulação da dor aguda induzida pelo teste de contorções em camundongos após a convivência com outro animal submetido a um modelo de dor crônica, permitindo uma

avaliação mais distinta acerca da influência dos componentes cognitivo e afetivo-emocional da dor no componente sensorial. Dessa forma, nossos resultados demonstraram que o convívio com um par em quadro de dor crônica aumentou o número de contorções nos camundongos. Langford et al. (2006) constataram que a observação de um coespecífico com dor causa sensibilização de maneira geral nas vias da dor, induzindo um denominado *state of "priming"* no cérebro, onde um estímulo nocivo aplicado após determinada situação emocional anterior (*priming*) leva à uma exacerbação da experiência dolorosa subsequente.

O *state of "priming"* ocorre devido à ação do circuito dos neurônios espelho. Após a entrada da informação visual nesse circuito, os neurônios espelho se encarregam pelo entendimento das ações observadas, comparação dessas ações com o repertório comportamental do próprio indivíduo e ativação das vias de representatividade neuronal compatíveis com o estado observado. Ou seja, ao observar uma situação nociva, vias equivalentes a esse estado são ativadas como as vias da dor, do medo e o sistema aversivo (Cattaneo e Rizzolatti, 2009). Nesse sentido, sugerimos que a convivência também foi capaz de sensibilizar tais vias, por meio da ativação dos circuitos de representatividade neural da dor no camundongo observador. E, dessa forma, quando o animal foi submetido a uma situação dolorosa, a sensação nociceptiva desse mesmo foi exacerbada.

Neste sentido, entretanto, a inativação do CCA com CoCl_2 nos camundongos submetidos ao teste de contorções após 28 dias de convivência com um par com ou sem dor crônica não foi capaz de alterar a transmissão sensorial nociceptiva (Figura 4.B.). Apesar do nosso resultado não ter confirmado a participação dessa estrutura na modulação desse tipo de nocicepção, estudos apontam que ocorre a ativação dessa estrutura em situações de empatia para a dor ou sofrimento do outro (Jackson *et al.*, 2006; Singer e Lamm, 2009; Shamay-Tsoory, 2011). Assim, foi demonstrado que diferentes respostas à dor desencadeadas por diferentes estruturas da matriz de dor são espelhadas em diferentes sub-regiões do CCA, que, por sua vez, gera uma integração de toda essa informação (Devinsky *et al.*, 1995). Essa integração irá possibilitar a criação de uma memória associada à predição e evitação de futuros estímulos dolorosos (Yan *et al.*, 2012), e, também, permitir a elaboração de uma resposta emocional e comportamental apropriada (Bornhvd *et al.*, 2002). Com isso, sugerimos que, por meio desses processos e das modulações descendentes nas demais estruturas da matriz de dor, o CCA pode, indiretamente, promover alterações nas vias nociceptivas sensoriais (Singer e Lamm, 2009).

Os nossos resultados com inativação da amígdala mostram que ocorre alteração na transmissão nociceptiva influenciada pelo convívio, o que produziu aumento no número de

contorções nos camundongos (Experimento 2). Entretanto, cabe ressaltar que este aumento só ocorreu nos animais que conviveram com um par com dor crônica, mas não ocorreu quando conviveram com um par sham. Evidências da literatura indicam o papel dessa estrutura na modulação de diferentes situações dolorosas (Fox e Sorenson, 1994; Neugebauer *et al.*, 2009), em respostas emocionais (Goldstein *et al.*, 1996; LeDoux, 2012), no componente afetivo negativo da dor (Tanimoto *et al.*, 2003), e na empatia (Singer e Lamm, 2009). Corroborando esses estudos, os nossos resultados com a inativação da amígdala demonstraram um aumento na resposta nociceptiva quando camundongos foram submetidos ao teste de dor aguda (contorções abdominais) e também quando foram submetidos a essa mesma condição após conviverem com um coespecífico com constrição do nervo ciático. Desta forma, os nossos achados evidenciam o papel modulatório e integrativo da amígdala entre os componentes sensorial e afetivo-emocional da dor.

Nesse contexto, Singer e Lamm (2009) demonstram o papel da amígdala como estrutura de interconexão entre estímulos e processos sensoriais ascendentes (*bottom-up*) e processos avaliativos, metacognitivos - tais como a capacidade de sentir o que o outro está sentindo ao imaginá-lo em determinadas situações ou determinados estados emocionais -, e contextuais descendentes (*top-down*). Esse nível metacognitivo é continuamente atualizado por informações ascendentes e, em retorno, regula as respostas autonômicas e sensoriais por meio de um feedback descendente. Esses mesmos autores demonstram que a amígdala, entretanto, não é a única estrutura por onde as vias de modulação dos processos ascendentes e dos componentes descendentes exercem sua influência. Assim, sugerimos que a inibição da amígdala possa ter produzido enfraquecimento das vias descendentes inibitórias da dor, diminuindo a influência dessas vias na ascensão do estímulo pelas lâminas do corno dorsal da medula. Dessa forma, essa diminuição pôde permitir uma atuação mais significativa das vias descendentes facilitatórias nociceptivas, acarretando em aumento do número de contorções abdominais nos camundongos (Experimento 1). Além disso, a inibição dessa estrutura não impediu a influência da experiência de convívio (possível modulação descendente) sobre as vias nociceptivas, uma vez que, como demonstrado anteriormente, essa convivência aumentou o número de contorções dos animais, da mesma forma que, com a inativação da amígdala, esse aumento se manteve e foi exacerbado (Fig. 5, Experimento 2).

Nos animais onde foi realizada a inativação da insula, foi possível observar alteração na transmissão nociceptiva influenciada pela convivência, produzindo diminuição do número de contorções nesses camundongos após conviverem com um par em quadro de dor crônica, mas não após conviverem com um par sham. Em estudo anterior, Langford et al. (2010)

demonstraram que a lesão da insula em camundongos foi capaz de atenuar as expressões faciais de dor sem afetar o número de contorções, indicando que a inativação dessa estrutura em uma situação de dor aguda foi capaz de gerar alterações no componente emocional da dor, mas não no componente sensorial. Dessa mesma forma, em nossos achados, nos animais em que a insula foi inativada e foram submetidos ao teste de contorções abdominais (Experimento 1), não foram observadas alterações nos índices nociceptivos/sensoriais. Porém, quando os animais foram submetidos a esse mesmo teste após terem convivido com um coespecífico com dor neuropática, ou seja, após a inserção de uma condição de caráter afetivo e emocional, os animais exibiram atenuação do número de contorções (Fig. 6, Experimento 2) quando comparados com o seu controle.

De acordo com Fields (2004) e Starr et al. (2009), a amígdala e a insula possuem conexões recíprocas, além de enviarem e receberem projeções de centros superiores, como o córtex frontal e pré-frontal, e estruturas límbicas, como a substância cinzenta periaquedutal (SCP), constituindo a matriz de dor. Além disso, essas duas estruturas são ricamente inervadas por fibras aferentes talâmicas e do tronco encefálico que transmitem informação visceral (Saper, 1982; Tanimoto *et al.*, 2003). Essas regiões, juntamente com o hipotálamo, podem enviar projeções para estruturas do tronco encefálico, como SCP e bulbo rostral ventromedial, e, a partir daí, o estímulo seguirá pelas vias descendentes da dor. Esses autores reportam, ainda, que esses circuitos descendentes operam de forma serial, sendo ativados principalmente frente a estímulos nocivos prolongados e inescapáveis, como a aplicação de uma substância irritante no peritônio de animais, e que a inativação de alguma estrutura dessas vias pode levar a alterações na sensação da dor.

Essa matriz de dor vai se ligar a dois sistemas que, no que concerne a empatia, facultam duas habilidades que são pré-requisitos para que um indivíduo seja capaz de apresentar alterações comportamentais e autonômicas frente à situação do outro (Singer e Lamm, 2009; Shamay-Tsoory, 2011). A primeira habilidade envolve o sistema de neurônios espelho, que possibilita o compartilhamento de experiências (*experience sharing*). Como mencionado na introdução, esse circuito é dividido em sistema espelho motor e sistema espelho límbico (Cattaneo e Rizzolatti, 2009). O sistema motor tem como estrutura final o giro frontal cortical inferior (GFI), responsável pelo entendimento e coordenação de uma representação, e uma possível resposta motora frente à ação do outro (Cattaneo e Rizzolatti, 2009). Além disso, o GFI faz conexões com a estrutura central da segunda parte desse sistema (o sistema espelho límbico), a insula, que, por sua vez, vai ser responsável por associar um significado emocional à situação observada e, por meio de conexões com estruturas

subcorticais, como a amígdala e o núcleo magno da rafe, influenciar nas respostas autonômicas nesse contexto (Singer e Lamm, 2009).

Nesse sentido, Jasmin et al. (2003) descrevem que lesões ou inibição da insula produzem analgesia, sugerindo que essa estrutura, quando ativada, é responsável por uma hiperalgesia tônica. Gebhart (2004) demonstra que as vias descendentes da dor são tonicamente ativas, principalmente as inibitórias, uma vez que, ao passar pelo corno dorsal da medula, o estímulo nociceptivo sofre uma exacerbação, sendo que, uma das estruturas responsáveis por esse fenômeno é a insula. Tendo em vista que a insula é uma estrutura de integração entre o sistema límbico e centros corticais superiores, organizando a influência do controle descendente sobre a sensação e intensidade dolorosas (Singer e Lamm, 2009), sugerimos que a inibição dessa região impediu a ação desse controle, necessário para a ação da empatia promovida pela convivência com o par com dor crônica sobre a dor. Assim, ocorreu aumento da resposta nociceptiva, provavelmente em decorrência de um desacoplamento entre os componentes cognitivos, afetivo-emocionais e nocifensivos da dor, mais altamente processados, com o componente sensorial. Além disso, a inativação dessa região com o CoCl_2 também impediu a ação hiperalgésica tônica sobre as vias descendentes da dor, acarretando, dessa forma, em diminuição do número de contorções nos camundongos.

A segunda habilidade que é requerida para a capacidade de empatia é o processamento referencial. É fundamental que o indivíduo seja capaz de distinguir entre o que acontece com ele (*self*), ou seja, ter autoconsciência, daquilo que acontece com o outro, possibilitando a tomada de perspectiva e a inferência e o entendimento a respeito do estado mental do outro (*mentalizing*) (Premack, 1978; Singer e Lamm, 2009). As vias neurais do processamento referencial possuem como estrutura central o córtex pré-frontal medial (CPFm), responsável pela compreensão dos aspectos cognitivos e afetivos dessa percepção (Shamay-Tsoory, 2011). Trabalhos demonstram que essa estrutura possui larga conexão com o CCA, amígdala e SCP, permitindo uma autorreflexão emocional e a geração de uma resposta contextual adequada (Devinsky et al., 1995; Fields, 2004; Medford e Critchley, 2010).

As vias do processamento referencial, por meio da junção temporo-parietal e do GFI, se conectam às vias do sistema de neurônios espelho (Singer e Lamm, 2009; Shamay-Tsoory, 2011). Com isso, nós sugerimos que seja a atividade conjunta desses dois sistemas, mais as redes neurais compartilhadas ativadas no contexto da empatia, as responsáveis por gerar uma integralização da influência dos componentes afetivo-emocionais e cognitivos sobre a resposta sensorial e autonômica do indivíduo frente à dor do outro. Entretanto, estudos adicionais, talvez com lesões mais específicas de núcleos e sub-regiões dessas estruturas, bem

como a aplicação de paradigmas que permitam um acesso mais acurado e segregado dos componentes da dor, sejam necessários a fim de detalhar e particularizar o papel dessas regiões nos diferentes aspectos da dor e, principalmente, da empatia, por se tratar de um fenômeno psicológico tão complexo, multidimensional, idiossincrático e contexto-dependente.

6 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos nesse estudo concluímos:

- A inativação das estruturas investigadas, amígdala, CCA e insula, produziu aumento ou ausência de efeito, respectivamente, do número de contorções abdominais nos camundongos que conviveram em grupos;
- O modelo de empatia avaliado foi eficaz em produzir aumento do número de contorções abdominais no coespecífico 28 dias após o convívio com o par em quadro de dor crônica;
- Os nossos resultados sugerem que as estruturas investigadas apresentam um papel modulatório distinto nos diferentes componentes da dor e da empatia, além de confirmar a capacidade que os camundongos apresentam na expressão de empatia frente a um coespecífico com dor crônica.

REFERÊNCIAS

- ARDID, D.; ALLOUI, A.; BROUSSE, G.; JOURDAN, D.; PICARD, P.; DUBRAY, C.; ESCHALIER, A. Potentiation of the antinociceptive effect of clomipramine by a 5-HT(1A) antagonist in neuropathic pain in rats. **Br J Pharmacol**, v. 132, n. 5, p. 1118-26, Mar 2001. ISSN 0007-1188 (Print)
0007-1188 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11226143> >.
- 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 Res**, v. 1294, p. 29-37, Oct 19 2009. ISSN 1872-6240 (Electronic)
0006-8993 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19635465> >.
- BARDIN, L.; LAVARENNE, J.; ESCHALIER, A. Serotonin receptor subtypes involved in the spinal antinociceptive effect of 5-HT in rats. **Pain**, v. 86, n. 1-2, p. 11-8, May 2000. ISSN 0304-3959 (Print)
0304-3959 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10779655> >.
- BEN-AMI BARTAL, I.; DECETY, J.; MASON, P. Empathy and pro-social behavior in rats. **Science**, v. 334, n. 6061, p. 1427-30, Dec 9 2011. ISSN 1095-9203 (Electronic)
0036-8075 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22158823> >.
- BENBOUZID, M.; PALLAGE, V.; RAJALU, M.; WALTISPERGER, E.; DORIDOT, S.; POISBEAU, P.; FREUND-MERCIER, M. J.; BARROT, M. Sciatic nerve cuffing in mice: a model of sustained neuropathic pain. **Eur J Pain**, v. 12, n. 5, p. 591-9, Jul 2008. ISSN 1532-2149 (Electronic)
1090-3801 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18006342> >.
- 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, n. 1, p. 87-107, Apr 1988. ISSN 0304-3959 (Print)
0304-3959 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2837713> >.
- BERNHARDT, B. C.; SINGER, T. The neural basis of empathy. **Annu Rev Neurosci**, v. 35, p. 1-23, 2012. ISSN 1545-4126 (Electronic)
0147-006X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22715878> >.
- BERTHIER, M.; STARKSTEIN, S.; LEIGUARDA, R. Behavioral effects of damage to the right insula and surrounding regions. **Cortex**, v. 23, n. 4, p. 673-8, Dec 1987. ISSN 0010-9452 (Print)
0010-9452 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3443001> >.
- BERTHIER, M.; STARKSTEIN, S.; LEIGUARDA, R. Asymbolia for pain: a sensory-limbic disconnection syndrome. **Ann Neurol**, v. 24, n. 1, p. 41-9, Jul 1988. ISSN 0364-5134 (Print)
0364-5134 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3415199> >.

BOCCALON, S.; SCAGGIANTE, B.; PERISSIN, L. Anxiety stress and nociceptive responses in mice. **Life Sci**, v. 78, n. 11, p. 1225-30, Feb 9 2006. ISSN 0024-3205 (Print) 0024-3205 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16182314> >.

BORNHOVD, K.; QUANTE, M.; GLAUCHE, V.; BROMM, B.; WEILLER, C.; BUCHEL, C. Painful stimuli evoke different stimulus-response functions in the amygdala, prefrontal, insula and somatosensory cortex: a single-trial fMRI study. **Brain**, v. 125, n. Pt 6, p. 1326-36, Jun 2002. ISSN 0006-8950 (Print) 0006-8950 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12023321> >.

BORSOOK, D.; BECERRA, L. Emotional pain without sensory pain--dream on? **Neuron**, v. 61, n. 2, p. 153-5, Jan 29 2009. ISSN 1097-4199 (Electronic) 0896-6273 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19186157> >.

BRANDÃO, M. L. Mecanismos Básicos e Aspectos Motivacionais da Dor. In: (Ed.). **As bases biológicas do comportamento: Introdução à neurociência**. São Paulo: Editora EPU, 2004. cap. 8, p.p. 143-157.

BROOKS, J.; TRACEY, I. From nociception to pain perception: imaging the spinal and supraspinal pathways. **J Anat**, v. 207, n. 1, p. 19-33, Jul 2005. ISSN 0021-8782 (Print) 0021-8782 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16011543> >.

BUSHNELL, M. C.; CEKO, M.; LOW, L. A. Cognitive and emotional control of pain and its disruption in chronic pain. **Nat Rev Neurosci**, v. 14, n. 7, p. 502-11, Jul 2013. ISSN 1471-0048 (Electronic) 1471-003X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23719569> >.

BUSHNELL, M. C.; DUNCAN, G. H.; HOFBAUER, R. K.; HA, B.; CHEN, J. I.; CARRIER, B. Pain perception: is there a role for primary somatosensory cortex? **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 96, n. 14, p. 7705-9, Jul 6 1999. ISSN 0027-8424 (Print) 0027-8424 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10393884> >.

CANTO-DE-SOUZA, A.; BARBALHO, C. A. **Antinociception and defensive behaviors induced by a predator (rat) are attenuated by intra-amygdala injection of midazolam in mice: Blockade with flumazenil**. 43th Annual Meeting Neuroscience - SFN-Neuroscience San Diego, California 2013.

CATTANEO, L.; RIZZOLATTI, G. The mirror neuron system. **Arch Neurol**, v. 66, n. 5, p. 557-60, May 2009. ISSN 1538-3687 (Electronic) 0003-9942 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19433654> >.

CERVERO, F.; LAIRD, J. M. Visceral pain. **Lancet**, v. 353, n. 9170, p. 2145-8, Jun 19 1999. ISSN 0140-6736 (Print) 0140-6736 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10382712> >.

COLLIER, H. O.; DINNEEN, L. C.; JOHNSON, C. A.; SCHNEIDER, C. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. **Br J Pharmacol Chemother**, v. 32, n. 2, p. 295-310, Feb 1968. ISSN 0366-0826 (Print) 0366-0826 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4230818> >.

CORRADI-DELL'ACQUA, C.; HOFSTETTER, C.; VUILLEUMIER, P. Felt and seen pain evoke the same local patterns of cortical activity in insular and cingulate cortex. **J Neurosci**, v. 31, n. 49, p. 17996-8006, Dec 7 2011. ISSN 1529-2401 (Electronic) 0270-6474 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22159113> >.

CRAGGS, J. G.; PRICE, D. D.; VERNE, G. N.; PERLSTEIN, W. M.; ROBINSON, M. M. Functional brain interactions that serve cognitive-affective processing during pain and placebo analgesia. **Neuroimage**, v. 38, n. 4, p. 720-9, Dec 2007. ISSN 1053-8119 (Print) 1053-8119 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17904390> >.

CRAIG, K. D. The Social Communication Model of Pain. **Canadian Psychology**, v. 50, n. 1, p. 22-32, 2009.

CRESTANI, C. C.; ALVES, F. H.; CORREA, F. M.; GUIMARAES, F. S.; JOCA, S. R. Acute reversible inactivation of the bed nucleus of stria terminalis induces antidepressant-like effect in the rat forced swimming test. **Behav Brain Funct**, v. 6, p. 30, 2010. ISSN 1744-9081 (Electronic) 1744-9081 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20515458> >.

DAWSON, G.; TOTH, K.; ABBOTT, R.; OSTERLING, J.; MUNSON, J.; ESTES, A.; LIAW, J. Early social attention impairments in autism: social orienting, joint attention, and attention to distress. **Dev Psychol**, v. 40, n. 2, p. 271-83, Mar 2004. ISSN 0012-1649 (Print) 0012-1649 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14979766> >.

DERBYSHIRE, S. W.; WHALLEY, M. G.; STENGER, V. A.; OAKLEY, D. A. Cerebral activation during hypnotically induced and imagined pain. **Neuroimage**, v. 23, n. 1, p. 392-401, Sep 2004. ISSN 1053-8119 (Print) 1053-8119 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15325387> >.

DEVINSKY, O.; MORRELL, M. J.; VOGT, B. A. Contributions of anterior cingulate cortex to behaviour. **Brain**, v. 118 (Pt 1), p. 279-306, Feb 1995. ISSN 0006-8950 (Print) 0006-8950 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7895011> >.

FACHINI, G.; NUNCIATO, A. C.; PEREIRA, B. C.; BAPTISTA, D.; CANTO-DE-SOUZA, A. **Empathy in mice: Effect hipernociceptive of the cohabitation with mice submitted to constriction of the sciatic nerve.** XXVI Reunião Anual da Fesbe 2011.

FIELDS, H. State-dependent opioid control of pain. **Nat Rev Neurosci**, v. 5, n. 7, p. 565-75, Jul 2004. ISSN 1471-003X (Print) 1471-003X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15208698> >.

FLOR, H.; TURK, D. C.; SCHOLZ, O. B. Impact of chronic pain on the spouse: marital, emotional and physical consequences. **J Psychosom Res**, v. 31, n. 1, p. 63-71, 1987. ISSN 0022-3999 (Print) 0022-3999 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3820147> >.

FOX, R. J.; SORENSON, C. A. Bilateral lesions of the amygdala attenuate analgesia induced by diverse environmental challenges. **Brain Res**, v. 648, n. 2, p. 215-21, Jun 20 1994. ISSN 0006-8993 (Print) 0006-8993 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7922536> >.

GALLESE, V.; KEYSERS, C.; RIZZOLATTI, G. A unifying view of the basis of social cognition. **Trends Cogn Sci**, v. 8, n. 9, p. 396-403, Sep 2004. ISSN 1364-6613 (Print) 1364-6613 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15350240> >.

GAO, Y. J.; REN, W. H.; ZHANG, Y. Q.; ZHAO, Z. Q. Contributions of the anterior cingulate cortex and amygdala to pain- and fear-conditioned place avoidance in rats. **Pain**, v. 110, n. 1-2, p. 343-53, Jul 2004. ISSN 0304-3959 (Print) 0304-3959 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15275785> >.

GARCIA, A. M.; CARDENAS, F. P.; MORATO, S. Effect of different illumination levels on rat behavior in the elevated plus-maze. **Physiol Behav**, v. 85, n. 3, p. 265-70, Jun 30 2005. ISSN 0031-9384 (Print) 0031-9384 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15927214> >.

GARDNER, H. **Frames of Mind: The Theory of Multiple Intelligences**. New York: 1983.

GEBHART, G. F. Descending modulation of pain. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 27, n. 8, p. 729-37, Jan 2004. ISSN 0149-7634 (Print) 0149-7634 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15019423> >.

GOLDSTEIN, L. E.; RASMUSSEN, A. M.; BUNNEY, B. S.; ROTH, R. H. Role of the amygdala in the coordination of behavioral, neuroendocrine, and prefrontal cortical monoamine responses to psychological stress in the rat. **J Neurosci**, v. 16, n. 15, p. 4787-98, Aug 1 1996. ISSN 0270-6474 (Print) 0270-6474 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8764665> >.

GRENIER, F.; LUTHI, A. Mouse brains wired for empathy? **Nat Neurosci**, v. 13, n. 4, p. 406-8, Apr 2010. ISSN 1546-1726 (Electronic) 1097-6256 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20348937> >.

HASNIE, F. S.; WALLACE, V. C.; HEFNER, K.; HOLMES, A.; RICE, A. S. Mechanical and cold hypersensitivity in nerve-injured C57BL/6J mice is not associated with fear-avoidance- and depression-related behaviour. **Br J Anaesth**, v. 98, n. 6, p. 816-22, Jun 2007. ISSN 0007-0912 (Print) 0007-0912 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17478455> >.

HEINRICHER, M. M.; TAVARES, I.; LEITH, J. L.; LUMB, B. M. Descending control of nociception: Specificity, recruitment and plasticity. **Brain Res Rev**, v. 60, n. 1, p. 214-25, Apr 2009. ISSN 0165-0173 (Print) 0165-0173 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19146877> >.

HUTCHISON, W. D.; DAVIS, K. D.; LOZANO, A. M.; TASKER, R. R.; DOSTROVSKY, J. O. Pain-related neurons in the human cingulate cortex. **Nat Neurosci**, v. 2, n. 5, p. 403-5, May 1999. ISSN 1097-6256 (Print) 1097-6256 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10321241> >.

HUTMAN, T.; ROZGA, A.; DELAURENTIS, A. D.; BARNWELL, J. M.; SUGAR, C. A.; SIGMAN, M. Response to distress in infants at risk for autism: a prospective longitudinal

study. **J Child Psychol Psychiatry**, v. 51, n. 9, p. 1010-20, Sep 2010. ISSN 1469-7610 (Electronic)

0021-9630 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20546081> >.

JACKSON, P. L.; MELTZOFF, A. N.; DECETY, J. How do we perceive the pain of others? A window into the neural processes involved in empathy. **Neuroimage**, v. 24, n. 3, p. 771-9, Feb 1 2005. ISSN 1053-8119 (Print)

1053-8119 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15652312> >.

JACKSON, P. L.; RAINVILLE, P.; DECETY, J. To what extent do we share the pain of others? Insight from the neural bases of pain empathy. **Pain**, v. 125, n. 1-2, p. 5-9, Nov 2006. ISSN 1872-6623 (Electronic)

0304-3959 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16997470> >.

JASMIN, L.; RABKIN, S. D.; GRANATO, A.; BOUDAH, A.; OHARA, P. T. Analgesia and hyperalgesia from GABA-mediated modulation of the cerebral cortex. **Nature**, v. 424, n. 6946, p. 316-20, Jul 17 2003. ISSN 1476-4687 (Electronic)

0028-0836 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12867983> >.

JEON, D.; KIM, S.; CHETANA, M.; JO, D.; RULEY, H. E.; LIN, S. Y.; RABAH, D.; KINET, J. P.; SHIN, H. S. Observational fear learning involves affective pain system and Cav1.2 Ca²⁺ channels in ACC. **Nat Neurosci**, v. 13, n. 4, p. 482-8, Apr 2010. ISSN 1546-1726 (Electronic)

1097-6256 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20190743> >.

JI, G.; FU, Y.; RUPPERT, K. A.; NEUGEBAUER, V. Pain-related anxiety-like behavior requires CRF1 receptors in the amygdala. **Mol Pain**, v. 3, p. 13, 2007. ISSN 1744-8069 (Electronic)

1744-8069 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17550594> >.

KRETZ, R. Local cobalt injection: a method to discriminate presynaptic axonal from postsynaptic neuronal activity. **J Neurosci Methods**, v. 11, n. 2, p. 129-35, Jun 1984. ISSN 0165-0270 (Print)

0165-0270 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6090819> >.

KROSS, E.; BERMAN, M. G.; MISCHEL, W.; SMITH, E. E.; WAGER, T. D. Social rejection shares somatosensory representations with physical pain. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 108, n. 15, p. 6270-5, Apr 12 2011. ISSN 1091-6490 (Electronic)

0027-8424 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21444827> >.

LANGFORD, D. J.; BAILEY, A. L.; CHANDA, M. L.; CLARKE, S. E.; DRUMMOND, T. E.; ECHOLS, S.; GLICK, S.; INGRAO, J.; KLASSEN-ROSS, T.; LACROIX-FRALISH, M. L. et al. Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse. **Nat Methods**, v. 7, n. 6, p. 447-9, Jun 2010. ISSN 1548-7105 (Electronic)

1548-7091 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20453868> >.

LANGFORD, D. J.; CRAGER, S. E.; SHEHZAD, Z.; SMITH, S. B.; SOTOCINAL, S. G.; LEVENSTADT, J. S.; CHANDA, M. L.; LEVITIN, D. J.; MOGIL, J. S. Social modulation of pain as evidence for empathy in mice. **Science**, v. 312, n. 5782, p. 1967-70, Jun 30 2006. ISSN 1095-9203 (Electronic)

0036-8075 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16809545> >.

LANGFORD, D. J.; TUTTLE, A. H.; BRISCOE, C.; HARVEY-LEWIS, C.; BARAN, I.; GLEESON, P.; FISCHER, D. B.; BUONORA, M.; STERNBERG, W. F.; MOGIL, J. S. Varying perceived social threat modulates pain behavior in male mice. **J Pain**, v. 12, n. 1, p. 125-32, Jan 2011. ISSN 1528-8447 (Electronic)
1526-5900 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20685172> >.

LEDOUX, J. Rethinking the emotional brain. **Neuron**, v. 73, n. 4, p. 653-76, Feb 23 2012. ISSN 1097-4199 (Electronic)
0896-6273 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22365542> >.

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. 168-76, May 2008. ISSN 1872-6623 (Electronic)
0304-3959 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17822850> >.

LU, W. L.; ZHANG, Q.; ZHENG, L.; WANG, H.; LI, R. Y.; ZHANG, L. F.; SHEN, W. B.; TU, X. D. Antipyretic, analgesic and anti-inflammatory activities of ketoprofen beta-cyclodextrin inclusion complexes in animals. **Biol Pharm Bull**, v. 27, n. 10, p. 1515-20, Oct 2004. ISSN 0918-6158 (Print)
0918-6158 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15467187> >.

MACHADO, A. B. M. Nervos em Geral – Terminações Nervosas – Nervos Espinhais. In: (Ed.). **Neuroanatomia Funcional**. São Paulo, 2006. p.p. 105-113.

MANNING, B. H.; MAYER, D. J. The central nucleus of the amygdala contributes to the production of morphine antinociception in the formalin test. **Pain**, v. 63, n. 2, p. 141-52, Nov 1995. ISSN 0304-3959 (Print)
0304-3959 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8628579> >.

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 Res**, v. 1009, n. 1-2, p. 223-7, May 29 2004. ISSN 0006-8993 (Print)
0006-8993 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15120601> >.

MCGARAUGHTY, S.; HEINRICHER, M. M. Microinjection of morphine into various amygdaloid nuclei differentially affects nociceptive responsiveness and RVM neuronal activity. **Pain**, v. 96, n. 1-2, p. 153-62, Mar 2002. ISSN 0304-3959 (Print)
0304-3959 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11932071> >.

MEDFORD, N.; CRITCHLEY, H. D. Conjoint activity of anterior insular and anterior cingulate cortex: awareness and response. **Brain Struct Funct**, v. 214, n. 5-6, p. 535-49, Jun 2010. ISSN 1863-2661 (Electronic)
1863-2653 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20512367> >.

MIASKOWSKI, C.; ZIMMER, E. F.; BARRETT, K. M.; DIBBLE, S. L.; WALLHAGEN, M. Differences in patients' and family caregivers' perceptions of the pain experience influence

patient and caregiver outcomes. **Pain**, v. 72, n. 1-2, p. 217-26, Aug 1997. ISSN 0304-3959 (Print)

0304-3959 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9272806> >.

MOISSET, X.; BOUHASSIRA, D.; DENIS, D.; DOMINIQUE, G.; BENOIT, C.; SABATE, J. M. Anatomical connections between brain areas activated during rectal distension in healthy volunteers: a visceral pain network. **Eur J Pain**, v. 14, n. 2, p. 142-8, Feb 2010. ISSN 1532-2149 (Electronic)

1090-3801 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19473859> >.

MORRISON, J. Understanding Others by Understanding the Self: Neurobiological Models of Empathy and their Relevance to Personality Disorders. **Can Child Adolesc Psychiatr Rev**, v. 13, n. 3, p. 68-73, Aug 2004. ISSN 1716-9119 (Print)

1716-9119 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19030503> >.

MOYA-ALBIOL, L.; HERRERO, N.; BERNAL, M. C. The neural bases of empathy. **Rev Neurol**, v. 50, n. 2, p. 89-100, Jan 16-31 2010. ISSN 1576-6578 (Electronic)

0210-0010 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20112217> >.

MULLER, J. L.; SOMMER, M.; WAGNER, V.; LANGE, K.; TASCHLER, H.; RODER, C. H.; SCHUIERER, G.; KLEIN, H. E.; HAJAK, G. Abnormalities in emotion processing within cortical and subcortical regions in criminal psychopaths: evidence from a functional magnetic resonance imaging study using pictures with emotional content. **Biol Psychiatry**, v. 54, n. 2, p. 152-62, Jul 15 2003. ISSN 0006-3223 (Print)

0006-3223 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12873805> >.

MYERS, B.; DITTMAYER, K.; GREENWOOD-VAN MEERVELD, B. Involvement of amygdaloid corticosterone in altered visceral and somatic sensation. **Behav Brain Res**, v. 181, n. 1, p. 163-7, Jul 19 2007. ISSN 0166-4328 (Print)

0166-4328 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17481745> >.

NAKAGAWA, T.; KATSUYA, A.; TANIMOTO, S.; YAMAMOTO, J.; YAMAUCHI, Y.; MINAMI, M.; SATOH, M. Differential patterns of c-fos mRNA expression in the amygdaloid nuclei induced by chemical somatic and visceral noxious stimuli in rats. **Neurosci Lett**, v. 344, n. 3, p. 197-200, Jul 3 2003. ISSN 0304-3940 (Print)

0304-3940 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12812839> >.

NARITA, M.; KANEKO, C.; MIYOSHI, K.; NAGUMO, Y.; KUZUMAKI, N.; NAKAJIMA, M.; NANJO, K.; MATSUZAWA, K.; YAMAZAKI, M.; SUZUKI, T. Chronic pain induces anxiety with concomitant changes in opioidergic function in the amygdala. **Neuropsychopharmacology**, v. 31, n. 4, p. 739-50, Apr 2006. ISSN 0893-133X (Print)

0006-3223 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16123756> >.

NEUGEBAUER, V.; GALHARDO, V.; MAIONE, S.; MACKEY, S. C. Forebrain pain mechanisms. **Brain Res Rev**, v. 60, n. 1, p. 226-42, Apr 2009. ISSN 0165-0173 (Print)

0165-0173 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19162070> >.

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. **Neurochem Int**, v. 47, n. 6, p. 394-400, Nov 2005. ISSN 0197-0186 (Print)

0197-0186 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16051396> >.

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 (Berl)**, v. 150, n. 3, p. 300-10, Jun 2000. ISSN 0033-3158 (Print) 0033-3158 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10923758> >.

PANKSEPP, J. B.; LAHVIS, G. P. Rodent empathy and affective neuroscience. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 35, n. 9, p. 1864-75, Oct 2011. ISSN 1873-7528 (Electronic) 0149-7634 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21672550> >.

PAXINOS, G.; FRANKLIN, K. B. J. **The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates**. 2^o edition. San Diego: Academic Press, 2001. 264 p.

PEYRON, R.; LAURENT, B.; GARCIA-LARREA, L. Functional imaging of brain responses to pain. A review and meta-analysis (2000). **Neurophysiol Clin**, v. 30, n. 5, p. 263-88, Oct 2000. ISSN 0987-7053 (Print) 0987-7053 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11126640> >.

PHAM, T. M.; HAGMAN, B.; CODITA, A.; VAN LOO, P. L.; STROMMER, L.; BAUMANS, V. Housing environment influences the need for pain relief during post-operative recovery in mice. **Physiol Behav**, v. 99, n. 5, p. 663-8, Apr 19 2010. ISSN 1873-507X (Electronic) 0031-9384 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20149809> >.

PLOGHAUS, A.; BECERRA, L.; BORRAS, C.; BORSOOK, D. Neural circuitry underlying pain modulation: expectation, hypnosis, placebo. **Trends Cogn Sci**, v. 7, n. 5, p. 197-200, May 2003. ISSN 1879-307X (Electronic) 1364-6613 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12757820> >.

PLUTCHIK, R. Bases evolucionistas de la empatía. In: EISENBERG N, S. J. (Ed.). **La empatía y su desarrollo**. Bilbao: Desclée de Brouwer, 1992. p.49-57.

PREMACK, D. W., G. Does the chimpanzee have a theory of mind? **Behavioral and Brain Sciences**, v. 4, p. 515-526, 1978.

PRESTON, S. D.; DE WAAL, F. B. Empathy: Its ultimate and proximate bases. **Behav Brain Sci**, v. 25, n. 1, p. 1-20; discussion 20-71, Feb 2002. ISSN 0140-525X (Print) 0140-525X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12625087> >.

RAINVILLE, P.; DUNCAN, G. H.; PRICE, D. D.; CARRIER, B.; BUSHNELL, M. C. Pain affect encoded in human anterior cingulate but not somatosensory cortex. **Science**, v. 277, n. 5328, p. 968-71, Aug 15 1997. ISSN 0036-8075 (Print) 0036-8075 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9252330> >.

REIS, L. M.; CANTO-DE-SOUZA, A. Intra-periaqueductal gray matter injections of midazolam fail to alter anxiety in plus-maze experienced mice. **Brain Res**, v. 1231, p. 93-102, Sep 22 2008. ISSN 0006-8993 (Print) 0006-8993 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18621039> >.

REIS, L. M. L., J. A. M.; BRISOLA, M. L.; SANTOS, M. M.; BITTENCOURT, J. C.; VASCONCELOS, L. A. P. . The influence of AsA1Ga laser on the neuropathic pain-like syndrome in rats submitted to a perioheral nerve constrictive lesion. . **Revista DOR: Pesquisa, Clínica e Terapêutica.** , v. 8, n. 2, p. 1000-1009, 2007.

RICHELL, R. A.; MITCHELL, D. G.; NEWMAN, C.; LEONARD, A.; BARON-COHEN, S.; BLAIR, R. J. Theory of mind and psychopathy: can psychopathic individuals read the 'language of the eyes'? **Neuropsychologia**, v. 41, n. 5, p. 523-6, 2003. ISSN 0028-3932 (Print)
0028-3932 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12559146> >.

SAH, P.; FABER, E. S.; LOPEZ DE ARMENTIA, M.; POWER, J. The amygdaloid complex: anatomy and physiology. **Physiol Rev**, v. 83, n. 3, p. 803-34, Jul 2003. ISSN 0031-9333 (Print)
0031-9333 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12843409> >.

SALOVEY, P.; MAYER, J. D. Emotional Intelligence. **Imagination, Cognition and Personality**, v. 9, n. 3, p. 185-211, 1989-90.

SAPER, C. B. Convergence of autonomic and limbic connections in the insular cortex of the rat. **J Comp Neurol**, v. 210, n. 2, p. 163-73, Sep 10 1982. ISSN 0021-9967 (Print)
0021-9967 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7130477> >.

SHAMAY-TSOORY, S. G. The neural bases for empathy. **Neuroscientist**, v. 17, n. 1, p. 18-24, Feb 2011. ISSN 1089-4098 (Electronic)
1073-8584 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21071616> >.

SINGER, T.; LAMM, C. The social neuroscience of empathy. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1156, p. 81-96, Mar 2009. ISSN 1749-6632 (Electronic)
0077-8923 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19338504> >.

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. 1157-62, Feb 20 2004. ISSN 1095-9203 (Electronic)
0036-8075 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14976305> >.

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. **J Neurosci**, v. 29, n. 9, p. 2684-94, Mar 4 2009. ISSN 1529-2401 (Electronic)
0270-6474 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19261863> >.

STEEDS, C. E. The anatomy and physiology of pain. **Surgery, Bristol**, v. 27, n. 12, p. 507-511, 2009.

STEPANOVIC-PETROVIC, R. M.; MICOV, A. M.; TOMIC, M. A.; KOVACEVIC, J. M.; BOSKOVIC, B. D. Antihyperalgesic/antinociceptive effects of ceftriaxone and its synergistic interactions with different analgesics in inflammatory pain in rodents. **Anesthesiology**, v. 120, n. 3, p. 737-50, Mar 2014. ISSN 1528-1175 (Electronic)

0003-3022 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24071615> >.

SUZUKI, R.; RYGH, L. J.; DICKENSON, A. H. Bad news from the brain: descending 5-HT pathways that control spinal pain processing. **Trends Pharmacol Sci**, v. 25, n. 12, p. 613-7, Dec 2004. ISSN 0165-6147 (Print)

0165-6147 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15530638> >.

TANIMOTO, S.; NAKAGAWA, T.; YAMAUCHI, Y.; MINAMI, M.; SATOH, M. Differential contributions of the basolateral and central nuclei of the amygdala in the negative affective component of chemical somatic and visceral pains in rats. **Eur J Neurosci**, v. 18, n. 8, p. 2343-50, Oct 2003. ISSN 0953-816X (Print)

0953-816X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14622196> >.

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. 1525-31, Jul 2011. ISSN 1872-6623 (Electronic)

0304-3959 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21439727> >.

VANDERWENDE, C.; MARGOLIN, S. Analgesic tests based upon experimentally induced acute abdominal pain in rats. **Federation Proceedings**, v. 15, 1956.

VITOR, A. O.; PONTE, E. L.; SOARES, P. M.; CARVALHO, K. M.; RODRIGUES, M. E. S.; PATROCÍNIO, M. C. A.; LIMA, R. C. S.; VASCONCELOS, S. M. M. Psicofisiologia da dor: uma revisão bibliográfica. **R. Eletr. de Com. Inf. Inov. Saúde**, v. 2, n. 1, p. p.87-96, 2008. ISSN 1981-6278.

VOGEL, C.; MOSSNER, R.; GERLACH, M.; HEINEMANN, T.; MURPHY, D. L.; RIEDERER, P.; LESCH, K. P.; SOMMER, C. Absence of thermal hyperalgesia in serotonin transporter-deficient mice. **J Neurosci**, v. 23, n. 2, p. 708-15, Jan 15 2003. ISSN 1529-2401 (Electronic)

0270-6474 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12533631> >.

WILLIAMS, A. C. Facial expression of pain: an evolutionary account. **Behav Brain Sci**, v. 25, n. 4, p. 439-55; discussion 455-88, Aug 2002. ISSN 0140-525X (Print)

0140-525X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12879700> >.

YAN, N.; CAO, B.; XU, J.; HAO, C.; ZHANG, X.; LI, Y. Glutamatergic activation of anterior cingulate cortex mediates the affective component of visceral pain memory in rats. **Neurobiol Learn Mem**, v. 97, n. 1, p. 156-64, Jan 2012. ISSN 1095-9564 (Electronic)

1074-7427 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22107830> >.

ZAKI, J.; OCHSNER, K. N. The neuroscience of empathy: progress, pitfalls and promise. **Nat Neurosci**, v. 15, n. 5, p. 675-80, May 2012. ISSN 1546-1726 (Electronic)

1097-6256 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22504346> >.

ZHUO, M. Cortical excitation and chronic pain. **Trends Neurosci**, v. 31, n. 4, p. 199-207, Apr 2008. ISSN 0166-2236 (Print)

0166-2236 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18329111> >.