

Influência dos Receptores 5-HT₃ no Processamento Nociceptivo de Ratos Submetidos ao Teste da Formalina

Influence of 5-HT₃ Receptors In Flinching Behavior of Rats Submitted to The Formalin Test

Tayllon dos Anjos Garcia¹, Angélica Xavier e Nunes², Dulcinéa Gonçalves Teixeira³, Célio Marcos dos Reis Ferreira⁴

RESUMO

Objetivo. O estudo objetivou-se em avaliar a participação da via serotoninérgica na modulação da dor e descrever a influência dos receptores 5-HT₃ na resposta nociceptiva de ratos *Wistar* submetidos ao teste da formalina. **Método.** Estudou-se o efeito da administração intraperitoneal do antagonista 5-HT₃ ondansetrona sobre o comportamento de elevação da pata gerado pela injeção intraplantar de 100µL de formalina a 1%. O número de elevações da pata foi observado pelo período de 60 minutos. **Resultados.** Ondansetrona (2mg/kg) aumentou o comportamento de elevações da pata em relação ao grupo controle positivo durante a 1ª fase do teste e provocou uma diminuição deste comportamento durante a 2ª fase. **Conclusão.** A ondansetrona apresentou efeito frente ao modelo de comportamento de elevação da pata com formalina, sugerindo que a resposta nociceptiva é influenciada por receptores 5-HT₃, em especial em resposta à dor inflamatória.

Unitermos. Dor, Antagonistas do Receptor 5-HT₃ de Serotonina, Serotonina.

Citação. Garcia TA, Nunes AX, Teixeira DG, Ferreira CMR. Influência dos Receptores 5-HT₃ no Processamento Nociceptivo de Ratos Submetidos ao Teste da Formalina.

ABSTRACT

Objective. The aim of this study was to evaluate the involvement of the serotonergic pathway in pain modulation and describe the influence of 5-HT₃ receptors in flinching behavior in rats submitted to the formalin test. **Method.** In this study, we examined the effect of 5-HT₃ receptor antagonist on the nociceptive flinching behavior elicited by subcutaneous injection of 100µL of 1% formalin into the rat hind paw. Nociceptive flinching behavior was observed for 60 minutes. **Results.** Ondansetron (2mg/kg) increased the flinching behavior compared to the positive control for the first phase and caused a decrease of this behavior in the second phase. **Conclusion.** Ondansetron presented effect in formalin nociceptive flinching behavior suggesting that nociceptive response is influenced by 5-HT₃ receptors, particularly in response to inflammatory pain.

Keywords. Pain, Serotonin 5-HT₃ Receptor Antagonists, Serotonin.

Citation. Garcia TA, Nunes AX, Teixeira DG, Ferreira CMR. Influence of 5-HT₃ Receptors In Flinching Behavior of Rats Submitted to The Formalin Test.

Trabalho realizado no Laboratório de Neurociências do Centro Universitário de Patos de Minas – UNIPAM, Patos de Minas-MG, Brasil.

1. Farmacêutico, pós-graduando em Farmacologia pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, Ribeirão Preto-SP, Brasil.

2. Graduanda pelo Centro Universitário de Patos de Minas – UNIPAM, Patos de Minas-MG, Brasil.

3. Farmacêutica, Doutora, Professora e coordenadora do Laboratório de Anatomia Humana do Centro Universitário de Patos de Minas – UNIPAM, Patos de Minas-MG, Brasil.

4. Fisioterapeuta, Doutor, Professor do departamento de Fisioterapia do curso de Fisioterapia da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM, Diamantina-MG, Brasil.

Endereço para correspondência:

Universidade dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM
Departamento de Fisioterapia - Campus JK
Rodovia MGT 367 – Km 583, N° 5000 Bairro Alto da Jacuba
CEP 39100-000, Diamantina-MG, Brasil.
E-mail: cmdosrf@gmail.com

Original

Recebido em: 27/02/12

Aceito em: 07/07/12

Conflito de interesses: não

INTRODUÇÃO

Sabe-se que a dor é reconhecida como uma das principais consequências relacionadas com as mais diversas patologias e sua repercussão é considerada potencialmente prejudicial para o organismo. Esta incômoda sensação pode ser induzida pela exposição da pele ou de outro órgão a estímulos nocivos, como por exemplo, a picada de uma agulha ou até mesmo calor ou frio intenso¹.

A dor é um importante mecanismo de vigília do organismo e está presente em mais de 70% dos pacientes que buscam consultórios brasileiros². Por representar um sinal de alerta para um perigo iminente, a dor torna-se o foco primário do cuidado e, tendo em vista que esta sensação está presente em toda a vida do homem³, torna-se necessária a procura de esclarecimentos que justifiquem sua ocorrência assim como propor medidas destinadas ao seu controle. Por essa razão, é necessário um amplo conhecimento de todo o processo envolvido na dor, compreendendo os vários enfoques científicos que medeiam este processo.

Hoje, sabe-se do envolvimento de diversos sistemas de neurotransmissão na modulação da dor, como por exemplo, o sistema serotoninérgico. Evidências sugerem que alguns desses receptores (subtipo 5-HT₃) ainda não bem descritos para este fim possam modular a transmissão nociceptiva⁴.

Tendo em vista a gama de resultados controversos a respeito da efetiva participação destes receptores na resposta nociceptiva, o presente trabalho sugere uma melhor investigação acerca do assunto. Nesse contexto, objetivou-se avaliar a participação da via serotoninérgica na modulação da dor e descrever a influência dos receptores 5-HT₃ no processamento nociceptivo periférico de ratos *Wistar* submetidos ao teste da formalina.

MÉTODO

O experimento foi realizado em conformidade com os princípios éticos elaborados sob as normas que regulamentam a utilização de animais de laboratório da Sociedade Brasileira de Neurociência e Comportamento (SBNeC) e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa com animais (CEP) do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM) (protocolo n° 11/11).

Animais

Foram utilizados ratos albinos, da linhagem *Wistar* (*Rattus norvegicus*) machos, pesando entre 200 e 300g, originários do Biotério do UNIPAM. Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas (3 animais por gaiola) sob condições ideais de temperatura (22-23°C) e no ciclo claro/escuro 12/12 horas. Durante toda a experimentação os animais tiveram livre acesso à ração e água a vontade.

Droga – Antagonista 5-HT₃

Os receptores serotoninérgicos do subtipo 5-HT₃ são encontrados principalmente na área postrema (uma região do bulbo envolvida com os vômitos) e outras partes do tronco encefálico, estendendo até o corno posterior da medula espinal (CPME). Alguns antagonistas específicos para estes receptores, como por exemplo, a ondansetrona, são utilizados na clínica para tratar náuseas e vômitos principalmente em casos induzidos pela quimioterapia, como também para se obter efeitos ansiolíticos por mecanismos ainda indefinidos⁵.

Nesse trabalho, foram utilizados cloridrato de ondansetrona (sigma), formalina dissolvidos em salina fisiológica (NaCl) a 0,9 % (SF), que foi igualmente utilizada como controle do veículo das drogas injetadas.

O cloridrato ondansetrona (OND) foi administrado por via intraperitoneal (i.p.), na dose de 2mg/kg, e a formalina (FOR) a 1% foi injetado a um volume 100µL por via intraplantar (i.pl.).

Protocolo Experimental – Teste da Formalina

Os animais foram divididos em 4 grupos (n=6) por teste e marcados para fácil identificação experimental e, antes de qualquer tratamento, os mesmos foram colocados na câmara de observação para reconhecimento e adaptação do local por 10 minutos. Posteriormente, os quatro grupos foram tratados seguindo o protocolo abaixo.

Os animais do grupo 1 (controle positivo) receberam por via intraperitoneal (i.p.) veículo solução fisiológica (SF) a 0,9%, e, após 10 minutos, 100µL de solução de formalina (FOR) a 1% por via intraplantar (i.pl.). Já os animais do grupo 2 (controle negativo) receberam também por via i.p. SF (veículo) a 0,9%, e, após 10 minutos, 100µL de SF (veículo) a 0,9% por via i.pl. No grupo 3 foi administrada ondansetrona (OND) 2mg/kg i.p. e após

10 minutos da administração da droga, 100µL de FOR a 1% foi injetada por via i.pl., enquanto que o grupo 4 recebeu a mesma dose de OND, e decorridos 10 minutos, receberam 100µL de SF (veículo) a 0,9% por via i.pl. Todas as administrações i.pl. foram realizadas na pata posterior direita de cada animal.

Em seguida, cada animal foi recolocado na câmara de observação, separadamente, onde foram analisadas todas as alterações comportamentais exibidas por um período de 60 minutos. As análises foram realizadas sempre no mesmo horário para todos os grupos. Durante o experimento, foi colocado um espelho atrás da câmara de observação para facilitar as análises quando o animal se apresentava fora do campo de visão do observador.

Análise Estatística

Os resultados foram analisados estatisticamente em valores absolutos das respectivas médias aritméticas e desvio padrão da média. Estes se expressaram através do teste da análise de variância ANOVA (*One Way*) seguindo o teste de Duncan para a análise temporal e de Tukey para as fases separadas do teste da formalina. O nível de significância adotado no estudo foi de $p < 0,05$.

RESULTADOS

As elevações da pata foram avaliadas por um período de 60 minutos e agrupadas em duas fases, 1ª fase correspondendo às elevações nos primeiros 15 minutos (intervalo de 0 - 15 minutos) e 2ª fase que corresponde às elevações durante os 45 minutos restantes (intervalo de 15 - 60 minutos).

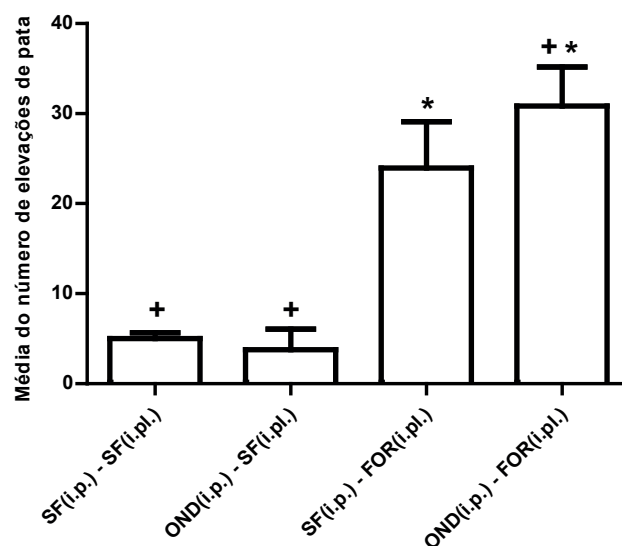
Durante a 1ª fase do teste da formalina foram observadas 5 ($\pm 0,64$) elevações de pata no grupo SF(i.p.) - SF(i.pl.), 23,94 ($\pm 5,16$) no grupo SF(i.p.) - FOR(i.pl.), 3,78 ($\pm 2,28$) no grupo OND(i.p.) - SF(i.pl.) e 30,83 ($\pm 4,36$) no grupo OND(i.p.) - FOR(i.pl.) (Gráfico 1).

Já na 2ª fase do teste observamos no grupo SF(i.p.) - SF(i.pl.) 2,61 ($\pm 0,15$) elevações de pata, 42,72 ($\pm 3,51$) no grupo SF(i.p.) - FOR(i.pl.), 0,94 ($\pm 0,19$) no grupo OND(i.p.) - SF(i.pl.) e 29,37 ($\pm 2,46$) no grupo OND(i.p.) - FOR(i.pl.) (Gráfico 2).

Os presentes resultados mostraram que a administração de 100µL de FOR 1% i.pl. foi efetiva em causar redução dos limiares nociceptivos aumentando o número

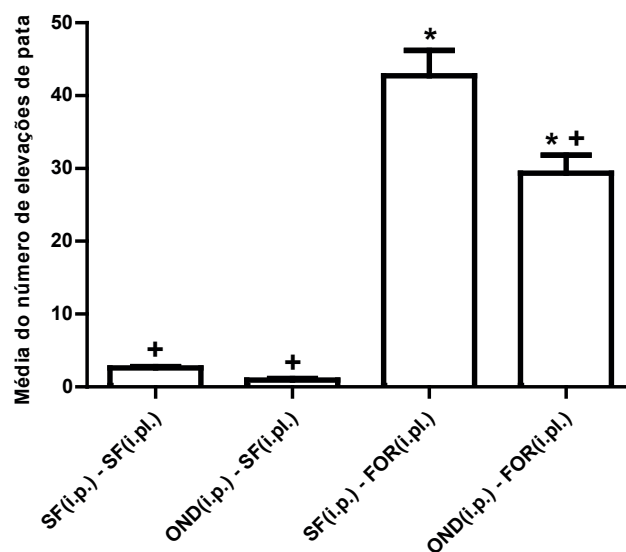
de elevações da pata durante o tempo experimental de 0 a 60 minutos ($p < 0,05$; segundo o teste post hoc de Tukey).

Com o objetivo de avaliar a participação do receptor serotoninérgico (do subtipo 5-HT₃) na hiperalgesia



OND (ondansetrona 2mg/kg), FOR (100µL de formalina 1%), SF (salina fisiológica a 0,9%). (*) $p < 0,05$ em relação ao tratamento SF(i.p.) - SF(i.pl.). (+) $p < 0,05$ em relação ao tratamento SF(i.p.) - FOR(i.pl.).

Gráfico 1. Efetividade da ondansetrona (2mg/kg i.p.) sobre o número de elevações da pata na primeira fase do teste.



OND (ondansetrona 2mg/kg), FOR (100µL de formalina 1%), SF (salina fisiológica a 0,9%). (*) $p < 0,05$ em relação ao tratamento SF(i.p.) - SF(i.pl.). (+) $p < 0,05$ em relação ao tratamento SF(i.p.) - FOR(i.pl.).

Gráfico 2. Efetividade da ondansetrona (2mg/kg i.p.) sobre o número de elevações da pata na segunda fase do teste.

induzida pela FOR, foi realizada a administração intra-peritoneal de OND (um bloqueador desse subtipo de receptor) na dose de 2mg/kg. O Gráfico 3 ilustra o efeito inibitório do tratamento com OND i.p. sobre a hiperalgesia induzida pela administração de FOR i.pl. ao longo do tempo.

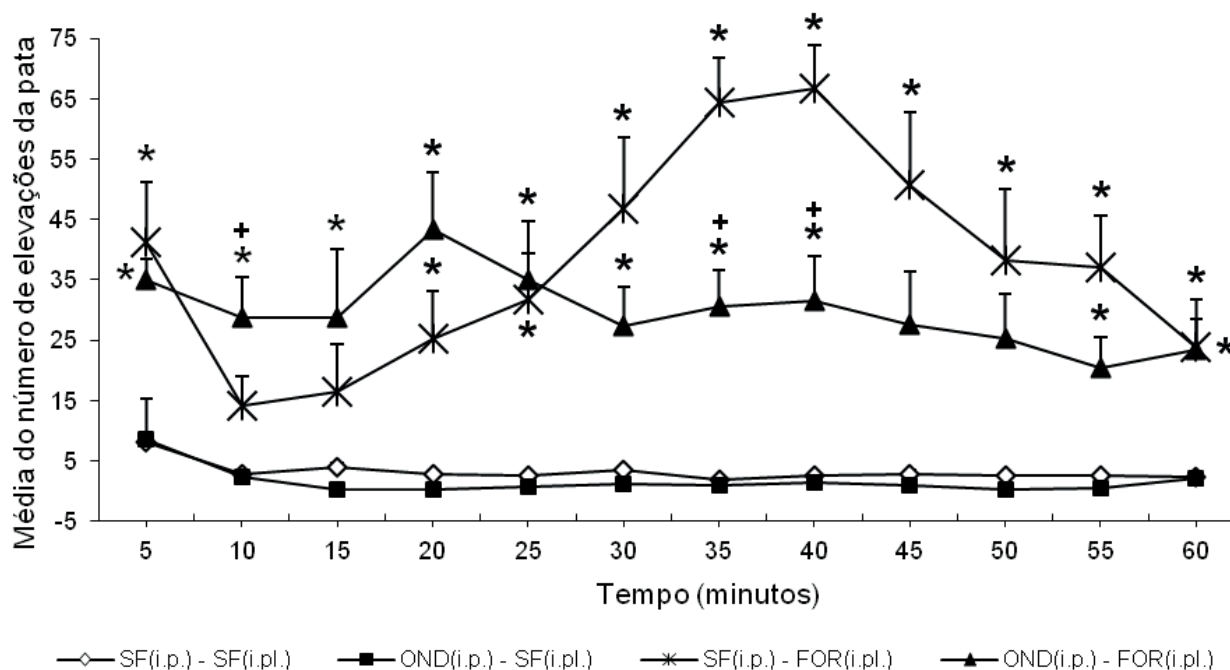
As médias dos valores dos comportamentos de elevação da pata (Gráfico 3) mostraram uma redução, após 25 minutos, quando comparamos o grupo tratado com OND(i.p.) - FOR(i.pl.) com o grupo tratado com SF(i.p.) - FOR(i.pl.) ($p<0,05$).

No Gráfico 3, nota-se que os grupos SF(i.p.) - FOR(i.pl.) e OND(i.p.) - FOR(i.pl.) apresentaram o típico comportamento bifásico do teste da formalina (resposta bifásica de origem neurogênica e inflamatória observada durante a 1ª e 2ª fase do teste respectivamente), o que não foi observado nos demais grupos. Adicionalmente, esses grupos mostraram uma diferença estatisticamente significativa ($p<0,05$), durante todo o tempo experimental, em relação ao grupo controle SF(i.p.) - SF(i.pl.) o qual não diferiu do grupo OND(i.p.) - SF(i.pl.), demonstrando que a droga ondansetrona por si só

não teve efeito algum, descartando a possibilidade do efeito observado ser advindo da droga utilizada (Gráficos 1, 2 e 3).

Na 1ª fase do teste, a OND (2mg/kg i.p.) foi capaz de diminuir o número de elevações da pata no tempo 5-10 minutos, enquanto que na 2ª fase, a droga foi efetiva em reduzir o número de elevação da pata no intervalo de 30-40 minutos.

O teste post hoc de Duncan utilizado na análise temporal mostrou diferença estatística ($p<0,05$) entre o grupo tratado com OND(i.p.) - FOR(i.pl.) em relação ao grupo SF(i.p.) - FOR(i.pl.) no tempo 10, 35 e 40 minutos. Entretanto, quando os dados foram agrupados em fases e analisados pelo teste post hoc de Tukey, o número de elevações de pata durante a 1ª fase foi maior ($p<0,05$) para o grupo tratado com OND quando comparado com o grupo tratado com SF (Gráfico 1), enquanto que durante a 2ª fase o número de elevações de pata foi menor ($p<0,05$) para o grupo tratado com OND quando comparado com o grupo tratado com SF (Gráfico 2), demonstrando que a droga foi capaz de reduzir a hiperalgesia causada pela formalina apenas durante a 2ª fase do teste.



OND (ondansetrona 2mg/kg), FOR (100µL de formalina 1%), SF (salina fisiológica a 0,9%). (*) $p<0,05$ em relação ao tratamento SF(i.p.) - SF(i.pl.). (+) $p<0,05$ em relação ao tratamento SF(i.p.) - FOR(i.pl.).

Gráfico 3. Efetividade da ondansetrona (2mg/kg i.p.) sobre o número de elevações da pata ao longo do tempo (minutos).

DISCUSSÃO

Os nossos resultados mostraram que a administração intraplantar de formalina proporcionou uma redução dos limiares nociceptivos favorecendo um aumento dos números de elevação da pata dos animais, sendo este comportamento reduzido, durante a segunda fase do teste (fase de origem inflamatória) pela administração de ondansetrona.

Esse modelo de nocicepção induzido pela formalina nos permite avaliar dois tipos distintos de nocicepção bem como a ação de fármacos analgésicos, sendo considerado um modelo confiável de avaliação de dor. Neste experimento, a injeção de uma substância irritante (formalina) no espaço subcutâneo da pata posterior direita dos animais determinou o surgimento de alterações comportamentais, traduzidas por respostas motoras características que nos permitiram avaliar a intensidade da resposta nociceptiva ao estímulo químico. Tais comportamentos incluem morder, lambear ou elevar a pata, bem como agitação vigorosa do membro⁶.

Com este modelo experimental, podemos evidenciar uma resposta bifásica⁷: a primeira, de origem neurogênica que é caracterizada por um curto período (de 0-15 minutos) que em geral é atribuída à ativação direta de nociceptores e a segunda fase, de origem inflamatória que consiste em um período mais longo (15-60 minutos) e está associada à liberação de mediadores endógenos locais que geram respostas inflamatórias responsáveis pela ativação e sensibilização de aferentes primários^{6,8,9}.

Os nociceptores, durante o teste, podem ser ativados frente a diversos estímulos, bem como ter seu limiar para ativação reduzido (sensibilização), como o que ocorre durante a segunda fase do teste (inflamação) onde se tem a liberação de vários mediadores químicos que contribuem para a queda do limiar de ativação destes receptores e aumento da resposta nociceptiva. Esses nociceptores designados silenciosos, quando influenciados por mediadores inflamatórios, apresentam atividade espontânea ou tornam-se sensibilizados e respondem a estímulos sensoriais que normalmente não responderiam¹⁰.

Sabe-se que quando administrada perifericamente (i.pl.), a serotonina por si só induz edema de pata e resposta nociceptiva^{11,12}. Neste sentido tem-se demonstrado que a administração i.pl. de metisergida, cetanserina ou

ondansetrona (antagonistas 5-HT₁, 5HT₂ e 5HT₃, respectivamente) atenua a resposta nociceptiva induzida pela injeção local de serotonina^{13,14}.

A injeção i.pl. de antagonistas seletivos de receptores 5-HT₃ inibe a resposta nociceptiva frente à dor inflamatória induzida por formalina¹⁵. No presente estudo notou-se que a ondansetrona foi efetiva em reduzir o número de elevações da pata na 2ª fase (fase inflamatória) do teste, uma vez que a droga por si só, grupo OND(i.p.) - SF (i.pl.), não alterou o comportamento do animal quando comparado com o grupo controle negativo. Assim, sugere-se que a droga agiu de modo a reduzir a dor inflamatória provocada por formalina, possivelmente por interação com mediadores inflamatórios ou por bloqueio direto de vias nociceptivas.

Estudos semelhantes evidenciaram que antagonistas 5-HT₃ inibem o comportamento induzido por formalina e serotonina em ratos, quando administrados por via i.pl.^{11,12,16,17}. Em contradição a estes dados, observou-se que a ondansetrona administrada por via i.pl. não alterou o comportamento de lambida da pata induzido por injeção i.pl. de serotonina, porém, foi capaz de exacerbar a alodínia mecânica provocada pela injeção i.pl. da mesma substância¹⁸.

Entretanto, nosso estudo decorreu da administração intraperitoneal da droga o que pode explicar, em parte, divergências de dados. Em adição, a diferença de estímulos, bem como as doses administradas podem justificar estas alterações, e, embora a investigação a cerca destes receptores tenha gerado resultados controversos, em nosso protocolo experimental, o antagonista foi administrado 10 minutos antes da exposição ao estímulo nocivo (formalina), o que nos permite discorrer melhor sobre o papel destes receptores, uma vez que estes foram previamente bloqueados.

Estudo envolvendo estes receptores sugerem uma atuação mais direta e imediata frente a ativação de fibras aferentes primárias, uma vez que se tratam de receptores ionotrópicos que permitem um rápido influxo de íons, culminando em uma rápida ativação (despolarização) de neurônios¹⁹, estabelecendo assim relação direta com as alterações comportamentais mostradas nesse e em outros trabalhos.

Ainda neste sentido, vários estudos têm demons-

trado que algumas interleucinas (IL-1, IL-6 e IL-8) e o fator de necrose tumoral (TNF- α) induzem sensibilização dos nociceptores e edema de pata em vários modelos experimentais²⁰⁻²⁵. Da mesma forma, essas respostas podem ser induzidas por outros mediadores inflamatórios como o ATP^{26,27} e o glutamato^{28,29}.

Durante o experimento, a ativação direta de nociceptores provocada pela agulha durante a injeção i.pl. foi suficiente para provocar alterações no número de elevação da pata em todos os grupos. Entretanto esta resposta foi mais evidente nos grupos SF(i.p.) - FOR(i.pl.) e OND(i.p.) - FOR(i.pl.). Durante a 1ª fase do teste, apesar de ter ocorrido diferença estatisticamente significativa no tempo 5-10 minutos, quando totalizado o número de elevação da pata, a ondansetrona administrada por via i.p. não foi capaz de reduzir o número de elevações da pata provocado pela formalina, pelo contrário, houve um aumento no número de elevações, sugerindo que ocorreu certa modulação da via nociceptiva descendente inibitória mediada por receptores 5-HT₃.

Em adição, a estimulação elétrica na substância cinzenta periaquedutal e no núcleo magno da rafe promove liberação de 5-HT no corno posterior da medula espinal (CPME) e estes neurônios fazem sinapses nas lâminas I, II, IV e V ativando receptores 5-HT₃ em interneurônios inibitórios, que por sua vez inibem neurônios de projeção também na CPME, ações que culminam em redução da nocicepção por mecanismos dependentes de opioides^{3,30}. Este mecanismo explica, em parte, o aumento do número de elevações da pata observadas no grupo OND(i.p.) - FOR(i.pl.) em relação ao grupo SF(i.p.) - FOR(i.pl.) durante a 1ª fase do teste, uma vez que os receptores 5-HT₃ foram bloqueados, impedindo desta forma a ativação de interneurônios inibitórios e consequente aumento da nocicepção.

Entretanto, a 5-HT ainda excita diretamente neurônios de projeção por meio de receptores 5-HT₃ que culminam em dor^{3,30}. Assim sugere-se que os receptores do subtipo 5-HT₃ estejam presentes em maior quantidade na via de inibição descendente da dor do que na via de facilitação. O contrário ocorreu durante a 2ª fase do teste, onde a concentração utilizada da droga foi suficiente para reduzir significativamente o número de elevações de pata, sugerindo que a droga atua, por mecanismos ainda

desconhecidos, durante a fase inflamatória.

CONCLUSÃO

A ondansetrona apresentou efeito frente ao modelo de comportamento de elevação da pata com formalina, implicando na participação dos receptores 5-HT₃ no processamento nociceptivo periférico, sugerindo que a resposta nociceptiva é influenciada por estes receptores, em especial em resposta à dor inflamatória.

REFERÊNCIAS

1. Dias S. A versão biológica da dor (endereço na internet). Unicamp: Com Ciência. (atualizado em: 05/2007; citado em: 02/2011). Disponível em: <http://www.comciencia.br/comciencia/?section=8&edicao=24&cid=274&tipo=0>
2. Rocha APC, Kraychet DC, Lemonica L, Carvalho LR, Barros GAM, Garcia JBS, et al. Dor: aspectos atuais da sensibilização periférica e central. *Rev Bras Anestesiol* 2007;57:94-105.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0034-70942007000100011>
3. Millan MJ. Descending control of pain. *Prog Neurobiol* 2002;66:355-474.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0304-0082\(02\)00009-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-0082(02)00009-6)
4. Bardin L, Lavarenne J, Eschaliere A. Serotonin receptor subtypes involved in the spinal antinociceptive effect of 5-HT in rats. *Pain* 2000;86:8-11.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0304-3959\(99\)00307-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-3959(99)00307-3)
5. Goodman LS, Gilman A. As bases farmacológicas da terapêutica. 10. ed. Rio de Janeiro: Mc. Graw Hill, 2005, 1647p.
6. Benedito RB. Efeito antinociceptivo do monoterpene (S)-(-)-álcool perfílico em camundongos (Dissertação) João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba, 2009, 83p.
7. Sousa AM, Franco PAB, Ashmawi HA, Posso IP. Efeito analgésico local do tramadol em modelo de dor provocada por formalina em ratos. *Rev Bras Anestesiol* 2008;58:371-379.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0034-70942008000400006>
8. Santos L. Síntese, caracterização e avaliação do potencial biológico de derivados obtidos a partir de chalconas (Tese). Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2008, 233p.
9. Emmel VG. Avaliação do efeito antinociceptivo causado pela estimulação do acuponto BL60 (Kunlun) em camundongos (Dissertação) Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2008, 62p.
10. Julius D, Basbaum AI. Molecular mechanisms of nociception. *Nature* 2001;413:203-210.
<http://dx.doi.org/10.1038/35093019>
11. Doak GJ, Sawynok J. Formalin-induced nociceptive behavior and edema: involvement of multiple peripheral 5-hydroxytryptamine receptor subtypes. *Neurosci* 1997;80:939-949.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0306-4522\(97\)00066-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0306-4522(97)00066-3)
12. Parada CA, Tambeli CH, Cunha FQ, Ferreira SH. The major role of peripheral release of histamine and 5-hydroxytryptamine in formalin-induced nociception. *Neurosci* 2001;102:937-944.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0306-4522\(00\)00523-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0306-4522(00)00523-6)
13. Taiwo YO, Levine JD. Serotonin is a directly-acting hyperalgesic agent in the rat. *Neurosci* 1992;48:485-490.

[http://dx.doi.org/10.1016/0306-4522\(92\)90508-Y](http://dx.doi.org/10.1016/0306-4522(92)90508-Y)

14. Suffka KJ, Schomburg FM, Giordano J. Receptor mediation of 5-HT-induced inflammation and nociception in rats. *Pharmacology Biochemistry* 1992;41:53-56.

[http://dx.doi.org/10.1016/0091-3057\(92\)90058-N](http://dx.doi.org/10.1016/0091-3057(92)90058-N)

15. Giordano J, Rogers LV. Peripherally administered serotonin 5-HT₃ receptor antagonists reduce inflammatory pain in rats. *Eur J Pharmacol* 1989;170:83-86.

[http://dx.doi.org/10.1016/0014-2999\(89\)90137-4](http://dx.doi.org/10.1016/0014-2999(89)90137-4)

16. Tambeli CH, Oliveira MCG, Clemente JT, Pelegri-da-Silva A, Parada CA. A novel mechanism involved in 5-hydroxytryptamine-induced nociception: the indirect activation of primary afferents. *Neurosci* 2006;141:1517-1524.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.04.030>

17. Oliveira LF. Dor: fisiopatologia. *Rev Bras Anesthesiol* 1979; 28: 227-288.

18. Junior EBN. Avaliação do papel da 5-hidroxitriptamina (5-HT) no processamento periférico da resposta nociceptiva (Tese) Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2011, 78p.

19. Koeppen BM, Stanton BA. *Fisiologia*. 5ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, 1082 p.

20. Buckley TL, Brain SD, Collins PD, Williams TJ. Inflammatory edema induced by interactions between IL-1 and the neuropeptide calcitonin gene-related peptide. *J Immunol* 1991;146:3424-3430.

21. Davis AJ, Perkins MN. The involvement of bradykinin B1 and B2 receptor mechanisms in cytokine-induced mechanical hyperalgesia in the rat. *Br J Pharmacol* 1994;113:63-68.

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1476-5381.1994.tb16174.x>

22. Douglass J, Dhami D, Gurr CE, Bulpitt M, Shute JK, Howarth PH, et al. Intradermal challenge with interleukin-8 causes tissue edema and neutrophil accumulation in atopic and non-atopic human subjects. *Clin Exp Allergy* 1996;1371-1379.

<http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2222.1996.d01-291.x>

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2222.1996.tb00538.x>

23. Fukuoka H, Kawatani M, Hisamitsu T, Takeshige C. Cutaneous hyperalgesia induced by peripheral injection of interleukin-1 beta in the rat. *Brain Res* 1994;657:133-140.

[http://dx.doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)90960-1](http://dx.doi.org/10.1016/0006-8993(94)90960-1)

24. Hrubey PS, Harvey AK, Bendele AM, Chandrasekhar, S. Effects of anti-arthritis drugs on IL-1 induced inflammation in rats. *Agents Actions* 1991;34:56-59.

<http://dx.doi.org/10.1007/BF01993237>

25. Perkins MN, Kelly D, Davis AJ. Bradykinin B1 and B2 receptor mechanisms and cytokine-induced hyperalgesia in the rat. *Can J Physiol Pharmacol* 1995;73:832-836.

<http://dx.doi.org/10.1139/y95-113>

26. Hamilton SG, Wade A, McMahon SB. The effects of inflammation and inflammatory mediators on nociceptive behaviour induced by ATP analogues in the rat. *Br J Pharmacol* 1999;126:326-332.

<http://dx.doi.org/10.1038/sj.bjp.0702258>

27. Ziganshina LE, Ziganshin AU, Hoyle CH, Burnstock G. Acute paw oedema formation induced by ATP: re-evaluation of the mechanisms involved. *Inflamm Res* 1996;45:96-102.

<http://dx.doi.org/10.1007/BF02265122>

28. Beirith A, Santos AR, Calixto JB. Mechanisms underlying the nociception and paw oedema caused by injection of glutamate into the mouse paw. *Brain Res* 2002;924:219-228.

[http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993\(01\)03240-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993(01)03240-1)

29. Cairns BE, Gambarota G, Svensson P, Arendt-Nielsen, L., Berde, C. B. Glutamate-induced sensitization of rat masseter muscle fibers. *Neurosci* 2002;109:389-399.

[http://dx.doi.org/10.1016/S0306-4522\(01\)00489-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0306-4522(01)00489-4)

30. Peng YB, Lin Q, Willis WD. The role of 5-HT₃ receptors in periaqueductal gray-induced inhibition of nociceptive dorsal horn neurons in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1996;276:116-24.