

2

O Teste de Formalina. Considerações Gerais

A nociceção seria uma sensação produzida por um estímulo com uma intensidade suficiente para ocasionar uma lesão em potencial e conseqüentemente provocar uma série de comportamentos protetores dos tecidos lesados. Por sua vez, a expressão da resposta nociceptiva é determinada por uma série de fatores como: anatomia, morfologia, fisiologia neural, além da sua modulação através de vários fatores biológicos tanto endógenos quanto exógenos (Kavaliers, 1988a).

Como falado anteriormente, a habilidade dos animais em responderem a estímulos aversivos do ambiente é uma característica básica do sistema de defesa animal. Este comportamento adaptativo implica que nociceptores estão presentes para responderem às aferências sensoriais com comportamentos que podem ser reflexos ou não. Os nociceptores podem vir a ser mais sensíveis a um estímulo nocivo específico, podendo inclusive codificar a sua intensidade.

A dor é uma experiência perceptual com certa complexidade e que de fato é essencial para qualquer mamífero. A percepção da dor age como um sistema de aviso, alertando o sujeito para possíveis danos a sua integridade física (Kavaliers, 1999). A Associação Internacional de Estudos da Dor define a dor em humanos como “uma experiência desagradável sensorial emocional associada como dano tecidual real ou potencial, ou descrita em termos de tal dano”. Esta definição sofreu uma ampliação quando foi incluída a expressão “comportamentos de dor”, que podem variar de comportamentos visíveis ou audíveis a comportamentos aversivos e/ou modificações comportamentais aprendidas. Define-se a dor em animais como: “uma experiência sensorial aversiva causada por uma injúria potencial ou real que provoca reações vegetativas e motoras protetoras. Resulta em aversão aprendida e pode modificar comportamentos específicos da espécie, incluindo comportamento social (Kavaliers, 1988a). No caso, a dor corresponde à atividade de nociceptores por consequência de estimulações nocivas. As qualidades emocionais desagradáveis envolvidas na sensação da dor e, no caso, a forte motivação de remover a fonte da estimulação nociceptiva parece compreender a experiência que é amplamente conhecida como sofrimento. A ocorrência do sofrimento em animais é normalmente inferida através de mudanças

comportamentais e fisiológicas, como, por exemplo, reflexos flexores, aumento da pressão sanguínea e/ou vocalizações, todas elas sendo concomitantes de dor severa em humanos.

Os testes mais tradicionais de nocicepção, como por exemplo, o “teste de retirada de cauda” e da “placa quente” baseia-se em estímulos físicos de alta intensidade. A experiência nociceptiva é de curta duração, sendo inviável acessar com acuidade mecanismos modulatórios que podem ser ativados pelo estímulo em si.

O teste de formalina se diferencia dos demais testes de dor, pois é possível verificar a resposta do animal a uma dor contínua e moderada gerada por tecido lesionado. Devido a esta relação com tecido lesionado, acredita-se que este teste produza um modelo mais válido de dor clínica do que os testes de mecanismo físico ou de estímulo térmico (Dubuisson e Dennis, 1977; Abbott et al., 1981, 1982b; Alreja et al., 1984). Leva-se em conta que a injeção de formalina pode induzir a estados que se aproximam mais de condições clínicas do que de estimulações cutâneas (testes de reflexos ou limiares).

Dubuisson e Dennis apresentaram o teste de formalina em 1977. Desde então um grande número de pesquisadores usaram e ainda usam este modelo para tentar explicar uma série de problemas.

O presente uso da formalina como agente nociceptivo foi precedido pelo trabalho de Lewis e Kellgren (1939) e outros pesquisadores que injetaram volumes pequenos de salina hipertônica em indivíduos para produzir dor experimental. Mais tarde, Selye (1949) e Winter (1965) usaram formalina como estímulo em estudos de inflamação em ratos. Injeções subcutâneas de uma pequena quantidade de formalina diluída foram também utilizadas como estímulo nociceptivo em gatos (O’ Keefe, 1964; Melzack e Melinkoff, 1974). Em 1977, Dubuisson e Dennis introduziram uma modificação deste procedimento em gatos e ratos (Dubuisson e Dennis 1977). Dubuisson e Dennis não apenas descreveram em detalhes o comportamento induzido pela injeção de formalina, mas também desenvolveram um esquema de quantificação do comportamento de dor manifesto. A quantificação foi baseada no tempo total que o animal levou em diferentes estados comportamentais que foram caracterizados como: elevação, lambida, mordida e balanço da pata injetada, além da redução do peso em cima da mesma. Dubuisson e Dennis descreveram inclusive a ocorrência de duas distintas

fases de comportamento nociceptivo no rato. Uma com início imediato, após a injeção de formalina, com duração de 3 a 5 minutos e provavelmente ocorrendo devido à estimulação química de nociceptores (Dubuisson e Dennis, 1977; Hunskaar et al., 1985b). Em seguida, existe um período de 10 a 15 minutos no qual os animais mostram pouquíssimo comportamento nociceptivo; a segunda fase se inicia 15 a 20 minutos após a injeção e com duração de 20 a 40 minutos.

Como já verificado, o estímulo adquirido pela injeção subcutânea de formalina é tônico, induzindo o animal a uma resposta comportamental com uma duração de praticamente 1 hora e se diferenciando dos demais testes com estímulos físicos, como, por exemplo, o “teste da retirada de cauda” e da placa quente. O estímulo de longa duração facilita a observação dos mecanismos de modulação atuantes no teste, assim como o papel de sistemas de regulação de dor endógenos, como, por exemplo, o sistema opioide (Porro et al., 1988; 1991c).

Dubuisson e Dennis também reportaram que a injeção de formalina causa dores latejantes em humanos, de difícil localização específica e com um curso de tempo correspondente às mudanças comportamentais observadas nos animais. De fato, o teste de formalina sofreu mudanças ou adaptações em seu método, quando trabalhado com ratos (Dennis e Melzack, 1980, 1983; Dennis et al., 1980; Abbott et al., 1982b; Abbott e Melzack, 1983; Coderre et al., 1984a; Abbott 1988; Lin et al., 1989; Gamble e Milne 1990; Pertovaara et al., 1990; Fanselow, 1984), gatos (Melzack e Melinkoff 1974; Dubuisson e Dennis, 1977; Auerbach et al., 1985; Shima et al., 1987) e macacos (Alreja et al., 1984).

2.1.

O Teste de Formalina: Sítios de injeção

Nas primeiras descrições do teste, assim como em estudo subsequentes, a formalina teve como seu sítio de injeção as patas anteriores do animal (Dubuisson e Dennis 1977; Amodei e Paxinos, 1980; Dennis et al., 1980; Abbott et al., 1981, 1982a; Abbott e Melzack 1982, 1983; Takahashi et al., 1984a; Ansuategui et al., 1989; Pertovaara et al., 1990; Porro et al., 1991c). Entretanto, alguns pesquisadores utilizaram as patas posteriores (Abbott et al., 1984; Coderre et al., 1984a,b; Fanselow, 1984; Fasmer et al., 1985, 1986 a,b, 1987a,b,c 1989; Hunskaar et al., 1985a, b, 1986a,b,c 1987, 1989; Sugimoto et al., 1986;

Calgagnetti et al., 1987; Fanselow et al., 1989a; Shibata et al., 1989b Gamble e Milne 1990a,b Mclaughlin et al., 1990; Ohkubo et al., 1990; Wheeler-Aceto et al., 1990; Rosland, 1991 e Cowan, 1991). Como o comportamento de lambida das patas posteriores raramente ocorre durante um comportamento de grooming normal, a resposta de nocicepção advinda de uma injeção nestas patas pode vir a ser mais específica do que uma injeção nas patas anteriores.

No caso do teste de formalina, têm sido utilizadas várias localizações para as injeções nas patas. A maioria dos pesquisadores, por sua vez, prefere dar a formalina subcutânea. O sítio mais comum usado para injeção é a superfície dorsal da pata (Dubuisson e Dennis, 1977; Amodei e Paxinos, 1980; Fanselow, 1984; Fanselow et al., 1989; Rosland, 1991; Wheeler-Aceto e Cowan, 1991). Embora injeções na região plantar da pata tenham sido utilizadas (Abbott et al., 1984; Coderre et al., 1984a,b; Fujii et al., 1987; Abbott 1988; Gamble e Milne 1990), no caso é possível que a escolha do sítio de injeção tenha de fato algum impacto na intensidade e no padrão de resposta do animal injetado, porém novos estudos devem ser feitos para avaliar se de fato o sítio de injeção gera uma diferença significativa no comportamento nociceptivo observado no teste de formalina.

Em adição, para investigações especiais, o teste de formalina foi utilizado em outras partes do corpo. Como exemplo, temos as injeções na região trigeminal que foram utilizadas na investigação da dor orofacial (Clavelou et al., 1989; Raboisson et al., 1990) e as injeções subcutâneas feitas nas costas de cobaias (Takahashi et al., 1984).