

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

ANGÉLICA PONTES E SILVA DE ALBUQUERQUE

**O EFEITO DA MICROCORRENTE SOBRE O ACUPONTO *ZUSANLI* NOS
MODELOS DE DOR INCISIONAL, INFLAMATÓRIA E NEUROPÁTICA EM
RATOS *WISTAR***

Alfenas/ MG

2018

ANGÉLICA PONTES E SILVA DE ALBUQUERQUE

**O EFEITO DA MICROCORRENTE SOBRE O ACUPONTO *ZUSANLI* NOS
MODELOS DE DOR INCISIONAL, INFLAMATÓRIA E NEUROPÁTICA EM
RATOS *Wistar***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Biotecnologia Aplicadas à Saúde da Universidade Federal Alfnas
como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre.
Área de concentração: Neurociências e comportamento.
Orientador: Prof. Dra. Josie Resende Torres da Silva
Coorientador: Profa. Dr. Marcelo Lourenço da Silva

Alfnas/MG

2018

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central - Sede

Albuquerque, Angélica Pontes e Silva de
A345e O efeito da microcorrente sobre o acuponto Zusanli nos modelos de dor
incisional, inflamatória e neuropática em ratos Wistar / Angélica Pontes e
Silva de Albuquerque. – Alfenas/MG, 2018.
51 f. : il. -

Orientadora: Josie Resende Torres da Silva.
Dissertação (Mestrado em Biociências Aplicadas à Saúde) -
Universidade Federal de Alfenas, 2018.
Bibliografia.

1. Estimulação Elétrica. 2. Analgesia. 3. Pontos de Acupuntura. I. Silva,
Josie Resende Torres da. II. Título.

CDD-615.892

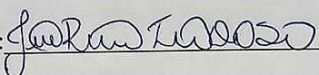
ANGÉLICA PONTES E SILVA DE ALBUQUERQUE

O EFEITO DA MICROCORRENTE SOBRE O ACUPONTO ZUSANLI NOS MODELOS DE
DOR INCISIONAL, INFLAMATÓRIO E NEUROPÁTICA EM RATOS WISTAR”

A Banca Examinadora, abaixo assinada, aprova a
Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para a obtenção do título de Mestre
em Biociências Aplicadas à Saúde pela
Universidade Federal de Alfenas . Área de
concentração: Neurociências e Comportamento

Aprovado em: 20/02/2018

Profa. Dra. Josie Resende Torres da Silva
Instituição: Universidade Federal de Alfenas-MG
– UNIFAL-MG

Assinatura: 

Prof. Dr. Renato Leonardo de Freitas
Instituição: Universidade de São Paulo - USP

Assinatura: 

Prof. Dr. Marcos dos Santos de Almeida
Instituição: Universidade Federal de Alfenas-MG
– UNIFAL-MG

Assinatura: 

Senhor, foste tu que me ensinaste que nada é impossível, que perante qualquer dificuldade quem acredita no teu amor encontrará o caminho da superação;

Assim, meu Deus, dedico a ti e agradeço por mais esta conquista;

E a minha família e amigos pelo apoio e amor incondicional e por toda confiança que depositaram em mim.

AGRADECIMENTOS

Ninguém triunfa sem ajuda e o melhor de cada vitória é poder dividi-la com quem é importante para nós. Por isso, quero compartilhar minha alegria e dedicar minha gratidão, em especial:

A Professora Dra. Josie Resende Torres da Silva, minha orientadora, pela confiança em mim depositada, pelo exemplo de profissionalismo e dedicação à pesquisa e por me proporcionar grandes momentos de aprendizado contribuindo para meu crescimento pessoal e profissional;

Ao Professor Dr. Marcelo Lourenço da Silva, meu co-orientador, por todas as contribuições acrescidas a este trabalho e pelo exemplo de profissionalismo;

A minha querida amiga e colaboradora da pesquisa, Nayara Caroline Pereira, por toda ajuda, dedicação à pesquisa e amizade;

Aos colegas de laboratório e aos demais professores e alunos do Laboratório de fisioterapia experimental – Labfex;

A CAPES, pelo apoio financeiro;

E principalmente a minha mãe, Maria; ao meu marido, Rodrigo e ao meu sogro, Ricardo, por todo amor, apoio e amparo concedidos durante essa trajetória;

Agora que mais uma etapa da minha vida está sendo concluída, eu quero agradecer a todos que de diferentes formas contribuíram para que esse sonho se tornasse possível, muito obrigada!

RESUMO

Segundo a Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP), a dor pode ser conceituada como “uma experiência sensorial e emocional desagradável, associada a uma lesão efetiva ou potencial dos tecidos, ou descrita em termos de tal lesão. A dor é sempre subjetiva”. As categorias de dor são definidas com base na localização, etiologia ou no sistema anatômico primariamente afetado, como exemplo podemos citar a dor de origem incisional e inflamatória e a dor neuropática, utilizadas no presente estudo. Como forma de tratamento não farmacológico para alívio da dor incisional, inflamatória e neuropática, o presente estudo utilizou a Estimulação Elétrica Neuromuscular por Microcorrente (MENS) sobre o acuponto *Zusanli* (E36) por 1 minuto, a MENS é uma técnica que surgiu durante a última década como um reproduzível tratamento para várias condições, dentre elas, as condições dolorosas, seu principal diferencial frente as outras correntes elétricas é sua característica indolor e sua fácil aplicabilidade. O objetivo do projeto foi investigar os efeitos da técnica de aplicação da MENS sobre o acuponto *Zusanli* (E36) na dor incisional, inflamatória e neuropática, a fim de propiciar o melhor entendimento da corrente em relação a essas condições dolorosas. Foram utilizados ratos machos *wistar*, submetidos ao modelo de dor incisional, induzida pela cirurgia de incisão na pata traseira direita; modelo de dor inflamatória, induzida pela administração de Adjuvante Completo de Freud-CFA (50 μ L) na pata traseira direita; e o modelo de dor neuropática, induzida pela Constrição Crônica do nervo Isquiático-CCI, na pata traseira direita. Após as induções hiperalgésicas os animais foram tratados com a MENS sobre o acuponto *Zusanli* (E36) por 1 minuto. Os limiares mecânicos (g) foram avaliados através do aparelho *von Frey* eletrônico, nos tempos 0, 1, 3, 6 e 24 horas após a aplicação da MENS. As condições hiperalgésicas incisional e inflamatória foram revertidas significativamente ($p < 0,05$) através da aplicação da MENS no acuponto *Zusanli* (E36) por 1 minuto, em todos os tempos avaliados pelo limiar nociceptivo (0, 1, 3, 6 e 24h), na condição de hiperalgesia neuropática a hiperalgesia foi revertida significativamente ($p < 0,05$) nos tempos (0, 1, e 3h). De acordo com os resultados, a aplicação da MENS sobre o acuponto *Zusanli* (E36) possui efeito analgésico em relação a hiperalgesia incisional, inflamatória e neuropática.

Palavras-chave: Estimulação Elétrica Neuromuscular por Microcorrente (MENS). Analgesia. Acuponto *Zusanli* (E36).

ABSTRACT

According to the International Association for the Study of Pain (IASP), pain can be conceptualized as "an unpleasant sensory and emotional experience, associated with an actual or potential tissue injury, or described in terms of such injury. Pain is always subjective". The categories of pain are defined based on the location, etiology or anatomical system primarily affected, such as incisional pain and inflammatory pain and neuropathic pain, used in the present study. As a non-pharmacological treatment for the relief of incisional, inflammatory and neuropathic pain, the present study used Neuromuscular Electrical Stimulation by Microcurrent (MENS) on Zusanli acupoint (ST36) for 1 minute, MENS is a technique that emerged during the last decade as a reproducible treatment for several conditions, among them, the painful conditions, its main differential compared to other electric currents is its painless characteristic and its easy applicability. The objective of the project was to investigate the effects of the MENS application technique on Zusanli acupuncture (ST36) in incisional, inflammatory and neuropathic pain, in order to provide a better understanding of the current in relation to these painful conditions. Wistar male rats were submitted to the incisional pain model, induced by incision surgery in the right hind paw; model of inflammatory pain induced by administration of Freud-CFA Complete Adjuvant (50 μ L) in the right hind paw; and the neuropathic pain model, induced by the Chronic Constriction of the Ischial Nerve-CCI, in the right hind paw. After the hyperalgesic inductions the animals were treated with the MENS on the Zusanli acupoint (ST36) for 1 minute. The mechanical thresholds (g) were evaluated using the electronic von Frey apparatus at times 0, 1, 3, 6 and 24 hours after MENS application. The hyperalgesic incisional and inflammatory conditions were significantly reversed ($p < 0.05$) by applying the MENS in the Zusanli acupuncture (ST36) for 1 minute, at all times evaluated by the nociceptive threshold (0, 1, 3, 6 and 24h), in the condition of neuropathic hyperalgesia, hyperalgesia was significantly reversed ($p < 0.05$) at times (0, 1, and 3h). According to the results, the application of MENS on Zusanli acupuncture (ST36) has an analgesic effect in relation to incisional, inflammatory and neuropathic hyperalgesia.

Key words: Neuromuscular Electrical Stimulation by Microcurrent (MENS). Analgesia. Zusanli Acupoint (ST36)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Imagem representativa do sistema nociceptivo.....	18
Figura 2 - Representação do acuponto	25
Figura 3 - Localização do acuponto E36 em ratos	26
Figura 4 - Elevação do músculo plantar	32
Figura 5 – Exposição do Nervo Ciático	34
Figura 6 - Amarração do Nervo Ciático.....	34
Figura 7 - Sutura da Pele.....	34
Figura 8 - Dispositivo de Microcorrente - <i>Dolphin Neurostim</i>	37
Figura 9 - Aplicação da MENS sobre o Acuponto E36	38
Figura 10 - Descrição dos grupos experimentais de hiperalgesia induzida por incisão plantar.....	40
Figura 11 - Descrição dos grupos experimentais de hiperalgesia induzida por CFA	41
Figura 12 - Descrição dos grupos experimentais de hiperalgesia induzida por CCI.....	41

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1: Limiar mecânico avaliado pelo teste de *von Frey* no efeito da MENS On e MENS Off sobre o acuponto Zusanli (E36) por 1 minuto, em relação a hiperalgesia incisional produzida pelo modelo experimental de dor incisional. A análise estatística foi realizada utilizando-se *two-way* ANOVA seguido de Bonferroni *post hoc tests*, com interação em relação ao tempo ($F_{6,196}=1049.21$, $p<0,0001$), tratamento ($F_{3,196}=10853.02$, $p<0,0001$) e tratamento x tempo ($F_{18,196}=367.40$, $p<0,0001$).....44
- Gráfico 2- Limiar mecânico avaliado pelo teste de *von Frey* no efeito da MENS On e MENS Off sobre o acuponto Zusanli (E36) por 1 minuto, em relação a hiperalgesia inflamatória, produzida pelo modelo experimental de dor inflamatória pela administração de CFA. A análise estatística foi realizada utilizando-se *two-way* ANOVA seguido de Bonferroni *post hoc tests*, com interação em relação ao tempo ($F_{6,196}=1137.19$, $p<0,0001$), tratamento ($F_{3,196}=11782.28$, $p<0,0001$) e tratamento x tempo ($F_{18,196}=462.90$, $p<0,0001$).....46
- Gráfico 3: Limiar mecânico avaliado pelo teste de *von Frey* no efeito da MENS On e MENS Off sobre o acuponto Zusanli (E36) por 1 minuto, em relação a hiperalgesia neuropática produzida pelo modelo experimental de CCI. A análise estatística foi realizada utilizando-se *two-way* ANOVA seguido de Bonferroni *post hoc tests*, com interação em relação ao tempo ($F_{6,196}=2113.28$, $p<0,0001$), tratamento ($F_{3,196}=24051.02$, $p<0,0001$) e tratamento x tempo ($F_{18,196}=661.77$, $p<0,0001$).....48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μA	- Microampères
mA	- Miliampères
ATP	- Trifosfato de adenosina
ASIC	- Canais iônicos sensíveis a ácidos
CCI	- Injúria por Constrição Crônica do nervo Isquiático (<i>Chronic constriction injury</i>)
CFA	- Adjuvante Completo de Freund
EVA	- Escala Visual Analógica
E36	- Acuponto Estômago 36 (<i>Zusanli</i>)
FDA	- Food and Drug Administration
IASP	- International Association for the Study of Pain
MEAS	- Estimulação Elétrica Neuromuscular por Microcorrente do Ponto de Acupuntura (<i>Microcurrent Electrical Acupoint Stimulation</i>)
MENS	- Estimulação Elétrica Neuromuscular por Microcorrente
OFF	- Desligado
ON	- Ligado
SNA	- Sistema Nervoso Autônomo
SNC	- Sistema Nervoso Central
TEAS	- Estimulação Nervosa Elétrica Transcutânea do Ponto de Acupuntura (<i>Transcutaneous electrical Acupoint Stimulation</i>)
TENS	- Estimulação Nervosa Elétrica Transcutânea

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1	DOR	12
2.2	DOR INCISIONAL.....	14
2.3	DOR INFLAMATÓRIA	15
2.4	DOR NEUROPÁTICA	16
2.5	ESTIMULAÇÃO ELETRICA NEURO MUSCULAR POR MICROCORRENTE (MENS) ...	17
2.6	ACUPONTO <i>ZUSANLI</i> (E36)	19
3	JUSTIFICATIVA	22
4	OBJETIVOS	23
4.1	OBJETIVO GERAL	23
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
5	METODOLOGIA	24
5.1	ANIMAIS EXPERIMENTAIS	24
5.2	MODELOS EXPERIMENTAIS	24
5.2.1	Modelo de dor incisional	24
5.2.2	Modelo de dor inflamatória	25
5.2.3	Modelo de dor neuropática	26
5.2.4	Teste do limiar mecânico nociceptivo - (<i>von Frey</i> eletrônico)	27
5.3	DESCRIÇÕES TÉCNICAS DO DISPOSITIVO DE MICROCORRENTE (MENS)	27
5.3.1	Protocolo de aplicação da MENS sobre o acuponto <i>Zusanli</i> (E36)	28
5.4	GRUPOS EXPERIMENTAIS - DELINEAMENTO DO ESTUDO	29
5.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	32
6	RESULTADOS	33
7	DISCUSSÃO	39
8	CONCLUSÃO	43
	REFERÊNCIAS	44
	ANEXO	51

1 INTRODUÇÃO

A dor é uma sensação vivenciada por quase todos os seres humanos, patologicamente, a dor está associada à redução da qualidade de vida, aparecimento de sintomas nocivos severos e outros como ansiedade, depressão ou insônia. Ela se faz responsável por uma grande parte da demanda aos serviços de saúde e constitui-se um fenômeno multidimensional, envolvendo processos psicossociais, comportamentais e fisiopatológicos (BERTONCELLO, 2016; DWORKIN et al., 2010).

O processo doloroso pode ser dividido de acordo com sua cronologia em dor aguda e crônica, referindo-se ao período em que estão presentes no corpo, constituindo um fenômeno bastante heterogêneo em relação ao tecido afetado. E de acordo com a etiologia, ou seja, de acordo com os fatores que a originam (GREGORY et al., 2013)

Dentre as manifestações dolorosas, temos a dor incisional, inflamatória e neuropática. Devido ao seu alto impacto na vida dos indivíduos e a sua complexidade no âmbito de tratamento, têm se buscado por diversos tipos de tratamento para essas condições dolorosas, que ofereçam ao indivíduo menores efeitos colaterais e maior efetividade na resolução do quadro algico (TREEDE et al., 2015).

Com uma gama extensa de efeitos colaterais advindos dos fármacos tem-se optado por novos tipos de tratamentos eficazes para as condições dolorosas, e neste contexto, as correntes elétricas vêm sendo bastante utilizadas dentro da fisioterapia como proposta de tratamento em situações de analgesia (GUIRRO; SOUZA, 2015).

Dentre as correstes elétricas podemos destacar a estimulação elétrica neuromuscular por microcorrente (MENS), técnica que surgiu durante a última década como tratamento para várias condições, incluindo quadros dolorosos. Seu principal diferencial frente as outras correntes elétricas é sua característica indolor, devido a sua atuação em níveis mais profundo, evitando a sensação desconfortavel que geralmente ocorre na aplicação de outras correntes elétricas (McMAKIN et al., 2003).

Além dessa característica indolor, o aparelho de MENS pontual utilizado no presente estudo é de facil aplicabilidade, uma vez que este se equivale ao tamanho de um smartfone, possibilitando a praticidade no seu manuseio. E o seu tempo de aplicação é bem menor do que o de outros aparelhos convencionais de MENS (DOLPHIN MICROSTIM; MPS PAIN THERAPY; ARMSTRONG, 2017).

Assim a sua utilização pontual ainda oferece maiores benefícios se utilizada sobre os pontos de acupuntura (acupontos), pois estes devido as suas características peculiares de menor

resistência elétrica, maior condutância elétrica e por geralmente estarem localizados em áreas importantes por onde passam vasos e nervos, estes podem potencializar o efeito da MENS, levando ao melhor aproveitamento do efeito da MENS do que se a mesma fosse utilizada em outra região do corpo (CHEVALIER, 2016).

Contudo, não existem achados na literatura que comprovem os efeitos da utilização da MENS sobre acupontos em relação as condições de dor incisional, inflamatória e neuropática, o que torna o presente estudo um estudo de caráter inovador (MCMAKIN, 2011).

Portanto o objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos da técnica de aplicação da MENS sobre o acuponto E36 nos modelos de dor incisional, inflamatória e neuropática, a fim de propiciar o melhor entendimento da corrente em relação a essas condições dolorosas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Abaixo segue a revisão de literatura.

2.1 DOR

Grande parte da população já experimentou a experiência sensorial dolorosa. A dor é uma sensação familiar para todos, no entanto, a intensidade e a tolerância da dor são subjetivos, dependendo de cada pessoa. Essa experiência consiste em um mecanismo de proteção natural, participando do controle homeostático, possibilitando a detecção de estímulos químicos, físicos e mecânicos que podem ser nocivos ao organismo (BASBAUM et al., 2009).

Assim, exames detalhados das características dolorosas, são necessários a fim de recomendar intervenções adequadas, bem como a percepção e os efeitos físicos causados pela dor, que podem ser influenciados por fatores sociais, culturais e psicológicos (WOLKERSTORFER et al., 2016).

O componente fisiológico da dor é chamado nocicepção, a qual se define como uma via em que detecta estímulos nocivos e estes são enviados ao cérebro para o processamento doloroso, evidenciando mecanismos periféricos e centrais, como a transdução, transmissão, modulação e percepção, de sinais neurais gerados em resposta a um estímulo nocivo externo (DREWES, 2006) (Figura 1).

Resumidamente, pode ser considerada como uma cadeia de três-neurônios, com o neurônio de primeira ordem originado na periferia e projetando-se para a medula espinhal, o

neurônio de segunda ordem ascende pela medula espinhal e o neurônio de terceira ordem projeta-se para o córtex cerebral (TRANQUILLI, 2004).

O primeiro processo da nocicepção é a decodificação de sensações mecânica, térmica e química em impulsos elétricos por terminais nervosos especializados denominados nociceptores. Os nociceptores são terminações nervosas livres dos neurônios de primeira ordem, que apresentam a função de preservar a homeostase tecidual, alertando sobre uma injúria potencial ou real (PISERA, 2005).

Os neurônios de primeira ordem são classificados em três grupos: Fibras A β , que são fibras de diâmetro grande (maior que 10 μm), mielinizadas e de condução rápida, responsáveis por sensações inócuas. Na ausência de dano tecidual ou nervoso as fibras A β somente transmitem informação referente a estímulos inócuos, como tato, vibração e pressão. Fibras A δ : são de diâmetro intermediário (2 a 6 μm), mielinizadas. Sua velocidade de condução é intermediária, modulando a primeira fase da dor: mais aguda ou semelhante à pontada. Fibras C: são fibras de diâmetro pequeno (0,4 a 1,2 μm), não mielinizadas e de velocidade de condução lenta, responsáveis pela segunda dor ou dor difusa, queimação persistente (KLAUMANN, 2008).

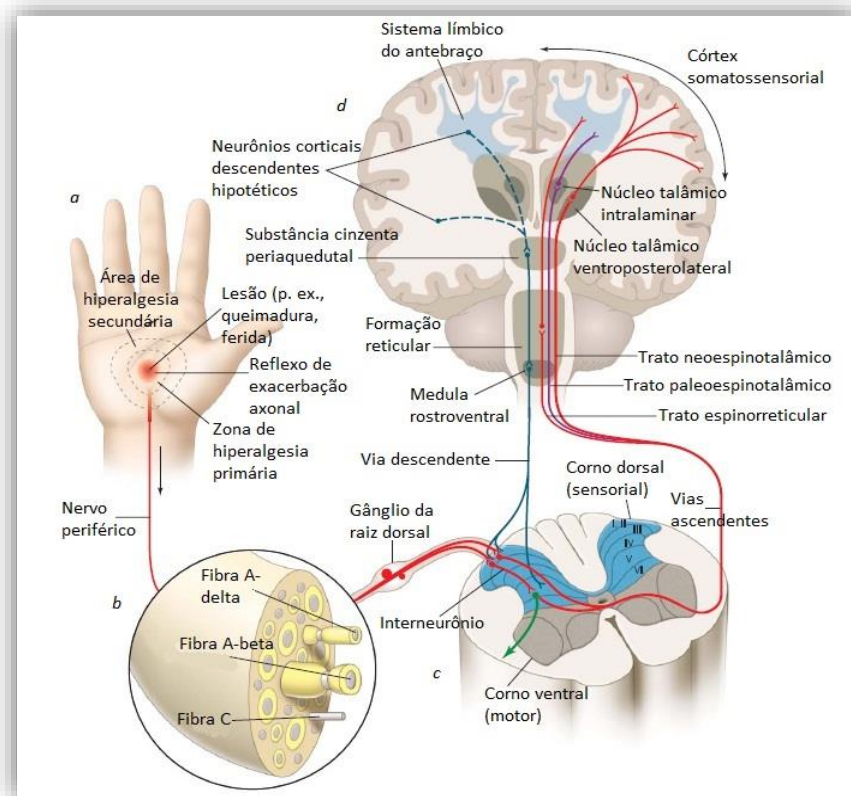
As fibras aferentes nociceptivas terminam no corno dorsal da medula, assim, as fibras aferentes de primeira ordem formam conexões diretas ou indiretas com uma das três populações de neurônios do corno dorsal da medula: os interneurônios, subdivididos em excitatórios e inibitórios; os neurônios propioespinhais que estendem-se por múltiplos segmentos espinhais e estão envolvidos com a atividade reflexa ou com neurônios de projeção (WDR) que participam na transmissão rostral através da medula espinhal até centros supraespinhais como o mesencéfalo e córtex., essas três populações de neurônios são interativas e são essenciais para o processamento da informação nociceptiva, o que facilita a geração de uma resposta à dor apropriada e organizada (MILLAN, 2002).

Essa comunicação da informação nociceptiva é conduzida por neurônios de projeção através de cinco vias ascendentes principais: Trato espinotalâmico, esses neurônios projetam-se no sentido contralateral até o tálamo. Trato espinoreticular, ascendem até o tálamo sem cruzar a linha média. Trato espinomesencefálico, os neurônios se projetam contralateralmente até a formação reticular mesencefálica e a substância cinzenta periaquedutal até os núcleos parabraquiais da formação reticular. Os neurônios parabraquiais projetam-se até a amígdala, um dos principais componentes do sistema límbico, o que sugere que o trato espinomesencefálico contribui com os componentes afetivos da dor (LAMONT; TRANQUILLI, 2000).

As fibras do trato espinocervical fazem uma conexão sináptica no núcleo cervical lateral e no primeiro e segundo segmentos cervicais, para logo chegar ao tálamo através do trato cervicotálamico. O trato espinohipotálamico, compreende axônios que se projetam diretamente no hipotálamo. Essas conexões participam nas respostas neuroendócrinas e autonômicas induzidas pela dor (KLAUMANN, 2008).

Assim, este complexo sistema de vias de transmissão das informações nociceptivas inervam o tálamo, o mesencéfalo, o sistema límbico e a formação reticular. E esses centros nervosos são responsáveis pela localização da dor, sua intensidade, bem como os aspectos afetivos e cognitivos relacionados a dor (MILLAN, 2002; PISERA, 2005).

Figura 1- Imagem representativa do sistema nociceptivo.



Fonte: Adaptado de Oaklander, 2011, ACP Medicine.

2.2 DOR INCISIONAL

A dor pode ser classificada segundo o tempo em que ocorre, bem como, de acordo com os fatores etiológicos que a originam. Sendo assim, a dor de origem incisional, também conhecida como dor pós-operatória, investigada no presente estudo, teve seu marco pela

Sociedade Brasileira para Estudo da Dor (SBED) em 2017, a qual devido as suas características próprias que a tornam diferente de outras condições dolorosas, e a sua presença na maioria dos indivíduos que passam por procedimentos cirúrgicos, consideraram o ano de 2017 como o ano global contra a dor pós-operatória, sendo o modelo de dor pós-operatória (incisional) utilizado no presente estudo de grande importância para a comunidade científica.

Assim, a dor pós-operatória (incisional) pode ser caracterizada como uma dor mais intensa no início, de provável duração limitada e que tem uma correlação causal e temporal com a incisão cirúrgica, indivíduos que são submetidos à cirurgias apresentam injúria tecidual e são liberadas substâncias localmente, que modificam o meio em que se localizam os nociceptores, alterando o limiar de despolarização e gerando uma resposta hiperalgésica após o ato cirúrgico que se manifesta em repouso ou quando ocorre algum estímulo (MARTINS; ARAGÃO, 2017).

Embora esses mecanismos ainda não tenham sido totalmente elucidados, algumas descobertas foram realizadas a partir de modelos experimentais de dor pós-operatória, a partir da cirurgia de incisão da pata de roedores, com isso estudos sugerem que a lesão decorrente do trauma cirúrgico pode ocasionar sensibilização central e periférica (REICHL et al., 2016).

Após a incisão, ocorre uma sensibilização de fibras C e A δ , as quais contribuem para o aparecimento da hiperalgesia, a dor em repouso está relacionada com os nociceptores musculares, e é proporcional a extensão do comprometimento muscular, devendo-se a atividade espontânea das fibras C sensibilizadas após a lesão, inúmeros fatores contribuem para essa sensibilização nos nociceptores após a incisão: redução do pH, elevação do lactato, redução da tensão local de oxigênio e ativação de canais iônicos sensíveis a ácidos (ASIC) (AMIRMOHSENI et al., 2016; BRENNAN, 2008; SAHBAIE et al., 2015).

2.3 DOR INFLAMATÓRIA

A dor inflamatória representa um processo de sensibilização dolorosa aumentada, que segue de alterações de mediadores inflamatórios no mecanismo de transdução periférica do estímulo nociceptivo, a qual leva ao aumento da sensibilidade dos nociceptores (CARVALHO; LEMÔNICA, 1998).

Assim, ela ocorre por sensibilização direta dos nociceptores, e pode ser caracterizada pela detecção de estímulos nocivos mecânicos e, pela destruição tecidual e química. Estes estímulos se codificam em impulsos elétricos por nociceptores, cuja função é indicar a injúria (MILLAN, 2002). Apresentando como característica mecanismos que fazem parte de sua

resposta, caracterizada por cinco sinais cardinais: dor, rubor, calor, edema e perda de função (HARGREAVES, 2016).

Pode-se dizer então que os estímulos nocivos intensos resultando em lesão tecidual frequentemente conduzem ao aumento na resposta a estímulos subsequentes, denominado de hiperalgesia, ou seja, uma sensibilidade excessiva ou sensibilidade à dor. As respostas a estímulos ao local da lesão e nas regiões adjacentes são tipicamente aumentadas e envolvem tanto mecanismos centrais quanto periféricos. Tanto a hiperalgesia primária, quanto a secundária dependem de mecanismos periféricos, e também dependem de alterações na excitabilidade de neurônios centrais. Em consequência do aumento da aferência, a substância P e glutamato, mediadores importantes de transmissão de dor, são liberados em maior quantidade e durante períodos mais longos do que comparados a um evento agudo (URBAN;GEBHART, 1999).

Existem vários modelos animais de hiperalgesia inflamatória, com diferentes agentes irritantes que podem ser injetados na pele, pata, músculos, articulações e órgãos. Estes incluem os irritantes que produzem dor inflamatória aguda associada ao recrutamento de neutrófilos, basófilos e mastócitos, assim como respostas de dor prolongada com uma infiltração de macrófagos utilizados para modelos de inflamação aguda e crônica. Um potente agente inflamatório é o CFA (Adjuvante Completo de Freund) que consiste em uma solução composta por alta concentração de *Mycobacterium Tuberculosis*, como agente indutor de inflamação e edema, que resulta em um processo inflamatório mais severo. Este modelo tem sido amplamente utilizado pois imita processos inflamatórios clínicos associados a lesões teciduais (HUANG et al., 2012).

2.4 DOR NEUROPÁTICA

Outro tipo de condição dolorosa é a dor neuropática, a qual se manifesta através de lesão de nervos do sistema nervoso central (SNC) ou periférico gerando um processo conhecido como alodinia, caracterizado pela presença de hiperalgesia a um estímulo não nocivo ou inócuo (DEVOR, 2006). O aumento da sensibilidade dolorosa decorrente de algum dano neuronal leva a estímulos inócuos serem percebidos como sensação dolorosa. Geralmente ela é acompanhada por uma resposta autonômica complexa, simpática e parassimpática (BURTON, 2009; YEZIERSKI; HANSSON, 2018)

A intensidade da dor, no entanto, não se relaciona com a quantidade de danos e sintomas, pois ela pode persistir por muito tempo, através de danos teciduais, pela injúria

anterior, mesmo que a lesão inicial tenha sido solucionada (WOLKERSTORFER et al., 2016).

A dor neuropática pode ser resultante de doenças ou injúrias que acometem diretamente o sistema nervoso periférico, assim como a medula espinal ou SNC. O dano ao tecido nervoso resulta em aumento da sensibilidade aos estímulos dolorosos (hiperalgesia) assim como, estímulos inócuos passam a serem percebidos como dolorosos, caracterizando alodinia. Esta hiperalgesia neuropática pode ser devida, em parte, às alterações centrais ou espinais, porém um componente relevante provavelmente seja a sensibilização das fibras aferentes primárias periféricas (BARON; BINDER, 2004; WALKER, 1995).

A dor neuropática é evocada por algum dano, patologia, traumas, contusões ou compressões de nervos localizados no SNC ou periférico. Esse processo pode ser seguido de isquemia, alterações metabólicas locais ou exposição a toxinas, e apresenta sintomas como hipersensibilidade, inflamação neurogênica e alodinia. Estas alterações incluem geração de potenciais de ação ectópicos, facilitação em desinibição da transmissão sináptica, perda da conectividade sináptica e formação de novos circuitos sinápticos, com interações neuroimunes (COSTIGAN et al., 2009; GREGORY et al., 2013).

2.5 ESTIMULAÇÃO ELETRICA NEUROMUSCULAR POR MICROCORRENTE (MENS)

Sendo assim, com danos e características tão evidentes e difícil tratamento, as opções terapêuticas para o controle da dor têm aumentado nos últimos anos, pois sua compreensão se torna cada vez mais necessária. Existem diversos tipos de tratamento para as condições dolorosas, dentre eles, farmacológicos e não-farmacológicos. Nesse cenário, as correntes elétricas vêm sendo bastante utilizadas em situações de analgesia, reparação tecidual, circulação e estimulação neuromuscular, uma vez que elas possuem eficácia na melhora do quadro doloroso e não oferecem os efeitos colaterais que são encontrados na utilização de fármacos analgésico, possibilitando ao indivíduo a resolução do quadro doloroso sem que isso acarrete riscos a sua saúde (GUIRRO; SOUZA, 2015).

Na última década, a eletroterapia tem passado por uma verdadeira revolução científica, acompanhada pelo avanço tecnológico. Os profissionais que vem atuando nesta área mudaram seu modo de pensar no sentido de que “quanto mais intensa a estimulação, maior o resultado”, esse pensamento não tem sido cientificamente demonstrado e clinicamente comprovado, assim passaram a adotar níveis mais baixos de correntes, seguindo o princípio de Arndt & Schultz

(2003), que afirmam que correntes de baixa intensidade estimulam a atividade fisiológica, enquanto estímulos mais altos podem inibir ou mesmo abolir esta atividade.

Com destaque, a estimulação elétrica neuromuscular por microcorrente (MENS), técnica que surgiu durante a última década como tratamento para várias condições, incluindo distúrbios somáticos e viscerais, fibromialgia, fadiga crônica e miofascial e dor neuropática tem se tornado uma corrente em potencial para estudos científicos (McMAKIN et al., 2003).

A MENS possui parâmetros de baixa frequência e intensidade na faixa dos microampères (μA) 50 μA -1 mA, e utiliza corrente galvânica pulsada para reestabelecer a bioeletricidade tecidual modificando a ativação e/ou inibição de diferentes áreas no cérebro e assim promovendo analgesia. O plano de atuação da MENS é profundo, podendo atingir o nível muscular, e apresenta-se com imediata atuação no plano cutâneo e subcutâneo. O modo normal de aplicação ocorre em níveis incapazes de ativar as fibras nervosas sensoriais subcutâneas, tendo como resultado a ausência da sensação de formigamento conhecida nos tratamentos eletroterapêuticos (LAMBERT et al., 2002; MCMACKIN, 2011).

O MENS é uma modalidade física que entrega corrente aos tecidos dentro da gama de microampere (μA) imitando assim a intensidade elétrica encontrada no tecido vivo. Então a microcorrente de uma amperagem fisiológica quando entregue nos tecidos musculares danificados pode controlar a função da membrana alterada por vários mecanismos, como a manutenção da homeostase intracelular de Ca^{2+} e a regulação positiva da produção de ATP. Alguns estudos anteriores revelaram que o tratamento de dano muscular com a microcorrente pode reduzir a gravidade dos sintomas musculares (CURTIS et al., 2010; KWON et al., 2017; PARK, 2014;).

Alguns pesquisadores trazem em seus estudos que a utilização de microcorrentes acelera em até 500% a produção do trifosfato de adenosina (ATP), sendo essa molécula a grande responsável pela síntese proteica e regeneração tecidual devido a sua participação em todos os processos energéticos da célula (GUIRRO; GUIRRO, 2004).

O tecido saudável é o resultado do fluxo direto de correntes elétricas pelo nosso corpo. O balanço elétrico é alterado quando o corpo é lesado em um determinado local, fazendo com que a corrente elétrica mude seu curso. O uso de microcorrentes sobre a lesão tem o objetivo de normalizar esse fluxo, objetivando o reparo do tecido. Dados demonstram que o ATP nas células ajuda a promover a síntese proteica e cicatrização. A necessidade de ATP durante o trauma nos tecidos resulta num decréscimo da produção de sódio e um aumento no lixo metabólico (H^+), que é sentido como dor. O uso da MENS ajuda na normalização da corrente

elétrica biológica, aumentando a produção de ATP, resultando em uma maior cicatrização tecidual e minimização da percepção de dor (CARLUCCI, 2004).

No entanto, o mecanismo de MENS ainda não foi totalmente esclarecido e presume-se que o MENS tenha vários efeitos terapêuticos devido a diferenças em parâmetros de microcorrentes, como amperes e frequências (LANFERDINI et al., 2015).

A sua vantagem em comparação as outras correntes é que sua aplicação é subsensorial, não estando associada à sensação desconfortável como outras correntes elétricas, ou seja, é indolor, além de não apresentar efeitos colaterais, ser de baixo custo e de fácil aplicação. Assim, esta terapia que representa um excelente instrumento para promover vascularização durante o processo de cicatrização, agora esta sendo cada vez mais reconhecidas como complemento para alívio da dor e regulação do Sistema Nervoso Autônomo (SNA) (CHEVALIER et al., 2016).

Suas contra-indicações são em síndromes dolorosas onde a etiologia não está estabelecida, gravidez, usuários de marca-passo, diretamente sobre feridas infectadas, sobre tumores malignos ou benignos, sobre o globo ocular, sobre o sino carotídeo, osteomielite e sobre a musculatura laríngea (JERAN, 2011).

De acordo com Miyashita (2012), a vantagem das correntes de baixa intensidade é que essas estimulam a atividade fisiológica, enquanto que as correntes de altas intensidades podem inibir ou mesmo abolir essa atividade. Seus principais benefícios são o tratamento da dor e da disfunção muscular, a cicatrização de feridas e a reparação de fraturas.

Apesar de existir evidências que comprovem seus benefícios em relação ao controle da dor, não há consenso na literatura que identifique as melhores práticas para a aplicação da MENS sobre acupontos em pacientes com dor.

2.6 ACUPONTO *ZUSANLI* (E36)

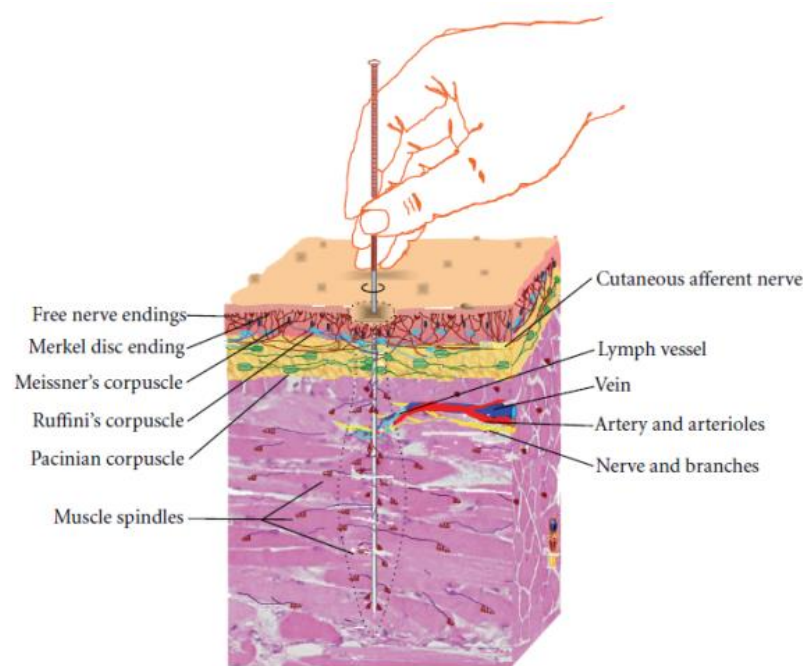
A nomenclatura e a localização dos pontos específicos da acupuntura, conhecidos como acupontos, foram estabelecidos pela medicina tradicional chinesa (MTC) por volta de 400 aC. A palavra acupuntura deriva de duas palavras do latim: “acus” que significa agulha e “pungere” que significa punção, com o objetivo de penetrar o ponto. Sabe-se que os acupontos são extremamente reativos as correntes elétricas, e estes foram empiricamente determinados no transcorrer de milhares de anos de prática médica, se definindo como uma região da pele em que é grande a concentração de terminações nervosas sensoriais (LI et al., 2005).

Essa região está em relação íntima com nervos, vasos sanguíneos, tendões, perióstios e cápsulas articulares. Estudos morfofuncionais identificaram plexos nervosos, elementos

vasculares e feixes musculares como sendo os mais prováveis sítios receptores dos acupontos (VICKERS et al., 2002).

Nesse contexto, os acupontos possuem propriedades elétricas diversas das áreas adjacentes, condutância elevada, menor resistência, padrões de campo organizados e diferenças de potencial elétrico. Por isso, são denominados pontos de baixa resistência elétrica da pele (HAN; TERENIUS, 1982).

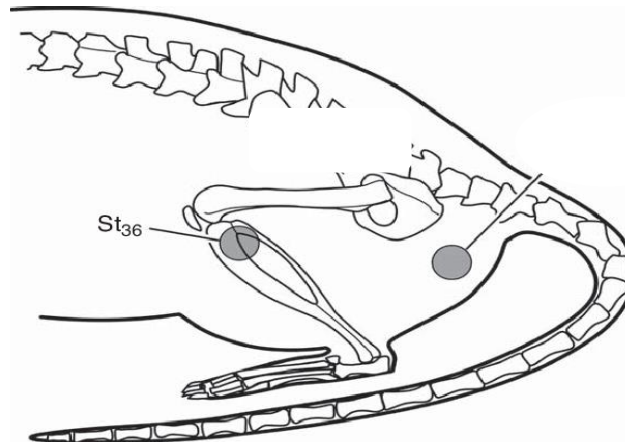
Figura 2- Representação do acuponto



Fonte: Adaptado de Silva, 2012, USP.

Dentre os acupontos destaca-se o uso do acuponto *Zusanli* (E36), localizado na região lateral do membro inferior, 3 mm lateralmente ao tubérculo anterior da tíbia, abaixo da articulação do joelho, próximo à cabeça da fíbula, seguindo referências anatômicas de Li et al., (2005). Este ponto é amplamente utilizado entre os praticantes de acupuntura, tanto em humanos quanto em animais e os resultados obtidos através do uso desse acuponto são importantes no controle da dor, assim, sua escolha para utilização no presente estudo justifica-se devido a sua ampla utilização na melhora das condições dolorosas (YIM et al., 2007).

Figura 3- Localização do acuponto E36 em ratos.



Fonte: Journal of Endocrinology, 2013.

Desta forma, a combinação das características descritas torna o ponto de acupuntura extremamente reativo ao estímulo causado pela MENS, uma vez que tem sido demonstrado que a dor irá afetar o potencial elétrico de células e a utilização da MENS sobre o acuponto, local de menor resistência elétrica, pode penetrar na célula equilibrando-a eletricamente e podendo restabelecer o estado fisiológico para as células danificadas (ZUIM et al., 2006).

Assim, a partir do exposto podemos dizer que estamos investigando uma nova técnica analgésica para os modelos de dor incisional, inflamatória e neuropática, que se dá através de estimulação do acuponto por microcorrente, MEAS (*Microcurrent Electrical Acupoint Stimulation*), no entanto, não existem pesquisas suficientes que demonstrem o efeito da MEAS no tratamento de diferentes tipos de dor.

3 JUSTIFICATIVA

As dores pós- cirúrgica (incisional), inflamatória e neuropática constituem a causa principal de sofrimento, incapacitação para o trabalho e ocasiona graves consequências psicossociais e econômicas para os indivíduos e para a sociedade. Não existem dados estatísticos oficiais sobre essas condições dolorosas no Brasil, mas as suas ocorrências têm aumentado substancialmente nos últimos anos (SBED, 2018).

Diante disto destaca-se cada vez mais a importância de estudos relacionados em buscar tratamentos resolutivos e que tragam aos indivíduos menores efeitos colaterais e menores custos quando comparados aos tratamentos farmacológicos convencionais. Nesse contexto, a eletroterapia surge como uma forma de eficaz de tratamento para quadros dolorosos e dentre as terapias elétricas a MENS tem chamado a atenção como um método terapêutico indolor, prático e eficaz.

Essa proporciona vantagens terapêuticas em relação aos outros recursos elétricos, devido ao seu maior conforto sensorial, sua excelente estabilidade e por não causar efeitos colaterais significativos, além do aparelho utilizado para administração pontual da corrente ser de fácil manuseio e rápida aplicação, possibilitando assim, uma técnica mais pratica e eficaz para o tratamento das condições dolorosas (KNOW; PARK, 2014).

A partir do exposto, a relevância do projeto atual residiu em investigar os efeitos da técnica de aplicação da MENS sobre o acuponto E36 para alívio dos diferentes tipos de dor (incisional, inflamatória e neuropática), a fim de propiciar o melhor entendimento da corrente em relação as condições dolorosas.

Assim, esse trabalho se justifica, pois, os resultados encontrados poderão estimular estudos posteriores, a fim de beneficiar futuros tratamentos das condições dolorosas.

4 OBJETIVOS

Abaixo seguem os objetivos gerais e específicos do estudo.

4.1 OBJETIVO GERAL

O presente estudo teve como objetivo geral investigar os efeitos da MENS sobre o acuponto E 36 nos diferentes tipos de dor: incisional e inflamatória e neuropática.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Avaliar os efeitos da MENS sobre o acuponto E36 na dor incisional induzida através do modelo de hiperalgesia pela incisão plantar, em ratos *Wistar*
- b) Avaliar os efeitos da MENS sobre o acuponto E36 na dor inflamatória induzida através do modelo de hiperalgesia por Adjuvante Completo de Freud (CFA), em ratos *Wistar*.
- c) Avaliar os efeitos da MENS sobre o acuponto E36 na dor neuropática induzida através do modelo de hiperalgesia por “*Chronic Constriction Injury*” (CCI).

5 METODOLOGIA

Abaixo seguem os materiais e métodos utilizados ao longo da pesquisa.

5.1 ANIMAIS EXPERIMENTAIS

Foram utilizados 96 ratos machos *Wistar*, com peso entre 180 a 200g, provenientes do Biotério Central do Campus da UNIFAL. Os animais foram mantidos no biotério do Departamento de Fisioterapia, sendo alocados em caixas com 5 animais em cada, sob condições de temperatura e ciclo claro/escuro controlados, com livre acesso a ração e água até o dia do experimento. Todos os experimentos seguiram as normas de ética estabelecidas para experimentação com animais, recomendadas pela IASP (*International Association for the Study of Pain*) (ZIMMERMANN, 1983). E as normas que regulamentam aspectos éticos da utilização de animais de laboratório elaborados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEUA) da UNIFAL, com número de aprovação 059/2016. (Anexo A)

5.2 MODELOS EXPERIMENTAIS

Abaixo seguem os modelos experimentais utilizados na pesquisa.

5.2.1 Modelo de dor incisional

Este modelo teve como finalidade investigar o efeito antinociceptivo da MENS no modelo de dor incisional (pós-cirúrgica) induzida por incisão na pata. O procedimento foi realizado conforme descrito por Brennan et al., (1996). No dia do experimento os animais foram anestesiados por via inalatória previamente com isoflurano 2% e receberão uma incisão longitudinal de 0,5 cm na pata traseira direita. O músculo plantar foi elevado e a pele foi imediatamente suturada com fio cirúrgico 6-0.

Os animais falso-operados (*Sham*-Incisão) receberam a incisão, porém, não tiveram o músculo plantar elevado. Duas horas após a incisão, o limiar nociceptivo mecânico foi avaliado pelo teste de *von Frey* Eletrônico e os animais foram considerados hiperalgésicos quando o limiar de resposta à aplicação de estímulos mecânicos no teste de *von Frey* correspondeu a pelo menos 50% do limiar de resposta basal. Os animais receberam a aplicação da MENS On/Off

sobre o acuponto E36 por 1 minuto e o limiar nociceptivo mecânico foi avaliado nos tempos 0, 1, 3, 6 e 24 h através do *von Frey* Eletrônico.

Figura 4- Elevação do músculo plantar



Fonte: Do Autor

5.2.2 Modelo de dor inflamatória - CFA

Para realização do modelo de dor inflamatória os animais receberam através de administração intraplantar 50 μ L de Adjuvante Completo de Freund (CFA) (CUNHA et al., 2007). Os animais do grupo controle receberam salina via intraplantar (50 μ L).

Quatro horas após a injeção de CFA/Salina, os animais foram testados e considerados hiperalgésicos quando o limiar de resposta à aplicação de estímulos mecânicos no teste de *von Frey* Eletrônico correspondeu à pelo menos, 50% do limiar de resposta basal. Os animais receberam a aplicação da MENS On/Off sobre o acuponto E36 por 1 minuto e o limiar nociceptivo mecânico foi avaliado nos tempos 0, 1, 3, 6 e 24 h através do *von Frey* Eletrônico.

5.2.3 Modelo de dor neuropática – CCI (“Chronic Constriction Injury”)

O modelo experimental de neuropatia que foi utilizado no presente estudo consistiu na amarração do nervo ciático em quatro pontos e constrição crônica deste nervo (CCI) (BENNET; XIE, 1988). Antes da cirurgia os animais foram anestesiados com isoflurano a 2% por via inalatória. O nervo ciático foi exposto (Figura 5) na região abaixo do glúteo e ligado com quatro amarrações com fio de seda separados por 2 mm (Figura 6). A musculatura e a pele sobre os nervos foram suturadas com padrão de 3 amarrações (Figura 7). Nas cirurgias do grupo falso operados (*Sham*), o nervo ciático foi exposto, mas não amarrado. A musculatura e a pele sobre o nervo foram suturadas, com padrão de 3 amarrações. Por fim, os animais foram mantidos sob aquecimento para prevenir a hipotermia e, em seguida, recolocados no biotério de manutenção.

Sete dias após o procedimento, os animais foram testados e considerados hiperalgésicos quando o limiar de resposta à aplicação de estímulos mecânicos no teste de *von Frey* Eletrônico correspondeu a, pelo menos, 50% do limiar de resposta basal. Os animais receberam a aplicação da MENS *On/Off* sobre o acuponto E36 por 1 minuto e o limiar nociceptivo mecânico foi avaliado nos tempos 0, 1, 3, 6 e 24 h através do *von Frey* Eletrônico.

Figura 5 – Nervo Ciático Exposto Figura 6 - Amarração do Nervo Ciático Figura 7 – Sutura na pele



Fonte: Do autor



Fonte: Do autor



Fonte: Do autor

5.2.4 Teste do limiar mecânico nociceptivo- pressão continua na pata (*von Frey* eletrônico)

Os animais foram colocados em uma sala silenciosa, com temperatura controlada 23°C, em caixas de acrílico, sobre uma tela de arame que proporciona acesso à pata desses animais, 30 minutos antes da estimulação, para ambientação ao local. O teste foi realizado pelo aparelho *von Frey* eletrônico (Insight Equipamentos, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil), no qual através de uma ponta de polipropileno, aplicada perpendicularmente, à superfície plantar da pata traseira direita de forma crescente até que o animal demonstre o comportamento nociceptivo, caracterizado pela retirada da pata, lambida da mesma e/ou “*flinch*” (CHAPLAN et al., 1994).

Nesse método, foram realizadas 6 avaliações, com intervalos de 10 segundos entre elas e assim realizou-se a média, por animal (FARGHALY et al., 2016).

5.3 DESCRIÇÕES TÉCNICAS DO DISPOSITIVO DE MICROCORRENTE (MENS)

Dispositivo híbrido de microcorrente elétrica que possui uma sonda com uma ponta do tamanho de uma caneta esferográfica. A sua saída elétrica consiste em forma de onda pulsada; apresenta também uma bateria de nove volts e uma configuração de polaridade. Durante a fase de estimulação, os parâmetros são: frequência: 2,5Hz; largura de pulso: 213m/s; e intensidade: 60 – 400 μ A (a qual varia de acordo com a configuração da intensidade) (DOLPHIN MICROSTIM & MPS PAIN THERAPY).

O dispositivo apresenta um botão de rolamento localizado na sua parte superior e frontal, utilizado para ligá-lo e para aumentar ou diminuir a intensidade da estimulação, conforme o botão é movimentado para cima ou para baixo. Quando o dispositivo é ligado, ele emite um som audível e uma luz verde clara é ascendida (DOLPHIN MICROSTIM & MPS PAIN THERAPY).

O dispositivo apresenta um ajuste de polaridade, sendo essa configurada por meio de um botão localizado em sua parte posterior e inferior, e esta pode ser neutra, positiva ou negativa. A polaridade positiva se assemelha a aplicação de uma sensação de calor e a polaridade negativa, utilizada no presente estudo, à sensação de frio (DOLPHIN MICROSTIM & MPS PAIN THERAPY).

Uma luz sinalizadora é situada ao redor da “placa terra”, na parte posterior do dispositivo. Quando este é ligado, a luz se torna verde e quando o ponto é localizado com êxito,

ela pisca. Para que ocorra a estimulação pontual, é necessário que o botão de tratamento situado na parte frontal do dispositivo seja pressionado e mantido por um tempo pré-determinado e que um dos dedos do terapeuta seja entre em contato com a placa terra situada no aparelho (DOLPHIN MICROSTIM & MPS PAIN THERAPY) (Figura 8).

Tal dispositivo foi aprovado pelo Food and Drug Administration (FDA). (DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, 2015).

Figura 8- Dispositivo de Microcorrente – *Dolphin Neurostim*



Fonte: dolphinmps.com

5.3.1 Protocolo de aplicação da MENS sobre o acuponto *Zusanli* (E36)

Com os animais anestesiados com isoflurano 0,5% por via inalatória e posicionados para a exposição do acuponto *Zusanli* (E36), localizado na pata traseira direita dos animais, 3 mm lateralmente ao tubérculo anterior da tíbia, 4 mm abaixo da articulação do joelho, próximo à cabeça da fíbula, seguindo referências anatômicas de LI et al., (2005) e YIM et al., (2007). O aparelho de MENS (*DOLPHIN*) foi posicionado com a ponta metálica em contato com a superfície da pata do animal, sobre o acuponto E36 da pata direita do animal, ao ligar o aparelho o mesmo gera ruídos sonoros, os quais aumentam a intensidade quando em contato com a região

de menor resistência tecidual (acuponto), garantindo maior precisão terapêutica. Após a localização do acuponto, o terapeuta manteve o contato com um dos dedos na placa terra do aparelho e com a outra mão foi realizado o contato na pata traseira do animal a fim de fechar o circuito da corrente, assim foi acionado o botão de estimulação para liberação da corrente sobre o acuponto, com duração de 1 minuto, a polaridade escolhida foi a negativa e intensidade máxima (400 μ A), conforme utilizada no estudo de Chevalier et al., (2016). Para o grupo falso estimulado (MENS *Off*), o aparelho foi posicionado sobre o acuponto, mas não foi iniciada a estimulação.

Figura 9- Aplicação da MENS sobre o acuponto *Zusanli* (E36)



Fonte: Do Autor

5.4 GRUPOS EXPERIMENTAIS- DELINEAMENTO DO ESTUDO

Grupos:

INCISÃO

Sham-Incisão + MENS *On* (n=8)

Sham-Incisão + MENS *Off* (n=8)

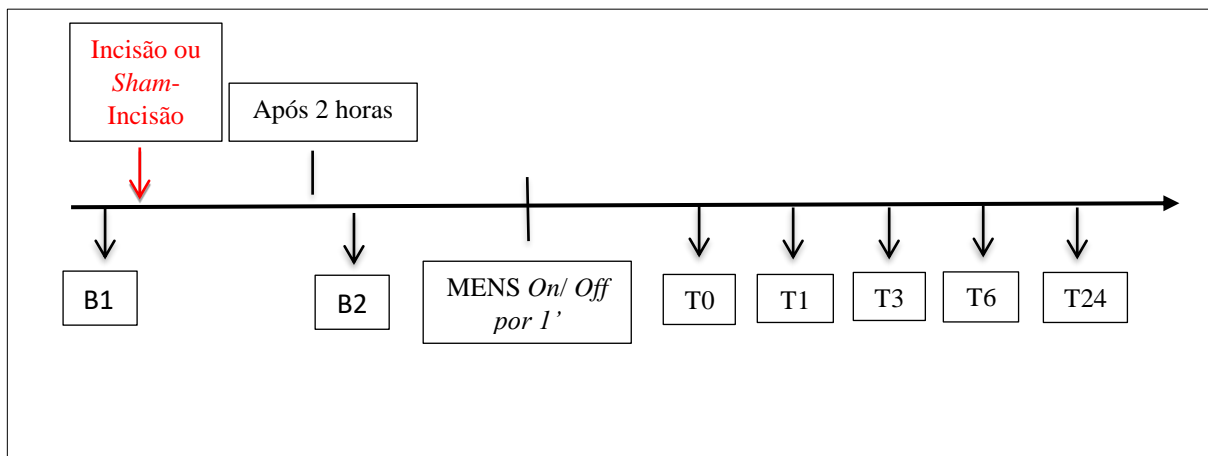
Incisão + MENS *On* (n=8)

Incisão + MENS *Off* (n=8)

CFA**Salina + MENS *On*** (n=8)**Salina + MENS *Off*** (n=8)**CFA + MENS *On*** (n=8)**CFA + MENS *Off*** (n=8)CCI**Sham-CCI + MENS *On*** (n=8)**Sham-CCI + MENS *Off*** (n=8)**CCI + MENS *On*** (n=8)**CCI + MENS *Off*** (n=8)

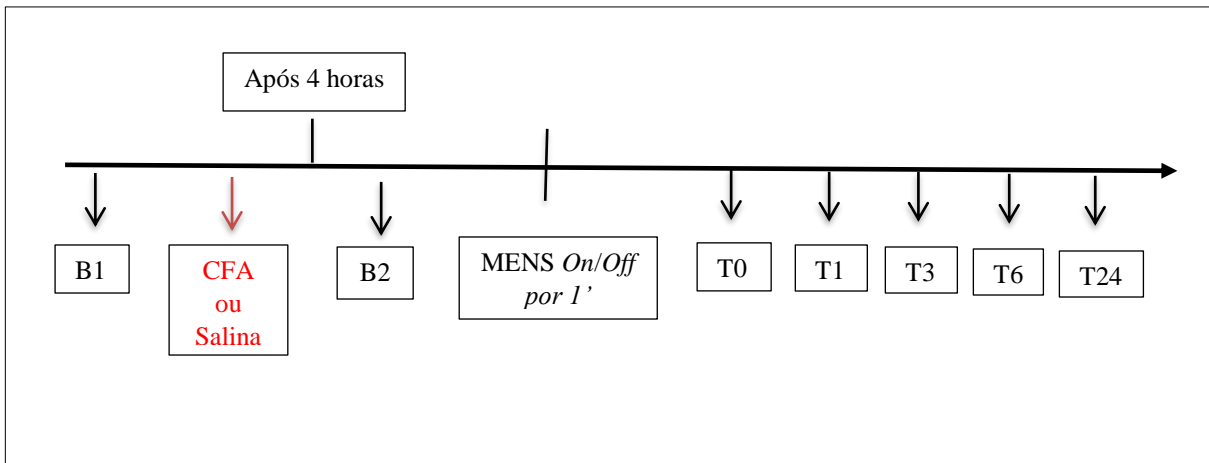
O limiar nociceptivo de retirada da pata, foi realizado através do teste de *von Frey* Eletrônico, nos modelos de dor incisional, inflamatória (CFA) e neuropática (CCI), as medidas foram realizadas antes da indução dolorosa (B1), após 2h para do incisional, 4h para dor inflamatória (CFA) e 7 dias para dor neuropática (CCI) (B2), e após a aplicação da MENS no acuponto E36 (T0, T1, T3, T6 e T24).

Figura 10- Descrição do grupo experimental de hiperalgesia induzida por incisão plantar



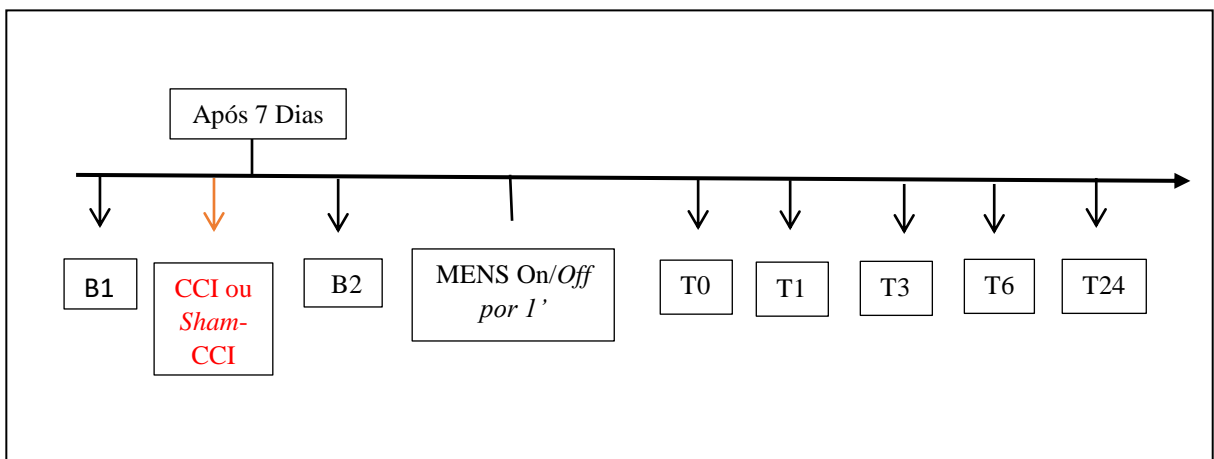
Fonte: Do Autor

Figura 11- Descrição do grupo experimental de hiperalgesia induzida por CFA



Fonte: Do Autor

Figura 12- Descrição do grupo experimental de alodinia induzida por CCI.



Fonte: Do Autor

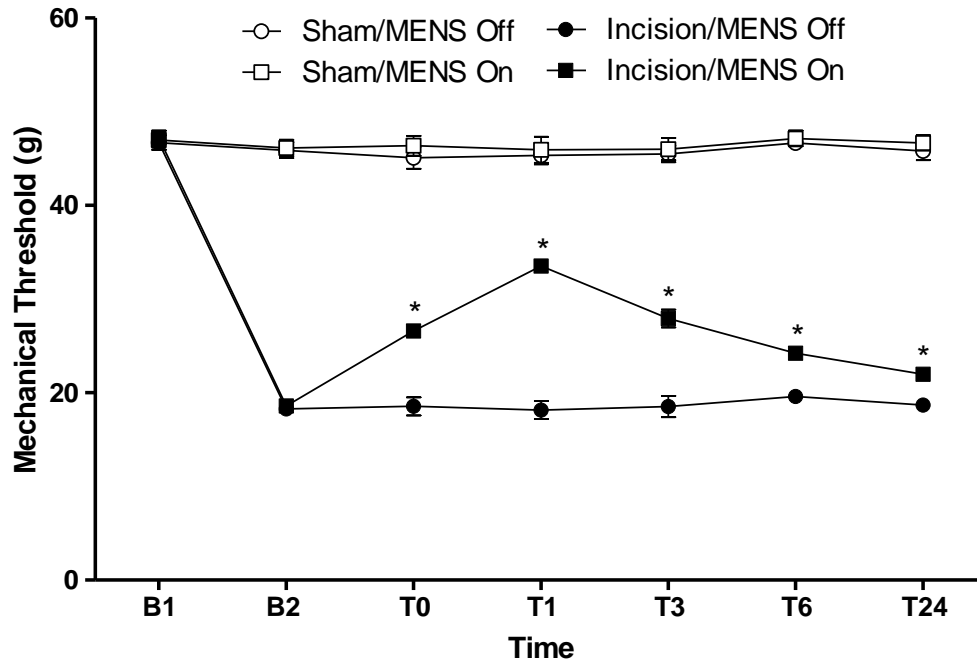
5.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Resultados comportamentais foram expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.) de 8 animais por grupo. A análise dos resultados foi feita pelo teste de análise de variância *TWO-WAY ANOVA*. As comparações post-hoc foram realizadas com o teste de Bonferroni usando o *Software Prisma*. O nível de significância foi de $P < 0,05$.

6 RESULTADOS

O gráfico 1 demonstra o limiar mecânico (g), avaliado pelo teste de *von Frey*, do grupo de modelo de hiperalgesia incisional, onde a avaliação do limiar mecânico foi realizada antes da cirurgia de incisão plantar (B1), 2 horas após a cirurgia (B2), e após a aplicação da MENS sobre o acuponto E36 por 1 minuto nos tempos T0, T1, T3, T6 e T24. No grupo Incisão/MENS Off foi observado que a hiperalgesia se mantém desde B2 até T24. No grupo Incisão/MENS On. A hiperalgesia incisional foi revertida nos tempos T0, T1, T3, T6 e T24, nesses, apesar de próximo de atingir o valor do limiar mecânico (g) de B1, esse valor não foi atingido para nenhum dos tempos avaliados. Os grupos Sham/MENS Off e Sham/MENS On mantiveram os mesmos níveis de limiares mecânicos de B2 até T24 após a aplicação da MENS On/Off. Sendo assim, a hiperalgesia induzida pela cirurgia de incisão na pata foi revertida significativamente ($p < 0,05$) através da aplicação da MENS no acuponto *Zusanli* (E36) por 1 minuto, em todos os tempos que foram avaliados o limiar mecânico (g). A interação em relação ao tempo ($F_{6,196} = 1049.21$, $p < 0,0001$), tratamento ($F_{3,196} = 10853.02$, $p < 0,0001$) e tratamento x tempo ($F_{18,196} = 367.40$, $p < 0,0001$), demonstrou que existe uma significativa interação entre tratamento x tempo.

Gráfico 1- Limiar mecânico avaliado pelo teste de *von Frey* no efeito da MENS *On* e MENS *Off* sobre o acuponto *Zusanli* (E36) por 1 minuto em relação a hiperalgesia incisional produzida pelo modelo experimental de dor incisional

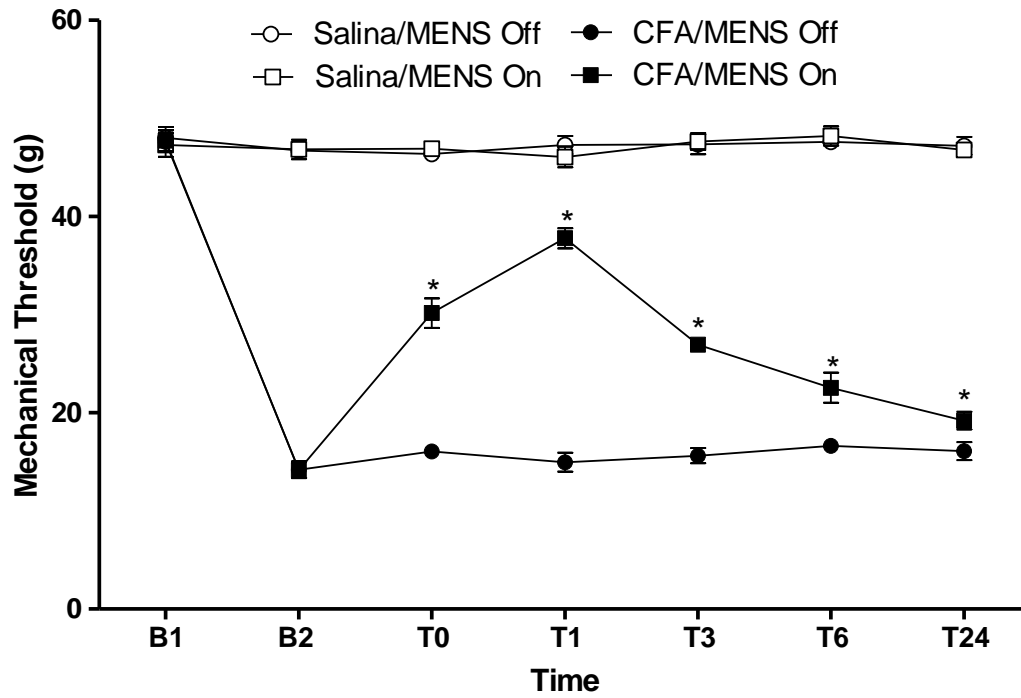


Nota: A análise estatística foi realizada utilizando-se *two-way* ANOVA seguido de Bonferroni *post hoc tests*, com interação em relação ao tempo ($F_{6,196} = 1049.21$, $p < 0,0001$), tratamento ($F_{3,196} = 10853.02$, $p < 0,0001$) e tratamento x tempo ($F_{18,196} = 367.40$, $p < 0,0001$).

Fonte: Do Autor

O gráfico 2 demonstra o limiar mecânico (g), avaliado pelo teste de *von Frey*, do grupo do modelo de dor inflamatória, onde a avaliação do limiar mecânico foi realizada antes da administração do CFA (B1), 4 horas após a administração de CFA (B2), e após a aplicação da MENS sobre o acuponto E36 por 1 minuto nos tempos T0, T1, T3, T6 e T24. No grupo CFA/MENS Off a hiperalgesia se mantém desde B2 até T24. A hiperalgesia inflamatória foi revertida no grupo CFA/MENS On nos tempos T0, T1, T3, T6 e T24, nesses, apesar de próximos de atingir o valor do limiar mecânico (g) de B1, esse valor não foi atingindo para nenhum dos tempos. Os grupos Salina/MENS Off e Salina/MENS On mantiveram os mesmos níveis de limiares mecânicos (g) de B1 até T24 após a aplicação da MENS On/Off. Sendo assim, a hiperalgesia induzida pela administração de CFA intraplantar foi revertida significativamente ($p < 0,05$) através da aplicação da MENS no acuponto *Zusanli* (E36) por 1 minuto, em todos os tempos que foram avaliados o limiar mecânico nociceptivo (g). A interação em relação ao tempo ($F_{6,196} = 1137.19$, $p < 0,0001$), tratamento ($F_{3,196} = 11782.28$, $p < 0,0001$) e tratamento x tempo ($F_{18,196} = 462.90$, $p < 0,0001$), demonstrou que existe uma significativa interação entre tratamento x tempo.

Gráfico 2- Limiar mecânico avaliado pelo teste de *von Frey* no efeito da MENS *On* e MENS *Off* sobre o acuponto *Zusanli* (E36) por 1 minuto, em relação a hiperalgesia inflamatória, produzida pelo modelo experimental de dor inflamatória.

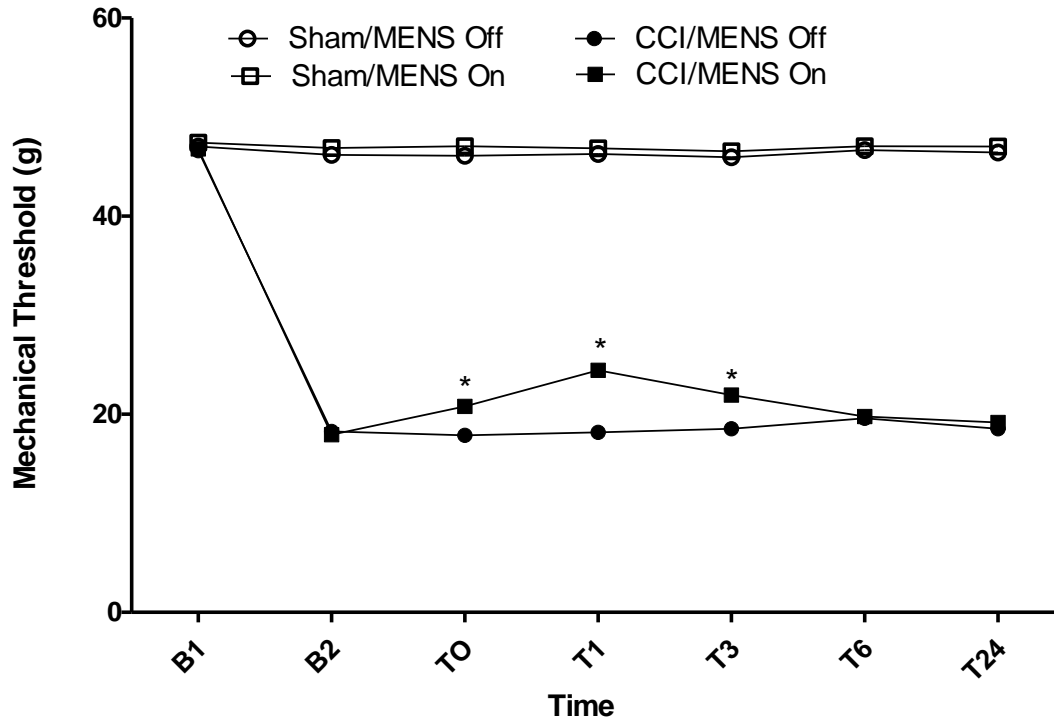


Nota: a análise estatística foi realizada utilizando-se *two-way* ANOVA seguido de Bonferroni *post hoc* tests, com interação em relação ao tempo ($F_{6,196} = 1137.19$, $p < 0,0001$), tratamento ($F_{3,196} = 11782.28$, $p < 0,0001$) e tratamento x tempo ($F_{18,196} = 462.90$, $p < 0,0001$).

Fonte: Do Autor.

O gráfico 3 demonstra o limiar mecânico (g), avaliado pelo teste de *von Frey*, do grupo de modelo de dor neuropática, onde a avaliação do limiar mecânico (g) foi realizada antes da CCI (B1), 7 dias após a CCI (B2), e após a aplicação da MENS sobre o acuponto E36 por 1 minuto nos tempos T0, T1, T3, T6 e T24. No grupo CCI/MENS Off a hiperalgesia se mantém desde B2 até T24. A alodinia neuropática foi revertida no grupo CCI/MENS On nos tempos T0, T1 e T3 nos tempos T6 e T24 o limiar mecânico retornou as condições de alodinia. Os grupos Sham/MENS Off e Salina/MENS On mantiveram os mesmos níveis de limiares mecânicos de B1 até T24 após a aplicação da MENS On/Off. Sendo assim, a alodinia induzida pela CCI foi revertida significativamente ($p < 0,05$) através da aplicação da MENS no acuponto *Zusanli* (E36) por 1 minuto, nos tempos T0, T1 e T3, não perdurando esse efeito para os tempos T6 e T24h após a intervenção. A interação em relação ao tempo ($F_{6,196} = 2113.28$, $p < 0,0001$), tratamento ($F_{3,196} = 24051.02$, $p < 0,0001$) e tratamento x tempo ($F_{18,196} = 661.77$, $p < 0,0001$), demonstrou que existe uma significativa interação entre tratamento x tempo.

Gráfico 3- Limiar mecânico avaliado pelo teste de *von Frey* no efeito da MENS *On* e MENS *Off* sobre o acuponto *Zusanli* (E36) por 1 minuto, em relação a alodinia neuropática produzida pelo modelo experimental de CCI.



Nota: A análise estatística foi realizada utilizando-se *two-way* ANOVA seguido de Bonferroni *post hoc tests*, com interação em relação ao tempo ($F_{6,196}=2113.28$, $p<0,0001$), tratamento ($F_{3,196}=24051.02$, $p<0,0001$) e tratamento x tempo ($F_{18,196}=661.77$, $p<0,0001$).

Fonte: Do Autor.

7 DISCUSSÃO

Neste estudo, foram estabelecidos modelos animais de dor incisional, inflamatória e neuropática, os animais com dor incisional, inflamatória e neuropática apresentaram após as induções de dor um aumento dos limiares mecânicos seguidos por uma diminuição dos limiares mecânicos, após o tratamento nos modelos de dor incisional e inflamatória, em todos os tempos avaliados, e no modelo de dor neuropática nos tempos T0, T1 e T3, os quais foram evidenciados por meio do teste comportamental de *von Frey* Eletrônico, como Farghali et al., (2016). Assim, o principal achado neste estudo foi que a aplicação da MENS sobre o acuponto *Zusanli* (E 36) por 1 minuto, produz um efeito analgésico, nos modelos de dor incisional, inflamatória e neuropática.

Os grupos controle das induções de dor: Sham-Incisão/ MENS On e Off, Salina /MENS On e Off e Sham- CCI/ MENS On e Off se mantiveram nas condições basais (B1) em todos os tempos da avaliação. Os grupos controle do tratamento: Incisão/MENS Off, CFA/MENS Off e CCI/MENS Off, se mantiveram hiperalgésicos após a indução de dor (B2), mostraram que o efeito analgésico se deve a aplicação pontual da MENS e não apenas ao posicionamento do aparelho de MENS (Off) por 1 minuto sobre o acuponto E36, assim, apenas o posicionamento do aparelho de MENS sobre o acuponto E36 por 1 minuto, na função desligado (Off), não gera a estimulação necessária de mecanorreceptores para que ocorra antinocicepção.

Assim, a característica analgésica para a dor aguda de origem inflamatória e incisional e para a dor crônica de origem neuropática, podem ser observadas pelos resultados obtidos nos grupos: Incisão/MENS On , CFA/MENS On e CCI/MENS On, pois, antes da aplicação da MENS (B2) os limiares mecânicos apresentaram-se baixos (indicando presença de hiperalgesia) e imediatamente após aplicação da MENS (T0) apresentaram-se em níveis mais altos (indicando o efeito analgésico) perdurando este efeito para os tempo T0, T1, T3, T6 e T24 nas condições de dor incisional e inflamatória e para os tempos T0, T1, T3 na condição de dor neuropática.

Na literatura existem apenas dois estudos com a atuação pontual da MENS na melhora de quadro algico, os quais foram realizados em humanos, não existem dados na literatura de estudos da aplicação da MENS sobre acupontos - MEAS (*Microcurrent Electrical Acupoint Stimulation*), em modelos animais de dor incisional, inflamatória e neuropática, o que torna o presente estudo, um estudo inovador no que diz respeito a aplicabilidade da MENS pontual nesses modelos de dor (ARMSTRONG, 2017; CHEVALIER, 2016).

Recentemente Chevalier et al., (2016) utilizaram a MENS pontual em pacientes portadores de dor crônica na região lombar, o tratamento foi realizado pelo aparelho *Dolphin Neurostim*, com a polaridade negativa, como utilizado no presente estudo, e demonstraram a sua eficácia na diminuição da intensidade da dor imediatamente após a intervenção e comprovaram a manutenção desse efeito após 48 horas da aplicação da MENS, corroborando este como os resultados obtidos no presente estudo.

Armstrong et al., (2017) realizaram um estudo com o objetivo de determinar o efeito da MENS aplicada em acupontos na região lombar de pacientes com dor crônica no pescoço, os indivíduos foram submetidos ao protocolo de tratamento que consistiu na aplicação da MENS pontual pelo *aparelho Dolphin Neurostim*, com a polaridade negativa, o qual também foi utilizado no presente estudo, em pontos de acupuntura lombares e posteriores de quadril, padronizados por um protocolo, os pacientes foram avaliados pela EVA pré-tratamento e 48 horas após uma única aplicação da MENS. Como resultado observamos que a intensidade da dor mostrou uma redução inicial estatisticamente significativa, quando comparados aos níveis iniciais de dor que perdurou até às 48h.

Frente aos resultados obtidos em relação à utilização da MENS, de acordo com Armstrong et al., (2017) sugere-se que a corrente contínua de baixa amplitude imita as comunicações biocelulares humanas, e sua aplicação pode produzir regulação do sistema nervoso autônomo, resultando em benefícios terapêuticos para todo o corpo. Além disso, sugere-se ainda que a MENS pode ativar a hipófise para liberar endorfinas. Ambos os processos bioquímicos podem fornecer uma explicação plausível para o alívio prolongado da dor após uma única aplicação da MENS.

Os autores relataram em um estudo de caso uma modificação nos parâmetros do sistema nervoso autônomo (equilíbrio simpático e parasimpático) paralelamente à redução do escore de dor após a aplicação da MENS. É possível que este mesmo mecanismo de ação esteja em jogo nesta condição de analgesia no presente estudo, pois a dor não estava localizada no mesmo local que o tratado, porém essa questão deve ser confirmada através de futuros estudos relacionando a aplicação da MENS e condições dolorosas (CHEVALIER et al., 2016).

Yang et al., (2008) relataram que o núcleo hipotalâmico supraóptico possui um importante papel na analgesia promovida pela eletroacupuntura, pois esta secreta arginina-vasopressina e ocitocina, que promovem aumento no limiar da dor. A eletroacupuntura também modula a atividade dos receptores NMDA, que estão envolvidos no desenvolvimento da dor crônica (WANG et al., 2006). E segundo Ulett et al., (1998), a analgesia promovida pela acupuntura também está relacionada com vias opióides, promovidas ao estimularem pontos

periféricos do corpo. Zhang et al., (2005) relataram que o efeito antiálgico da eletroacupuntura é mediado por receptores μ , resultando na liberação de endomorfina/endorfina e receptores δ e liberando encefalina.

O estímulo elétrico de baixa frequência (2 a 5Hz) induz a liberação central de endorfinas e encefalinas, resultando em analgesia. De forma geral, é possível afirmar que baixas frequências (até 10Hz) liberam encefalina, betaendorfina e endomorfina, responsáveis pela analgesia de longa duração na eletroacupuntura, justificando assim o efeito analgésico da aplicação pontual da MENS sobre o acuponto *Zusanli* nas condições de dor incisional, inflamatória e neuropática (ULLET, 1998).

Becker et al., (1961) observaram um fato interessante em seus estudos experimentais com animais, descrevendo um sistema de controle de correntes diretas constataram um sinal de corrente elétrica no organismo, que é mediado por um fluxo endógeno de corrente elétrica, a qual permite que ocorra a cicatrização, regeneração e crescimento celular, e nos tecidos lesados, entretanto, uma “interrupção elétrica” toma lugar, ocorrendo um aumento na resistência ao fluxo elétrico (bioimpedância elétrica), o que impede a resolução de problemas da dor crônica.

Em relação a isso, estudos têm indicado que a complexidade dos mecanismos de dor neuropática origina de um aumento no disparo do neurônio aferente primário e, conseqüentemente, isto pode provocar a descarga ectópica e induzir dor espontânea, hiperalgesia (causada pelo estímulo nocivo acima do limiar) ou alodinia (causado por estimulação não nociva) (JI; STRICHARTZ, 2004).

Assim justifica-se a diferença de tempo da ação analgésica da aplicação da MENS sobre o acuponto *Zusanli* nas induções de dor incisional e inflamatória e na dor neuropática, a qual teve um efeito analgésico mais curto, até o tempo 3h, quando comparada ao efeito analgésico da MENS sobre as outras condições dolorosas testadas no presente estudo.

Assim, podemos afirmar que tal corrente aqui estudada se torna uma ferramenta de grande importância e investigação na adesão da analgesia da dor pós-operatória, inflamatória e neuropática, o que pode sugerir um grande avanço no controle da dor pós-operatória, inflamatória e neuropática, pois, apesar dos fármacos e técnicas analgésicas disponíveis, a prevalência de dor são surpreendentemente altas na população em geral (COUCEIRO et al., 2009).

Diante do exposto, ainda se faz necessário avançar nas pesquisas sobre a efetividade da MENS, frente as condições dolorosas, com enfoque na estimulação sobre acupontos, como realizado no presente estudo. Dessa forma, será possível compreender melhor o seu mecanismo de ação na analgesia e suportar os resultados experimentais para a prática clínica dos

profissionais da saúde, possibilitando assim mudanças de comportamento dentro de um modelo biopsicossocial desses profissionais e pacientes e uma assistência rápida, prática, eficaz e indolor ao manejo da dor incisional, inflamatória e neuropática.

8 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados, podemos concluir que a aplicação da MENS sobre o acuponto *Zusanli* por 1 minuto, possui efeito analgésico, o qual pode ser constatado pela diminuição dos limiares mecânicos após a aplicação da MENS no acuponto *Zusanli*, frente a hiperalgesia mecânica induzida pelos modelos de dor incisional, inflamatória e neuropática, sendo que nos modelos de dor incisional e inflamatória, houve a diminuição do limiar mecânico em todos os tempos avaliados, e no modelo de dor neuropática nos tempos T0, T1 e T3.

Com base nos achados bibliográficos, podemos então dizer que estamos investigando uma nova técnica analgésica para os modelos de dor incisional, inflamatório e neuropático, que se dá através de estimulação do acuponto por microcorrente, MEAS (*Microcurrent Electrical Acupoint Stimulation*), no entanto ainda não há pesquisas suficientes que demonstrem o efeito da MEAS no tratamento desses diferentes tipos de dor, o que torna o presente estudo, um estudo de caráter inovador.

Portanto, espera-se que o presente estudo possa contribuir com evidências científicas a fim de favorecer a implementação da MENS pontual como uma ferramenta de intervenção prática e de fácil acesso para o tratamento de desordens álgicas.

REFERÊNCIAS

- AMIRMOHSENI, S. et al. Characterization of incisional and inflammatory pain in rats using functional tools of MRI. **Neuroimage**. v.127, p.110-22, 2016.
- ARMSTRONG, K. et al. Microcurrent Point Stimulation Applied to Lower Back Acupuncture Points for the Treatment of Nonspecific Neck Pain. **J Alter Compl Med**. v.23, n. 4, p. 295–299, 2017.
- ARNDT, L.C.; SCHULTZ, I.J. Micro-current therapy ushers in a New Era. **ICNR Publications**; 2003.
- BARON, R.; BINDER, A. How neuropathic is sciatica? The mixed pain concept. **Orthopade**. v.33, n.5, p.568-575, 2004.
- BASBAUM, A.I. et al. Cellular and molecular mechanisms of pain. **Cell**. v. 16, n. 139, p. 267-284, 2009.
- BECKER, R. The bioelectric factors in amphibian limb regeneration. **J of Bone and Joint Sugery**. 1961; v. 43, p. 643-656.
- BENNETT, G.J.; XIE, Y.K. A peripheralmononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. **Pain**, v. 33, p. 87-107, 1988.
- BERTONCELLO, K.C.G. et al. Acute Pain in Emergency: Evaluation and Control through MacCaffery and Beebe Instrument. **J Health Sci**. v.18,n.4,p.251-256,2016.
- BRENNAN, T.J.; VANDERMEULEN, E.P.; GEBHART, G.F.Characterization of a rat model of incisional pain. **Pain**, v.64,n.3, p.493-501, 1996.
- BRENNAN, T.J. Pathophysiology of postoperative pain. **Pain**. v.152, n. 3, p. 33-40, 2011.
- BURTON, A. R. et al. Effects of deep and superficial experimentally induced acute pain on muscle sympathetic nerve activity in human subjects. **J Physiol**, v. 587, 2009.

CARLUCCI, A. Programa de restauração da face com microcorrentes: Atualização em cirurgia plástica. **Robe**. 2004.

CARVALHO, W.; LEMÔNICA, L. Mecanismos celulares e moleculares da dor inflamatória. modulação periférica e avanços terapêuticos. **Rev Bras Anesthesiol**, v. 48, p. 137 – 158, 1998.

CHAPLAN, S.R. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. **J Neurosci Methods**. v.53, p. 55-63, 1994.

CHEVALIER, A; ARMSTRONG, K; GOKAL, R. Microcurrent Point Stimulation Applied to Acupuncture Points for the Treatment of Non-Specific Lower Back Pain. **J Altern Complement Integr Med**, v. 2, p. 016, 2016.

CHEVALIER, A. et al. Electroacupuncture Effects on Scars and Sutures of a Patient with Postconcussion Pain. **Med Acupunct** 28: 223-229, 2016.

COSTIGAN, M. et al. Neuropathic pain: a maladaptive response of the nervous system to damage. **Annu Rev Neurosci**, v. 32, p. 1–32, 2009.

COUCEIRO, T.C.M; VALENÇA, M.M; LIMA, L.C; MENEZES, T.C; RAPOSO, M.C.F. Prevalence and Influence of Gender, Age, and Type of Surgery on Postoperative Pain. **Rev Bras de Anesthesiol**. V. 59, N. 3, Mai-Jun, 2009

CUNHA, T.M. et al. Pain facilitation by proinflammatory cytokine actions at peripheral nerve terminals. **Immune and Glial Regulation of Pain**, p. 67–83, 2007

DEPARTMENT OF HEALTH & HUMAN SERVICES. **Food and Drug Administration** 2015. Disponível em: https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf13/K133789.pdf. Acesso: 22/jul, 2017.

DEVOR, M. Sodium channels and mechanisms of neuropathic pain. **J Pain**, v. 7, p. 3-12, 2006.

DOLPHIN MICROSTIM & MPS PAIN THERAPY. **Manual**, 35p.

DREWES, A.M. The physiology of pain. **Ugeskrift for Laeger**, v.168, n. 20, p. 1941-1943, 2006.

DWORKIN, R. H. et al. Recommendations for the pharmacological management of neuropathic pain: an overview and literature update. Mayo Clinic proceedings. **Mayo Clinic**, v. 85, p. S3–S14, 2010.

FARGHALY, H.S.M; MAHMOUD, A.M; ABDEL-SATER, K.A. Effect of dexmedetomidine and cold stress in a rat model of neuropathic pain: Role of interleukin-6 and tumor necrosis factor- α . **European Journal of Pharmacology**, 2016.

FERREIRA, L.C.M., et al. Associação entre recrutamento de músculos abdominais com desfechos clínicos e risco prognóstico em indivíduos com dor lombar crônica não específica: estudo preliminar. **Fisioter Pesq.** V. 23, n. 1, p. 45-51, 2016

FERREIRA, S.H. Dor Inflamatória. In Dor - Princípio e prática. São Paulo: **Artmed**, 2009

GREGORY, N. et al. An overview of animal models of pain: disease model sand outcome measures. **J Pain**. v.14, p.1-11. Nov, 2013.

GUIRRO, E.C.O; GUIRRO R.R.J. **Fisioterapia dermatofuncional**. 3. ed. São Paulo: Manole; 2004.

GUIRRO, R. R. J; GUIRRO, E. C. O; SOUZA, N. T. A. Sensory and Motor Thresholds of Transcutaneous Electrical Stimulation Are Influenced by Gender and Age. **P M R**, v.7, p. 4247, 2015

HAN, J.S.; TERENIUS, L. Neurochemical basis of acupuncture analgesia. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v.22, p. 193-220, 1982.

HARGREAVES, K. M.; RUPAREL, S. Role of Oxidized Lipids and TRP Channels in Orofacial Pain and Inflammation. **J of Dental Research**, 2016.

- HUANG, F. et al. Clinical effectiveness of laser acupuncture in the treatment of temporomandibular joint disorder. **J Formos Med Assoc**, v. 113, p. 535-9. 2012.
- JI, R. R.; STRICHARTZ, G. Cell signaling and the genesis of neuropathic pain. **Science Signaling**, v. 2004, n. 252, p. 1-14, 2004.
- JERAN, M. stimulation of skin ulcers of venous origin in humans: preliminary report of a double blind study. **J Bioelectr.** v. 6, p. 181-188, 2001.
- JULIUS, D., BASBAUM, A.I. Molecular mechanisms of nociception. **Nature**. v. 413, p. 203-210, 2001
- KLAUMANN, P. R.; WOUK, A. F. P. F.; SILLAS, T. Pathophysiology of pain. **Archives of Veterinary Science**, v. 13, n.1, p.1-12, 2008.
- KWON, D.R.; PARK, G.Y. Efficacy of microcurrent therapy in infants with congenital muscular torticollis involving the entire sternocleidomastoid muscle: a randomized placebo-controlled trial. **Clin Rehabil.** V. 28, p. 983–991, 2014.
- KWON, D.R., et al. Short-term microcurrent electrical neuromuscular stimulation to improve muscle function in the elderly. **Medicine (Baltimore)**, 2017.
- LANFERDINI, F.J. Efeitos de oito semanas de treinamento com estimulação elétrica neuromuscular nas razões de ativação muscular / torque de idosas com osteoartrite. **Rev. bras. geriatr. gerontol.** V. 18, n. 3, p. 557-565, 2015.
- LAMBERT, M.I.; MARCUS, P.; BURGESS, T.;NOAKES, T.D. Eletro-membrane microcurrent therapy reduces signs and symptoms of muscle damage. **Med Sci Sport Exerc.**v. 34, n.4, p. 602-7, 2002.
- LAMONT, L. A.; TRANQUILLI, W. J. Physiology of Pain. The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice. **Philadelphia:Saunders**, v.30, n.4, p. 703-728, 2000.

LEE, J.S. et al. The peripheral and central mechanisms underlying itch. **BMB Rep.**, 2016

LI, W.N, et al. Analgesic Effect of Electroacupuncture on Complete Freund's Adjuvant-Induced Inflammatory Pain in Mice: A Model of Antipain Treatment by Acupuncture in Mice. **Japanese Journal of Physiology**, v.55, p.339–344, 2005.

LIU, H.; MANTYH, P.W.; BASBAUM, A.I. NMDA-receptor regulation of substance P release from primary afferent nociceptors. **Nature**, v.386, p, 721-724, 1997.

MARTINS, C.A.S.; AGARÃO, F.F. Post-operative pain: concepts and pathophysiology. **Rev Dor.**; v. 18, n 1, p. 2-7. São Paulo, 2017.

MILLAN, M. J. Descending control of pain. **Progress in Neurobiology**, v. 66, n. 6, p. 355-474, 2002.

MIYASHITA, V. A. **Uso da microcorrente em fisioterapia: revisão de literatura**. 2012. 16f. Artigo (especialização) - Centro de Estudos Avançados em Formação Integrada, Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2012.

MCKIN, C. Microcurrent therapy: A novel treatment method for chronic low back myofascial pain. **Journal of Bodywork and movement therapies**, v. 8, p. 143-153, 2004.

MCKIN, C. Frequency Specific Microcurrent in Pain Management. **Edinburgh: Churchill Livingstone/Elsevier**, 2011.

MCKIN, C. Microcurrent therapy in the treatment of fibromyalgia. In: Chaitow L, ed. **Fibromyalgia Syndrome: A Practitioner's Guide to Treatment**. Edinburgh: **Churchill Livingstone**, p. 179–206, 2003.

MILLAN, M. J. Descending control of pain. **Progress in Neurobiology**, v. 66, n. 355-474, 2002.

OAKLANDER, A.L. Chronic pain. **ACP Medicine**, p. 1-19, 2011.

PISERA, D. Fisiologia da dor. In: Dor Avaliação e Tratamento em Pequenos Animais. **Interbook**. p. 30-74, São Paulo, 2005.

REICHL, S. et al. Activation of glial glutamate transporter via MAPK p38 prevents enhanced and long-lasting non-evoked resting pain after surgical incision in rats. **Neuropharmacol.** v. 105, p. 607-17, 2016.

SAHBAIE, P. et al. Epigenetic regulation of spinal cord gene expression contributes to enhanced postoperative pain and analgesic tolerance subsequent to continuous opioid exposure. **Mol Pain**.v.12, p. 1-11, 2016.

SOCIEDADE BRASILEIRA PARA ESTUDO DA DOR (**SBED**). Disponível em: <http://www.sbed.org.br>. Acesso em: 10 jan. 2018.

TRANQUILLI, W. J. Fisiologia da dor aguda. In: GREENE, S. A. Segredos em anestesia veterinária e manejo da dor. Porto Alegre: **Artmed**. p. 399-402, 2004.

TREEDE, R.D., et al. A classification of chronic pain for ICD-11. **Pain**, v. 156, p. 1003–7, 2015.

ULETT, G.A. et al. Electroacupuncture: Mechanisms and clinical application. **Biol. Psychiatry**, v.44, p.129-138, 1998.

URBAN, M.O.; GEBHART, G.F. Central Mechanisms in pain. **Med Clin of North America**. V. 83, n. 3, 1999.

VICKERS, A.; WILSON, P.; KLEIJNEN. Qual Saf Health Care. **J. Acupuncture**. V. 11, n. 1, p. 92-97, 2002.

WALKER, K; PERKINS, M; DRAY, A. Kinins and kinin receptors in the nervous system. **Neurochem Int**, v.26,n.1, p.1-16, 1995.

WANG, C. et al. Electroacupuncture (EA) modulates the expression of NMDA receptors in primary sensory neurons in relation to hyperalgesia in rats. **Brain Research**, v.1120, p.46-53, 2006

WOLKERSTORFER, A.; HANDLER, N.; BUSCHMANN, H. New approaches to treating pain. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. v. 26, p. 1103–1119, 2016.

YANG, J. et al. Effect of hypothalamic supraoptic nucleus on acupuncture analgesia in the rat. **Brain Research Bulletin**. v.75, p.681-686, 2008.

YEZIERSKI, R.P.; HANSSON, P. Inflammatory and Neuropathic Pain From Bench to Bedside: What Went Wrong?. **J Pain**. 2018

YIM, Y.K. et al. Electro-acupuncture at acupoint ST36 reduces inflammation and regulates immune activity in collagen-induced arthritic mice. **Evid Based Complement Alternat Med**.v.4,p51–57, 2007.

ZHANG, R.X. et al. Mu opioid receptor-containing neurons mediate electroacupuncture-produced anti-hyperalgesia in rats with hind paw inflammation. **Brain Research**, v.1048, p.235240, 2005.

ZIMMERMANN, M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. **Pain**, v.16,p 109-110,1983.

ZUIM, P.R.J., et al. Evaluation of Microcurrent Electrical Nerve Stimulation (MENS) Effective on Muscle Pain in Temporomandibular Disorders Patients. **J Appl Oral Sci**.v. 14,p. 61-66, 2006.

ANEXO

Anexo A- Referente ao certificado de aprovação para pesquisa (CEUA)



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Alfenas. Unifal-MG
 Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700. Alfenas/MG. CEP 37130-000
 Fone: (35) 3299-1000. Fax: (35) 3299-1063

Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UNIFAL



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Estudo piloto do efeito da microcorrente sobre o acuponto Zusanli nos modelos de dor incisional, inflamatória e neuropática em ratos Wistar", registrada com o nº 59/2016, sob a responsabilidade de Josie Resende Torres da Silva, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA-UNIFAL) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS.

Finalidade	<input type="checkbox"/> Ensino	<input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa científica
Vigência da autorização	De 29/03/2017 a 05/06/2017	
Espécie/linhagem/raça	Rato Wistar / heterogênico	
Nº de animais	116	
Sexo	Macho	
Origem	Biotério Central da UNIFAL	

Alfenas, 29 de Março de 2017.


 Prof. Dr. Leonardo Augusto de Almeida
 Coordenador - CEUA-UNIFAL