



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
MESTRADO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

MAIARA SIMÕES CARVALHO

**PARTICIPAÇÃO DE RECEPTORES SEROTONINÉRGICOS E
NORADRENÉRGICOS ESPINAIS NO EFEITO
ANTINOCICEPTIVO DA CORRENTE INTERFERENCIAL
EM MODELO ANIMAL DE INFLAMAÇÃO ARTICULAR**

**SÃO CRISTÓVÃO
2019**

MAIARA SIMÕES CARVALHO

**PARTICIPAÇÃO DE RECEPTORES SEROTONINÉRGICOS E
NORADRENÉRGICOS ESPINAIS NO EFEITO
ANTINOCICEPTIVO DA CORRENTE INTERFERENCIAL
EM MODELO ANIMAL DE INFLAMAÇÃO ARTICULAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Sergipe como requisito à obtenção do grau de mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientador(a): Prof^a. Dr^a. Josimari Melo de Santana
Co-orientador(a): Dr^a. Kamilla Mayara Lucas da Cruz Reis

**SÃO CRISTÓVÃO
2019**

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca da Saúde/UFS

C331p Carvalho, Maiara Simões
Participação de receptores serotoninérgicos e noradrenérgicos espinais no efeito antinociceptivo da corrente interferencial em modelo animal de inflamação articular / Maiara Simões Carvalho; orientadora Josimari Melo de Santana. – São Cristóvão, SE, 2019.

79 f. : il.

Dissertação (mestrado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de Sergipe, 2019.

1. Eletroterapia. 2. Medição da dor. 3. Serotonina - Receptores. 4. Adrenalina – Receptores. 5. Articulações. 6. Inflamação. I. Santana, Josimari Melo de. II. Título.

CDU 616.8-085.84

MAIARA SIMÕES CARVALHO

**PARTICIPAÇÃO DE RECEPTORES
SEROTONINÉRGICOS E NORADRENÉRGICOS
ESPINAIS NO EFEITO ANTINOCICEPTIVO DA
CORRENTE INTERFERENCIAL EM MODELO
ANIMAL DE INFLAMAÇÃO ARTICULAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Sergipe como requisito à obtenção do grau de mestre em Ciências Fisiológicas.

Presidente da banca: Josimari Melo de Santana

1º Examinador: Richard Eloin Liebano

2º Examinador: Simone de Souza Nascimento

AGRADECIMENTOS

“Tu, ó Senhor, dás paz e prosperidade às pessoas que têm uma fé firme, às pessoas que confiam em ti. Confiem sempre no Senhor, pois Ele é o nosso eterno abrigo” (Isaías 26:3,4). Obrigada meu Deus, muito obrigada por me dar esperança quando achei que não seria possível, por me manter firme quando minha vontade era desistir e por colocar anjos em minha vida nos momentos de tribulação.

Se eu pudesse resumir todo esse período de pós-graduação em uma única palavra, eu o resumiria em DESAFIO. Sim, foi um desafio entrar no programa de ciências fisiológicas sem qualquer experiência em pesquisa, passar pela tão temida prova de seleção, pela escrita do projeto, pela manipulação de animais de laboratório, pela execução de procedimentos que exigiam habilidade técnica, pelas várias tentativas de fazer algo dar certo quando o tempo corria apressadamente.

Porém, junto dessa palavra DESAFIO, existe uma outra que resumiria muito bem as minhas atitudes diante desse cenário, essa palavra é a PERSISTÊNCIA. Persistência em tentar novas opções de projeto, quando a opção original não era a mais adequada, persistência em aprender as habilidades exigidas para execução da pesquisa, quando elas pareciam extremamente difíceis. Foi com esse sentimento de persistência que driblei as dificuldades que foram aparecendo no caminho e hoje sinto-me extremamente grata por ter passado por todos esses desafios, pois foram eles que impulsionaram meu aprendizado. Não foi uma tarefa fácil, mas quem disse que seria? “Meus irmãos, considerem motivo de grande alegria o fato de passarem por diversas provações, pois vocês sabem que a prova da sua fé produz perseverança. E a perseverança deve ter ação completa, a fim de que vocês sejam maduros e íntegros, sem lhes faltar coisa alguma” (Tiago 1:2-4).

Em meio ao misto de emoções que sinto neste exato momento que escrevo essas palavras, externo minha gratidão a todos que contribuíram para a entrega desse manuscrito. Agradeço especialmente à minha orientadora Josimari pela paciência, dedicação e confiança. Professora, imagino que não deve ter sido fácil receber alguém com tão pouca experiência, te agradeço por me acolher tão bem nessa família que é o LAPENE. Me sinto muito honrada por ser sua orientanda e por levar em minha bagagem o nome de um grupo de pesquisa guiado por uma pessoa tão renomada.

Em relação aos anjos que Deus colocou em minha vida nesse período, eu posso falar sobre a minha co-orientadora Kamilla Cruz. As palavras que escrevo aqui são muito poucas

para te agradecer por todo o apoio prestado nesse período, Kamilla. Obrigada por pegar em minha mão e me ensinar a trilhar o caminho da pesquisa. Deus te deu essa missão e você a cumpriu com todo o louvor.

Agradeço também ao meu companheiro de caminhada científica, Felipe Torres, que caiu e levantou comigo várias vezes durante esse percurso. Aqui estamos Felipe, esse momento é nosso. Aos meus colegas de laboratório e do Programa de Ciências Fisiológicas que tornaram meus dias mais alegres. Agradeço de modo específico a Ivana, Camilla Dalan, Mayara Tavares, Silvio, Annanda Oliveira, Andreza, Daniele Messias, Eline, João, Luiz André, Roberta, Vinícius e Genivaldo.

Agradeço ao Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas, em especial ao melhor secretário de todos os programas de pós-graduação, Renivan. Aos professores Patrícia e Leandro que estiveram presentes na gestão do laboratório animal, buscando a manutenção de um ambiente adequado para a realização dos experimentos. À prof^a. Sara, que além do auxílio intelectual, contribuiu com materiais fundamentais para a execução dos experimentos.

Não poderia deixar de agradecer à banca do programa de acompanhamento sistemático do aluno (PROASA) que esteve comigo ao longo desses dois anos, em especial ao prof. Enilton Camargo que me acompanhou desde o meu primeiro dia de aula no mestrado até a minha qualificação. Professor, sempre senti o seu esforço em contribuir com o meu trabalho e com a minha formação, sua metodologia de ensino é maravilhosa, muito obrigada pelos artigos discutidos em sala de aula. A cada discussão um novo aprendizado e a cada aprendizado a certeza de que eu estava sendo acompanhada pelos melhores mestres. Estendo o meu agradecimento à minha banca de qualificação que tanto contribuiu para a versão final da dissertação, prof^a. Karina Sato e prof^a. Simone Nascimento, meu muito obrigada.

Aos animais, que permitiram o desenvolvimento dessa pesquisa para construção do conhecimento científico que beneficiará seres humanos. À CAPES, pelo auxílio financeiro por meio de concessão da minha bolsa de estudos ao longo do mestrado.

Por fim, agradeço às pessoas mais importantes da minha vida, a minha família. Um agradecimento especial ao meu esposo, Filipe, que não mediu esforços para me ver feliz, que me incentivou, me consolou quando eu estava triste e vibrou comigo nos momentos felizes. Nesse período acelerado de produção científica, também foi o momento que selamos nossa união, muito obrigada pela paciência e por entender minhas ausências em certos momentos, te amo. Aos meus pais, que sempre acreditaram no meu potencial e se orgulham de mim a cada etapa vencida, essa vitória também é de vocês, muito obrigada pela educação que me proporcionaram. À minha avó Nicéia, obrigada pelo abraço apertado mais aconchegante desse

mundo. À minha irmã, pelo companheirismo e carinho de sempre. Aos meus sogros e cunhados pelo apoio emocional.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente com o desenvolvimento dessa pesquisa, muito obrigada! Que venham os novos desafios!

“Alegram-se na esperança, sejam pacientes na tribulação, perseverem na oração”. Romanos 12:12

RESUMO

Participação de receptores serotoninérgicos e noradrenérgicos espinais no efeito antinociceptivo da corrente interferencial em modelo animal de inflamação articular, Maiara Simões Carvalho, São Cristóvão, 2019.

Introdução: A corrente interferencial (CI) é uma modalidade eletroterapêutica bastante utilizada para fins analgésicos, contudo, poucos estudos buscaram avaliar seus mecanismos de ação para promoção do efeito antinociceptivo. O objetivo deste estudo foi investigar a participação de receptores serotoninérgicos e noradrenérgicos espinais no efeito antinociceptivo da corrente interferencial no modelo animal de inflamação articular em ratos *Wistar*. **Material e método:** Foram incluídos neste estudo 54 ratos *Wistar* machos distribuídos nos grupos CI + salina, CI + DMSO 20%, CI inativa + salina, CI inativa + DMSO 20%, CI + metisergida, CI + tropanil diclorobenzoato, CI + ioimbina, cloridrato de serotonina e cloridrato de clonidina. No momento basal, foram realizados testes comportamentais para sensibilidade e desempenho motor seguido de indução de inflamação articular por injeção de solução de carragenina 3% e caolina 3% no joelho esquerdo dos animais. Após 24 h, o comportamento foi reavaliado seguido de tratamento com a corrente, antecedido ou não de bloqueio farmacológico. O bloqueio farmacológico foi realizado por meio de injeção intratecal, aplicada antes do tratamento com a corrente. Uma hora após o tratamento com a CI, os testes comportamentais foram repetidos. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. **Resultados:** Houve diminuição significativa do limiar mecânico de retirada da pata esquerda 24 h após a indução da inflamação em todos os grupos ($p < 0,0001$). Os grupos tratados com corrente interferencial que receberam veículos (salina ou DMSO 20%) aumentaram significativamente o limiar mecânico de retirada da pata em comparação ao momento pré-tratamento ($p \leq 0,001$). Ambos com tamanho de efeito muito grande de acordo com o d de Cohen ($d = 1,95$ e $d = 1,83$, respectivamente). Houve bloqueio do efeito da CI nos grupos que receberam, previamente ao tratamento com a corrente, a metisergida (antagonista não seletivo de receptores 5-HT₁ e 5-HT₂) e tropanil diclorobenzoato (antagonista de receptores 5-HT₃). Nesses dois grupos, não houve diferença estatisticamente significativa no limiar mecânico de retirada da pata esquerda, quando comparados os momentos pré e pós-tratamento. Além disso, no pós-tratamento, os grupos pré-tratados com metisergida ou tropanil diclorobenzoato não aumentaram o limiar mecânico de retirada da pata esquerda, diferente dos grupos veículos. Os animais que receberam ioimbina (antagonista α_2 -adrenérgico) aumentaram o limiar mecânico de retirada da pata inflamada quando comparados os momentos pré e pós-tratamento, mostrando que esse bloqueio farmacológico não impediu o efeito da CI. A injeção intratecal de agonistas de receptores serotoninérgicos e α_2 -adrenérgicos (cloridrato de serotonina e clonidina) aumentou significativamente o limiar mecânico de retirada da pata esquerda ($p \leq 0,004$). A distância percorrida pelos animais reduziu significativamente ($p \leq 0,0207$) após a indução da inflamação, contudo, a administração dos fármacos e/ou tratamento com a CI não exerceu influência na atividade motora. **Conclusão:** Esse estudo mostra parte do mecanismo de ação da CI em intensidade motora para promoção de efeito antinociceptivo. Tal efeito é mediado por ativação espinal de receptores 5-HT₁, 5-HT₂ e 5-HT₃, mas não de receptores α_2 -adrenérgicos. Esses resultados permitem aos profissionais justificar a indicação clínica desse recurso eletroterapêutico, adequando seu uso às particularidades fisiopatológicas de cada indivíduo.

Descritores: eletroterapia; corrente interferencial; nocicepção; receptores serotoninérgicos; receptores adrenérgicos.

ABSTRACT

Involvement of serotonergic and noradrenergic spinal receptors in the antinociceptive effect of interferential current in an animal model of articular inflammation, Maiara Simões Carvalho, São Cristóvão, 2019.

Introduction: The Interferential current (IC) is an electrotherapeutic modality widely used for analgesic purposes, however, few studies have sought to evaluate its mechanisms of action to promote the antinociceptive effect. The aim of this study was to investigate the involvement of spinal serotonergic and noradrenergic receptors in the antinociceptive effect of the interferential current in the animal model of articular inflammation in *Wistar* rats. **Material and method:** We included in this study 54 male *Wistar* rats distributed in the groups CI + saline, CI + DMSO 20%, inactive IC + saline, inactive IC + DMSO 20%, CI + methysergide, CI + tropanil dichlorobenzoate, CI + yohimbine, serotonin hydrochloride and hydrochloride of clonidine. At baseline, behavioral tests were performed for sensitivity and motor performance followed by induction of joint inflammation by injection of 3% carragein solution and 3% caolin in the left knee of the animals. After 24 h, the behavior was reevaluated followed by treatment with the current, preceded or not by pharmacological blockade. The pharmacological blockade was performed by means of intrathecal injection, applied before the treatment with the current. One hour after treatment with IC, the behavioral tests were repeated. The values of $p < 0.05$ were considered significant. **Results:** There was a significant decrease in the mechanical threshold of left paw withdrawal 24 h after the induction of inflammation in all groups ($p < 0.0001$). The groups treated with interferential current that received vehicles (saline or DMSO 20%) significantly increased the mechanical threshold of paw withdrawal in comparison to the pre-treatment moment ($p \leq 0.001$). Both with very large effect size according to Cohen's d ($d = 1.95$ and $d = 1.83$, respectively). There was blockade of the effect of IC in the groups that received, prior to the treatment with the current, the methysergide (non-selective antagonist of receptors 5-HT₁ and 5-HT₂) and tropanyl dichlorobenzoate (receptor antagonist 5-HT₃). In these two groups, there was no statistically significant difference in the mechanical threshold of left paw withdrawal, when comparing the moments before and after treatment. In addition, after treatment, the pre-treated groups with methysergide or tropanyl dichlorobenzoate did not increase the mechanical threshold of left paw withdrawal, different from the vehicle groups. The animals that received yohimbine (α_2 -adrenergic antagonist) increased the mechanical threshold for the removal of the inflamed paw when comparing the pre-and post-treatment moments, showing that this pharmacological blockade did not prevent the effect of IC. Intrathecal injection of serotonergic and α_2 -adrenergic receptor agonists (serotonin hydrochloride and clonidine) significantly increased the mechanical threshold of left paw withdrawal ($p \leq 0.004$). The distance traveled by the animals reduced significantly ($p \leq 0.0207$) after the induction of inflammation, however, the administration of the drugs and/or treatment with IC did not exert influence on motor activity. **Conclusion:** This study shows part of the mechanism of action of IC in motor intensity to promote antinociceptive effect. This effect is mediated by spinal activation of 5-HT₁, 5-HT₂ and 5-HT₃ receptors, but not α_2 -adrenergic receptors. These results allow professionals to justify the clinical indication of this electrotherapeutic resource, adapting its use to the physiopathological particularities of each individual.

Key-words: electric stimulation therapy; interferential current; nociception; receptors serotonin; receptors adrenergic.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Modulação descendente inibitória e facilitatória da via noradrenérgica.....	7
Figura 2. Modulação descendente inibitória e facilitatória da via serotoninérgica	8
Figura 3. Corrente em formato de onda senoidal resultante da interferência de correntes de diferentes frequências	18
Figura 4. A: Injeção de carragenina e caolina (seta vermelha); B. Local da inflamação (em vermelho); C. Eletrodos e local da aplicação da corrente interferencial (CI).	23
Figura 5. Delineamento experimental	28
Figura 6. Efeito da CI em associação ao bloqueio de receptores serotoninérgicos no limiar mecânico de retirada da pata esquerda de animais com inflamação articular	30
Figura 7. Efeito da CI em associação ao bloqueio de receptores noradrenérgicos no limiar mecânico de retirada da pata esquerda de animais com inflamação articular	31
Figura 8. Efeito da CI em associação ao bloqueio de receptores serotoninérgicos no limiar mecânico de retirada da pata direita de animais com inflamação articular	32
Figura 9. Efeito da CI em associação ao bloqueio de receptores noradrenérgicos no limiar mecânico de retirada da pata direita de animais com inflamação articular	32
Figura 10. Efeito da CI em associação ao bloqueio de receptores serotoninérgicos e noradrenérgicos na distância percorrida pelos animais	33

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Bloqueio farmacológico e grupos da série experimental.....	26
Quadro 2. Fármacos e doses da série experimental.....	27
Quadro 3. Valores para interpretação dos tamanhos de efeito.	28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HT	Serotonina ou 5-hidroxitriptamina
a.c.	Antes de Cristo
AMPc	Adenosina monofosfato cíclico
AVC	Acidente vascular cerebral
CEPA	Comitê de ética em pesquisa animal
CGRP	Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina
CI	Corrente interferencial
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
cps	Ciclos por segundo
DAG	Diacilglicerol
DMSO	Dimetilsulfóxido
d.p.	Depois de Cristo
FAM	Frequência de amplitude modulada
GMPc	Guanosina monofosfato cíclico
FM	Fibromialgia
I	Corrente
IASP	Associação Internacional Para o Estudo da Dor
IL-1β	Interleucina 1 beta
IL-8	Interleucina 8
IP3	Inositol trifosfato
L5	Vértebra lombar 5
L6	Vértebra lombar 6
LAPENE	Laboratório de pesquisa em neurociência
p	Nível de significância
PAG	Substância cinzenta periaquedutal
PKC	Proteína quinase C
RVM	Região rostroventromedial do bulbo
SNC	Sistema nervoso central
SNP	Sistema nervoso periférico
SP	Substância p
TENS	Estimulação elétrica nervosa transcutânea

TNFα	Fator de necrose tumoral alfa
UFS	Universidade Federal de Sergipe

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1 Dor	4
2.2 Modulação da dor pelas vias noradrenérgica e serotoninérgica	6
2.3 Modelos animais de dor	12
2.4 História da eletroterapia	13
2.5 Conceitos básicos e efeitos biológicos das correntes elétricas.....	15
2.6 Corrente interferencial.....	17
3. OBJETIVOS	21
3.1 Objetivo geral.....	21
3.2 Objetivos específicos.....	21
4. MATERIAL E MÉTODO	22
4.1 Animais.....	22
4.2 Indução da inflamação articular	22
4.3 Aplicação da corrente interferencial.....	22
4.4 Testes comportamentais.....	23
4.4.1 Mensuração do limiar mecânico de retirada da pata	23
4.4.2 Mensuração da distância percorrida	24
4.5 Série experimental	24
4.5.1 Injeção intratecal.....	24
4.5.2 Grupos	25
4.5.3 Fármacos.....	26
4.5.4 Delineamento experimental.....	27
4.6 Análise estatística.....	28
5. RESULTADOS	29

6. DISCUSSÃO	34
7. CONCLUSÃO.....	44
REFERÊNCIAS	45
APÊNDICES	60
APÊNDICE A – LIMIAR MECÂNICO DE RETIRADA DA PATA.....	60
APÊNDICE B – DISTÂNCIA PERCORRIDA	61
APÊNDICE C – INTENSIDADE DE ESTIMULAÇÃO COM A CORRENTE	62
ANEXOS	63
ANEXO A – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ANIMAL	63

1. INTRODUÇÃO

A dor é considerada um grande problema clínico, social e econômico em comunidades ao redor do mundo (HENSCHKE; KAMPER; MAHER, 2015). Dentre as terapias atualmente utilizadas para fins analgésicos, encontra-se a corrente interferencial (CI). A CI é caracterizada por ser resultante da interferência/cruzamento de duas correntes de média frequência, aplicadas continuamente a intensidade constante, para geração de uma frequência de amplitude modulada (FAM) responsável pelos efeitos biológicos (JARIT *et al.*, 2003; OZCAN; WARD; ROBERTSON, 2004; WARD, 2009). Na prática clínica, essa FAM gira em torno de 1 a 150 Hz (MINDER *et al.*, 2002; ROBERTSON, 2006).

Há evidências na literatura, do uso da CI como terapia analgésica para o tratamento de dor lombar crônica (FACCI *et al.*, 2011; ALBORNOZ-CABELLO *et al.*, 2017; RAJFUR *et al.*, 2017; FRANCO *et al.*, 2018), artrite (WALKER *et al.*, 2006; ELNAGGAR; ELSHAFFEY, 2016), osteoartrite (GUNDOG *et al.*, 2012; ZENG *et al.*, 2015), dor muscular tardia (ROCHA *et al.*, 2012), dismenorreia primária (TUGAY *et al.*, 2007), fibromialgia (FM) (ALMEIDA *et al.*, 2003; MORETTI *et al.*, 2012) e dor pós-operatória (JARIT *et al.*, 2003). Apesar de ensaios clínicos evidenciarem analgesia com o uso da CI, pouco se sabe sobre seus mecanismos de ação para atingir esse efeito. Estudos mecanísticos de recursos eletroterapêuticos têm grande relevância clínica, pois sustenta a sua indicação terapêutica de forma segura e assertiva.

Por se tratarem de terapias elétricas, aplicadas por via transcutânea, que têm apresentado resultados semelhantes nas suas respostas analgésicas, a estimulação elétrica nervosa transcutânea (TENS) e a CI são comumente comparadas na literatura científica, tanto em relação aos seus mecanismos de ação quanto em relação à sua efetividade enquanto tratamento (CORRÊA *et al.*, 2016). Embora alguns estudos tenham defendido superioridade analgésica da CI em relação à TENS, justificada pelo potencial de maior penetração da CI nos tecidos (JOHNSON; TABASAM, 2003), uma revisão sistemática com metanálise apontou que não existe superioridade em relação aos dois tratamentos (ALMEIDA *et al.*, 2018).

Ao contrário da CI, a TENS possui seus mecanismos de ação para promoção de analgesia amplamente descritos (CORRÊA *et al.*, 2016). O efeito antinociceptivo da TENS é mediado por vias opioiédrgica (SLUKA *et al.*, 1999; KALRA; URBAN; SLUKA, 2001), adrenérgica (RADHAKRISHNAN *et al.*, 2003; KING *et al.*, 2005), serotoninérgica (RADHAKRISHNAN *et al.*, 2003) e colinérgica (RADHAKRISHNAN; SLUKA, 2003). Além

disso, a TENS reduz a liberação espinal de neurotransmissores excitatórios, glutamato e aspartato (SLUKA; VANCE; LISI, 2005) e aumenta a liberação de serotonina na medula espinal em animais com inflamação articular (SLUKA; LISI; WESTLUND, 2006).

Até o momento, poucos estudos pré-clínicos foram realizados para analisar o efeito da CI no tratamento de condições dolorosas. Esses estudos apontaram antinocicepção com o uso dessa corrente (JORGE *et al.*, 2006; DESANTANA *et al.*, 2011; CRUZ, 2014, 2019). No que se refere à investigação dos mecanismos, alguns experimentos *in vitro* foram desenvolvidos objetivando conhecer algumas ações dessa corrente em promielócitos humanos diferenciados em monócitos/macrófagos, mostrando que a aplicação da CI reduziu a liberação de IL-8 (interleucina-8), aumentou a liberação de IL-1 β (interleucina-1 beta) e promoveu aumento ou redução de TNF α (fator de necrose tumoral alfa), alterações dependentes da frequência de modulação da corrente (SONTAG, 2000). A CI promoveu, ainda, aumento ou redução nas concentrações de AMPc (adenosina monofosfato cíclico) intracelular e redução do GMPc (guanosina monofosfato cíclico) intracelular, a depender da frequência de estimulação utilizada (SONTAG; DERTINGER, 1998; SONTAG, 2004).

O processamento normal da dor envolve a atuação de vias neurais ascendentes, que conduzem impulsos sensoriais à região supraespinal em resposta a ativação de nociceptores e de vias descendentes, que modulam a entrada sensorial para o encéfalo. As vias descendentes incluem, por exemplo, as vias opioidérgica e monoaminérgicas (noradrenérgica, serotoninérgica e dopaminérgica) (LI; ZHUO, 2001; D'MELLO; DICKENSON, 2008; BRADLEY, 2009). Quanto à investigação de mecanismos analgésicos da CI envolvendo receptores de vias inibitórias da dor, um estudo mostrou que a antinocicepção promovida pela CI num modelo de artrite induzido por carragenina e caolina não é mediada por receptores opióides mu e delta em regiões espinais e supraespinais (CRUZ, 2014). O tratamento com essa corrente também não promove o aumento de betaendorfinas no plasma (BEATTI; CABOT; CHIPCHASE, 2012). O efeito anti-hiperalgésico da CI foi associado a ativação de receptores α_2 -adrenérgicos e da via do óxido nítrico, informações obtidas por administração sistêmica de antagonistas (CRUZ, 2019).

Apesar das propostas traçadas e dos estudos realizados, o mecanismo pelo qual a CI promove alívio da dor precisa de ampla investigação (JOHNSON; TABASAM, 2003; CRUZ, 2019). Para exploração dos mecanismos de ação, torna-se relevante a realização de estudos pré-clínicos com animais, a fim de controlar a extensão da lesão, além de realizar medidas objetivas de nocicepção (SLUKA *et al.*, 1998).

No presente estudo foi utilizado o modelo animal de inflamação articular obtido por injeção de solução de carragenina e caolina. Esse modelo foi selecionado por mimetizar alterações neuronais e comportamentais que ocorrem em humanos com artrite e outras condições inflamatórias, o que permite translacionar informações para o contexto clínico, consideradas as limitações de translação de estudos animais para o tratamento de humanos (SLUKA; WESTLUND, 1993). Além disso, esse é um modelo comumente utilizado para avaliação de mecanismos de ação de recursos eletroterapêuticos como a TENS (RADHAKRISHNAN *et al.*, 2003; RADHAKRISHNAN; SLUKA, 2003; HINGNE; SLUKA, 2008; DESANTANA *et al.*, 2009; DESANTANA; SILVA; SLUKA, 2010).

Nesse contexto, a hipótese da presente pesquisa é que o efeito antinociceptivo promovido pela CI em um modelo pré-clínico de inflamação articular é mediado pela ativação de receptores noradrenérgicos e serotoninérgicos. A partir da realização desse estudo, será possível elucidar parte do mecanismo de ação da CI para geração do seu efeito antinociceptivo, permitindo aos profissionais de saúde, justificar a indicação desse recurso eletroterapêutico, considerando as particularidades fisiopatológicas de cada indivíduo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Dor

Segundo a Associação Internacional Para o Estudo da Dor (IASP), a dor é uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a dano real ou potencial de tecidos ou descrita em termos de tal dano (IASP, 2010; KUNER, 2010). A dor crônica é definida pela IASP como dor persistente além do tempo normal para cicatrização de tecidos, ou seja, tempo superior a três meses. É reconhecida como um problema de saúde pública que traz impacto à economia dos países, assim como à qualidade de vida do indivíduo, levando em consideração o seu significativo poder incapacitante e o sofrimento psicológico que provoca (JOHANNES *et al.*, 2010; AZEVEDO *et al.*, 2012).

Caracteriza-se, ainda, por ser uma resposta anormal e não protetora. Estima-se que cerca de 14% da população dos Estados Unidos da América sofra de dor crônica muscular generalizada (DESANTANA; SLUKA, 2008). Na Europa, identificou-se prevalência de dor crônica em 19% da população de adultos (BREIVIK *et al.*, 2006).

O processamento normal da dor é uma atividade complexa que envolve a ação de vias neurais ascendentes, capazes de detectar estímulos dolorosos e transmiti-los ao sistema nervoso central (SNC), processamento supraespinal dessas informações que pode ser influenciado por atividade cognitiva, além de vias descendentes que se projetam para a medula espinal com ação inibitória ou facilitatória da dor (D'MELLO; DICKENSON, 2008; NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2009).

Os nociceptores, componentes do sistema nervoso periférico (SNP), são terminações nervosas livres capazes de detectar estímulos térmicos, mecânicos ou químicos dolorosos e transformá-los em estímulos elétricos que são conduzidos por axônios até a medula espinal. Grande parte dos nociceptores está associado às fibras aferentes primárias do tipo C, amielinizadas, e, portanto, responsáveis por condução mais lenta do estímulo à região da medula. Uma outra população de fibras nociceptivas são as do tipo A delta, mielinizadas, responsáveis pela condução rápida do estímulo. Os terminais das fibras aferentes primárias fazem sinapse no corno dorsal da medula, em geral, nas lâminas 1 e 2 e mais raramente nas lâminas 3 e 4, onde liberam neurotransmissores excitatórios, principalmente glutamato, permitindo a condução excitatória em direção à região supraespinal (D'MELLO;

DICKENSON, 2008; NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2009; RUSSELL; LARSON, 2009; BRADLEY, 2009).

Ao entrar na medula espinal, os sinais dolorosos tomam duas vias para o encéfalo, pelos tratos neoespinotalâmico e paleoespinotalâmico. Neurônios de saída da medula espinal, também chamados de neurônios de segunda ordem, cruzam imediatamente para o lado oposto da medula espinal pela comissura anterior e depois ascendem para o encéfalo nas colunas anterolaterais. Algumas fibras do trato neoespinotalâmico terminam nas áreas reticulares do tronco cerebral, mas a maioria segue até o tálamo sem interrupções. As fibras do trato paleoespinotalâmico fazem sinapse com regiões do tronco cerebral, e daí, neurônios seguem para núcleos talâmicos. A partir do tálamo, neurônios se projetam para várias regiões corticais envolvidas no processamento da dor, como córtex somatossensorial, córtex cingulado anterior e córtex frontal (D'MELLO; DICKENSON, 2008; NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2009; RUSSELL; LARSON, 2009; BRADLEY, 2009).

O processamento nociceptivo na região do córtex cerebral permite identificar a localização e intensidade da dor. Vias paralelas se projetam para o sistema límbico onde os componentes afetivos da dor são produzidos (BANNISTER; DICKENSON, 2016). A entrada sensorial para o encéfalo pode ser alterada por vias descendentes inibitórias ou facilitatórias que se projetam para a medula espinal, como a via opioideérgica e as vias monoaminérgicas (noradrenérgica, serotoninérgica e dopaminérgica) (LI; ZHUO, 2001; WATKINS; MILLIGAN; MAIER, 2001; RUSSELL; LARSON, 2009; BRADLEY, 2009; ROSENBERG; CARROLL; NEGUS, 2013).

A patogênese da dor crônica não está totalmente esclarecida. Acredita-se que os mecanismos fisiopatológicos envolvam neuroplasticidade e disfunções no SNP e no SNC. (DESANTANA; SLUKA, 2008; KUNER, 2010; KWON *et al.*, 2014). Na periferia, ocorre sensibilização periférica, caracterizada por redução do limiar nociceptivo em resposta a presença de agentes sensibilizantes (como por exemplo, mediadores do processo inflamatório). No SNC, ocorre sensibilização central, descrita como redução do limiar nociceptivo resultante de um desequilíbrio entre estímulos excitatórios e inibitórios (DESANTANA; SLUKA, 2008; KUNER, 2010; KWON *et al.*, 2014).

No que se refere ao manejo da dor crônica, podem ser elencados dois tipos de tratamento, farmacológico e não farmacológico (BOLDT *et al.*, 2014). O tratamento farmacológico inclui uso de opióides e inibidores da recaptação de monoaminas (KWON *et al.*, 2014). A utilização de opióides por tempo prolongado, no entanto, diminui sua efetividade devido ao desenvolvimento de tolerância, amplia o risco de uso abusivo decorrente de

dependência química, além de aumentar as chances de hiperalgesia induzida por opioides, ressaltando, assim, a relevância do uso de terapias não farmacológicas para tratamento de condições dolorosas (VOON; KARAMOUZIAN; KERR, 2017).

As terapias não farmacológicas mostram eficácia similar ou superior ao uso de medicamentos no controle da dor e na reabilitação funcional de pacientes com doenças reumáticas (BORENSTEIN; HASSETT; PISETSKY, 2017). As terapias utilizadas para o tratamento de dor crônica incluem terapia cognitivo comportamental (ARCHER *et al.*, 2016; KNOERL; SMITH; WEISBERG, 2016), atividade física (AMBROSE; GOLIGHTLY, 2015; GENEEN *et al.*, 2017), meditação (ZGIERSKA *et al.*, 2016; BALL *et al.*, 2017; HILTON *et al.*, 2017) e diversos métodos de eletroterapia, como a TENS (DAILEY *et al.*, 2013; VANCE *et al.*, 2012; DESANTANA; SLUKA, 2008), eletroacupuntura (ZHANG *et al.*, 2014; ZHANG *et al.*, 2018; CHAI *et al.*, 2018), estimulação elétrica transcraniana (NAEGEL *et al.*, 2018; SILVA-FILHO *et al.*, 2018) e corrente interferencial (JARIT *et al.*, 2003; WALKER *et al.*, 2006; TUGAY *et al.*, 2007; ALBORNOZ-CABELLO *et al.*, 2017).

2.2 Modulação da dor pelas vias noradrenérgica e serotoninérgica

A facilitação ou a inibição da transmissão nociceptiva por vias descendentes ocorre através da interação de estruturas supraespinais com elementos do corno dorsal da medula, como terminais das fibras aferentes primárias, projeções neuronais, interneurônios inibitórios e terminais de outras vias descendentes (FIELDS; BASBAUM, 1999; YAKSH, 1999; MILLAN, 1999). Uma mesma via descendente pode promover inibição ou facilitação da entrada de impulsos nociceptivos na região supraespinal. Anatomicamente, não existe diferença estrutural nos locais de origem de uma via inibitória ou facilitatória, embora os mecanismos pelos quais as vias atuem para geração de um ou outro efeito sejam diferentes (MILLAN, 2002).

Estruturas supraespinais de grande relevância no contexto da modulação nociceptiva são a substância cinzenta periaquedutal (PAG) e a região rostroventromedial do bulbo (RVM) (DESANTANA *et al.*, 2009; DE FELICE; OSSIPOV, 2016; BRITO; RASMUSSEN; SLUKA, 2017). A PAG está idealmente localizada para modular a entrada nociceptiva por interagir com projeções ascendentes, como, por exemplo, vindas do córtex cerebral e tálamo, além de interagir com vias descendentes, especialmente o RVM (MILLAN, 1999; ODEH; ANTAL, 2001; OSSIPOV; MORIMURA; PORRECA, 2014).

O RVM é considerado a porção final comum descendente de modulação da dor (HEINRICHER *et al.*, 2009; OSSIPOV; MORIMURA; PORRECA, 2014; DE FELICE;

OSSIPOV, 2016), suas projeções via funículo dorsolateral para o corno dorsal da medula, associado às suas conexões sinápticas com aferentes primários, neurônios de projeção e interneurônios, conferem sua participação na entrada nociceptiva para a região encefálica (ABOLS; BASBAUM, 1981; GLAZER; BASBAUM, 1981; DE FELICE; OSSIPOV, 2016).

Monoaminas como a noradrenalina e a serotonina, são neurotransmissores envolvidos na via descendente modulatória da dor (BANNISTER; DICKENSON, 2016). Neurônios noradrenérgicos e serotoninérgicos saem da região supraespinal e projetam-se para a medula, onde liberam noradrenalina e serotonina, respectivamente. Esses neurotransmissores têm ação anti ou pró-nociceptiva a depender do receptor que ativam. A ação antinociceptiva é consolidada através da ativação de interneurônios inibitórios gabaérgicos e encefalinérgicos e/ou inibição da liberação de neurotransmissores excitatórios por terminais de fibras aferentes primárias e neurônios de projeção. A ação pró-nociceptiva, por sua vez, é efetivada por inibição de interneurônios inibitórios e/ou estimulação da liberação de neurotransmissores excitatórios (figuras 1 e 2) (MILLAN, 2002).

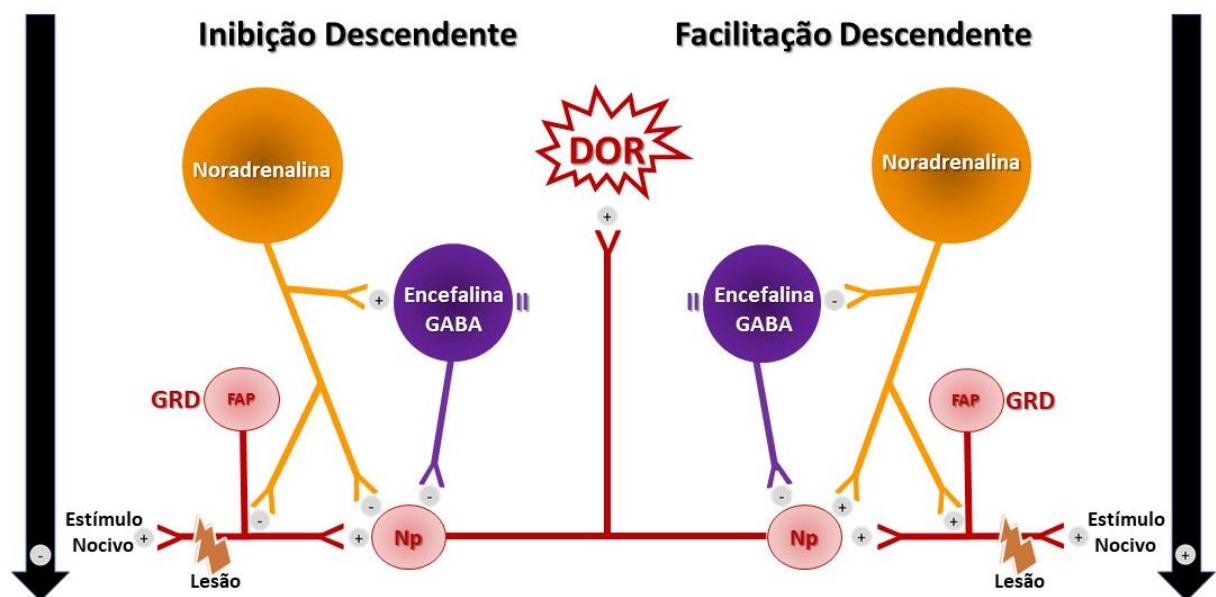


Figura 1. Modulação descendente inibitória e facilitatória da via noradrenérgica. GRD: gânglios da raiz dorsal. II: interneurônios inibitórios. GABA: ácido gama-aminobutírico. FAP: fibras aferentes primárias. Np: neurônios de projeção (Arquivo LAPENE).

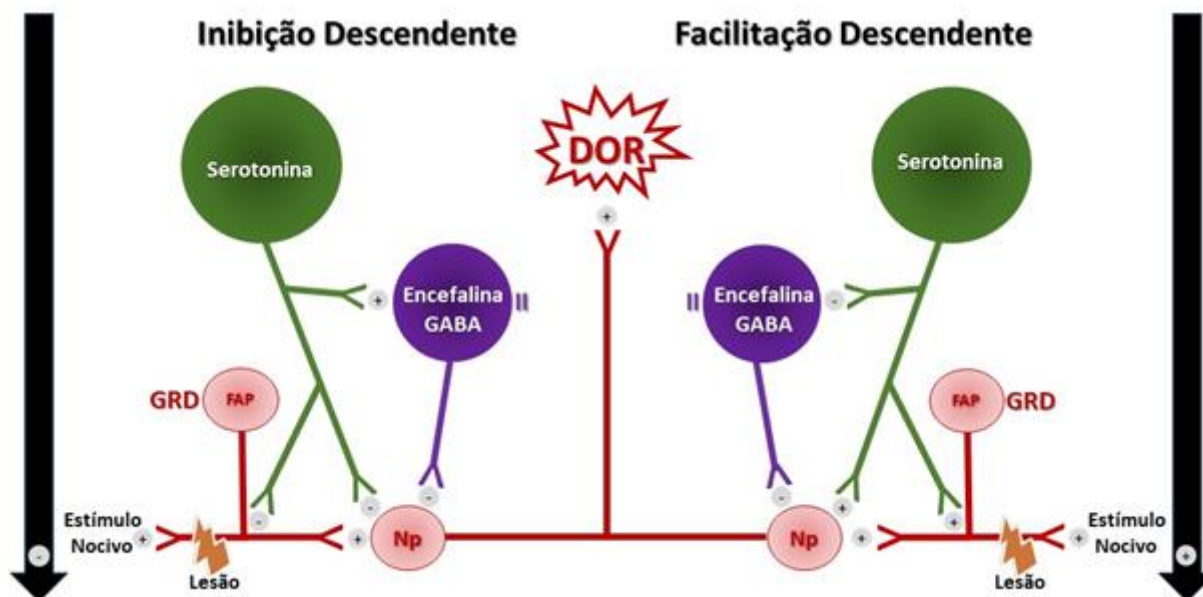


Figura 2. Modulação descendente inibitória e facilitatória da via serotoninérgica. GRD: gânglios da raiz dorsal. II: interneurônios inibitórios. GABA: ácido gama-aminobutírico. FAP: fibras aferentes primárias. Np: neurônios de projeção (Arquivo LAPENE).

As projeções noradrenérgicas têm origem nos grupos celulares A5, A6 (locus ceruleus) e A7 da ponte no tronco cerebral. Esses grupos celulares comunicam-se com a PAG e o RVM, de onde se projetam para o corno dorsal da medula (PERTOVAARA, 2006; OSSIPOV; MORIMURA; PORRECA, 2014; BANNISTER; DICKENSON, 2016). Todas as lâminas do corno dorsal da medula envolvidas no processamento nociceptivo (lâminas I / II, IV / V e X) recebem projeções de neurônios noradrenérgicos, o que permite a ativação de adrenoceptores expressos na medula espinal (MILLAN, 2002; OSSIPOV; MORIMURA; PORRECA, 2014; BANNISTER; DICKENSON, 2016). Três classes principais de adrenoceptores podem ser identificadas, a saber α_1 , α_2 e β (MILLAN, 2002).

Uma revisão aponta que diversos estudos em animais mostram antinocicepção induzida por administração de norepinefrina na medula espinal, efeito mediado pela ativação de receptores α_2 -adrenérgicos (PERTOVAARA, 2006). Atividade semelhante pode ser observada com administração intratecal de agonistas α_2 -adrenérgicos em animais e em humanos (EISENACH *et al.*, 1995; EISENACH; HOOD; CURRY, 1998; WEI; PERTOVAARA, 2006).

Ao contrário dos receptores α_2 -adrenérgicos, os receptores α_1 -adrenérgicos são menos discutidos quanto à participação no processamento nociceptivo. Uma revisão aponta, inclusive, resultados contraditórios quanto à sua participação (MILLAN, 2002). Um estudo que utilizou injeção de antagonistas via intratecal mostrou que os α_1 -adrenoceptores promovem facilitação da dor (HOLDEN; SCHWARTZ; PROUDFIT, 1999). Em contrapartida, outro autor

sugere que esses adrenorreceptores promovem antinocicepção por ativarem interneurônios GABAérgicos (BABA *et al.*, 2000).

Os α_1 -adrenorreceptores são receptores acoplados à proteína Gq, portanto, o seu efeito biológico é dependente da ativação de uma cascata de mensageiros intracelulares, envolvendo ativação da fosfolipase C, síntese de inositol trifosfato (IP3) e diacilglicerol (DAG), indução da liberação de cálcio intracelular e ativação de proteína quinase C (PKC) (PIASCIK; PEREZ, 2001; MILLAN, 2002). Os α_2 -adrenorreceptores, por sua vez, são receptores acoplados à proteína Gi, cuja ação biológica é dependente da inibição da atividade da adenilil ciclase e, portanto, da redução do AMPc intracelular (RUFFOLO *et al.*, 1993; KUKKONEN; JANSSEN; AKERMAN, 2001; MILLAN, 2002).

A serotonina ou 5-hidroxitriptamina (5-HT) é um hormônio que está envolvido não somente na modulação nociceptiva como também em diversas funções fisiológicas, as quais estão diretamente relacionadas à grande variedade de receptores e localização difusa no SNC e fora dele (MCCORVY; ROTH, 2015).

Na região supraespinal, os neurônios serotoninérgicos estão localizados predominantemente no tronco cerebral, especificamente nos núcleos da rafe, de onde se projetam para diversas regiões cerebrais, cerebelo e medula espinal (HEDLUND; SUTCLIFFE, 2004). No SNC, além da nocicepção, a serotonina está envolvida na modulação dos ciclos de sono-vigília, do apetite, do humor, da memória, da respiração, da êmese, da cognição, entre outros (RAY *et al.*, 2011).

Fora do SNC, seus receptores são predominantemente expressos no trato gastrointestinal e têm papel relevante na promoção do peristaltismo (GERSHON *et al.*, 1990). Existem sete tipos de receptores de serotonina (5-HT₁ a 5-HT₇), divididos em 14 subtipos. Desses, 13 são receptores acoplados à proteína G, enquanto o 5-HT₃ é um canal iônico ativado por ligante (NICHOLS; NICHOLS, 2008; BERGER; GRAY; ROTH, 2009; MCCORVY; ROTH, 2015).

Conforme mencionado, a serotonina atua tanto na facilitação como na inibição do processamento nociceptivo, dependendo do tipo de receptor envolvido e localização do receptor (BARDIN; LAVARENNE; ESCHALIER, 2000; MILLAN, 2002; DOGRUL; OSSIPOV; PORRECA, 2009). No SNP, está bem estabelecido seu papel pró-nociceptivo (MILLAN, 2002). Contudo, o papel exato de receptores localizados na medula espinal não está totalmente elucidado, suscitando inclusive divergências na literatura quanto a sua função pró e antinociceptiva (DOGRUL; OSSIPOV; PORRECA, 2009). Estudos mostram a presença de,

pelo menos, quatro tipos de receptores de serotonina na medula espinal (5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃ e 5-HT₇) envolvidos no processamento nociceptivo (CORTES-ALTAMIRANO *et al.*, 2018).

Os receptores da família 5-HT₁ (5-HT_{1A} a 5-HT_{1F}) são acoplados à proteína Gi e estão distribuídos por toda a medula espinal. De todos os receptores de serotonina, o 5-HT₁ é a principal classe encontrada no corno dorsal da medula e está envolvido na modulação da dor (CORTES-ALTAMIRANO *et al.*, 2018).

Um número expressivo de estudos mostra que o 5-HT_{1A}, um subtipo de receptor, medeia ações antinociceptivas (BARDIN *et al.*, 2001; HAINS; WILLIS; HULSEBOSCH, 2003; BONNEFONT *et al.*, 2005; COLPAERT, 2006; MICO *et al.*, 2006; WEI; PERTOVAARA, 2006; JEONG; MITCHELL; VAUGHAN, 2012). Embora haja outros autores que contrariem essa ideia (BARDIN; LAVARENNE; ESCHALIER, 2000; ZHANG *et al.*, 2001). Este subtipo de receptor é o mais amplamente estudado no controle descendente da dor (CORTES-ALTAMIRANO *et al.*, 2018) e está presente em fibras aferentes primárias, na medula rostroventromedial, bem como no corno dorsal da medula, com maior expressão nas lâminas I e II (ZEMLAN; BEHBEHANI; MURPHY, 1988; MARLIER *et al.*, 1991; LAPORTE *et al.*, 1995).

O subtipo de receptor 5-HT_{1B} também apresenta divergências na literatura quanto ao seu papel na modulação da dor, sendo apontado por ter efeitos antinociceptivos (ALI *et al.*, 1994), pró-nociceptivos (ZHANG *et al.*, 2001) ou duplo efeito, pró e antinociceptivo (GJERSTAD; TJOLSEN; HOLE, 1997). A ativação desses receptores promove inibição da liberação de substância P (SP) e peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), substâncias implicadas no quadro de vasodilatação e inflamação neurogênica típica da enxaqueca (MILLAN, 2002). Ações semelhantes as do receptor 5-HT_{1B}, inclusive na participação da fisiopatologia da enxaqueca, podem ser vistas com a ativação dos receptores 5-HT_{1D} (MA, 2001; MA; HILL; SIRINATHSINGHJI, 2001; MILLAN, 2002) e 5-HT_{1F} (MITSIKOSTAS; SANCHEZ DEL RIO, 2001; MILLAN, 2002).

Os receptores da família 5-HT₂ (5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT_{2C}) são receptores acoplados à proteína G_q (NICHOLS; NICHOLS, 2008; MCCORVY; ROTH, 2015). Estudos baseados na administração de agonistas e antagonistas por via intratecal apontam efeito antinociceptivo mediado por esses receptores (SASAKI *et al.*, 2001; OBATA *et al.*, 2004). Um dos subtipos de receptores 5-HT₂ mais amplamente estudado é o receptor 5-HT_{2A}. Ele está distribuído em toda a medula espinal, com localização mais densa nas lâminas I e II do corno dorsal da medula e lâmina IX do corno anterior. Nessas regiões, esses receptores têm maior expressão pós-sináptica (DOLY *et al.*, 2004).

Um estudo mostra que, no SNC, o receptor 5-HT_{2A} está envolvido no efeito antinociceptivo do tramadol (XIE *et al.*, 2008). Esse fármaco é um analgésico agonista de receptores opióides que promove efeito antinociceptivo não somente pelo sistema opioidérgico, mas também por estimulação paralela da via serotoninérgica (XIE *et al.*, 2008). O tramadol reduziu a hiperalgesia térmica em animais com inflamação articular induzida por injeção de completo adjuvante de Freund, esse efeito foi bloqueado parcialmente pela injeção de antagonista 5-HT_{2A} (XIE *et al.*, 2008).

Na periferia, porém, pesquisas apontam que a facilitação nociceptiva promovida pela serotonina é mediada por receptores 5-HT_{2A} em modelo animal de hiperalgesia por lesão térmica na pata (SASAKI, MASAYUKI *et al.*, 2006), hiperalgesia plantar por administração direta de agonistas de receptores de serotonina (ABBOTT; HONG; BLIER, 1996) e modelo de dor orofacial (OKAMOTO *et al.*, 2005).

Os receptores da família 5-HT₃ se diferenciam dos demais receptores de serotonina por serem canais iônicos ativados por ligantes (NICHOLS; NICHOLS, 2008; MCCORVY; ROTH, 2015; CORTES-ALTAMIRANO *et al.*, 2018). A ligação do agonista a esse receptor promove despolarização neuronal, que, por sua vez, indiretamente, regula a função de canais iônicos no local e liberação de neurotransmissores (CORTES-ALTAMIRANO *et al.*, 2018). Receptores 5-HT₃ são encontrados no isocortex, formação hipocampal, amígdala cerebral, tronco cerebral (especificamente nos núcleos da formação reticular) e no corno dorsal e ventral da medula espinal (MORALES *et al.*, 1996; ASANTE; DICKENSON, 2010).

A administração de agonista 5-HT₃ por via intratecal reduz a transmissão nociceptiva em resposta a estímulo químico inflamatório (SASAKI *et al.*, 2001). Uma revisão de literatura mostra que outras evidências baseadas na administração de agonistas e antagonistas via intratecal em modelos animais mostram efeito antinociceptivo associado à ativação desse receptor (CORTES-ALTAMIRANO *et al.*, 2018). Da mesma forma que outros tipos de receptores de serotonina, há na literatura controvérsias em relação a seu potencial antinociceptivo, como pode ser visto nos resultados de um estudo que objetivou avaliar o papel de receptores 5-HT₃ espinais na modulação nociceptiva, nesse estudo, o bloqueio desses receptores reduziu a hiperalgesia em modelo animal de inflamação na pata (RAHMAN *et al.*, 2004).

2.3 Modelos animais de dor

O uso de modelos animais é uma ferramenta de grande relevância para estudos mecanísticos e triagem de novos medicamentos e terapias. No contexto da investigação nociceptiva, o uso de modelos pré-clínicos com animais permitem controlar a extensão da lesão, além de realizar medidas objetivas de nocicepção (SLUKA *et al.*, 1998). Na presente pesquisa foi utilizado o modelo de inflamação articular no joelho esquerdo obtido por injeção de uma solução de carragenina 3% e caolina 3%, assim como utilizado em experimentos anteriores que objetivaram avaliar os efeitos da CI (CRUZ, 2014, 2019) e da TENS (RADHAKRISHNAN *et al.*, 2003; RADHAKRISHNAN; SLUKA, 2003; HINGNE; SLUKA, 2008; DESANTANA *et al.*, 2009; DESANTANA; SILVA; SLUKA, 2010).

O modelo pré-clínico de inflamação articular induzido por injeção de carragenina e caolina é caracterizado por edema, claudicação e recolhimento do membro, fornecendo informações relevantes para alterações neuronais e comportamentais que ocorrem em humanos com artrite e com outras condições inflamatórias (SLUKA; WESTLUND, 1993).

Um estudo que objetivou caracterizar o comportamento e liberação de neurotransmissores excitatórios nesse modelo mostrou que, após quatro horas da injeção articular, o quadro hiperalgésico pôde ser identificado pelo teste de latência de retirada da pata. Após 48h até uma semana de avaliação, o quadro de hiperalgesia térmica havia cessado. Por meio de imuno-histoquímica, foi visto, ainda, que quatro horas após a administração da solução houve aumento de glutamato no corno dorsal da medula, que se manteve após 24 h e retornou aos níveis basais após 48 h. Houve também aumento na liberação de SP e de CGRP após 8 h da injeção que se mantiveram elevados durante uma semana (SLUKA; WESTLUND, 1993).

No SNP, esse modelo apresenta um quadro de sensibilização periférica, evidenciada por aumento da descarga de repouso, aumento da responsividade aos estímulos mecânicos e movimentação articular, além de descargas espontâneas de neurônios previamente silenciosos, informações obtidas por registro da atividade elétrica de aferentes no nervo articular medial de gatos induzidos com inflamação articular (COGGESHALL *et al.*, 1983; NEUGEBAUER; SCHAIBLE, 1988; SCHAIBLE; SCHMIDT, 1988). Autores afirmaram, ainda, que após cerca de 4 h da injeção da solução na articulação de gatos, o edema é significativo e o exame histológico revela todos os sinais de artrite aguda com infiltração celular acentuada, porém, dados quanto aos tipos celulares envolvidos na migração não foram descritos (COGGESHALL *et al.*, 1983).

2.4 História da eletroterapia

A descoberta da eletroterapia e seu uso para tratamento de condições dolorosas ocorreram concomitantemente, com registros datados desde a antiguidade. O contato com peixes elétricos para tratamento da dor foi utilizado por um longo período. Há indícios do uso de peixes-gato do rio Nilo por antigos egípcios para tratamento de condições dolorosas em 2750 a.c., seguido de uso de peixes torpedo por Hipócrates em 420 a.c. (ROSSI, 2003). Em 47 anos d.c., Scribonius Largus, médico da corte do imperador romano Cláudio, prescrevia o uso da eletroterapia com peixes torpedo para fins analgésicos. Em seus relatos, o médico afirmou que o contato com peixes elétricos reduziu a dor promovida pela gota em um indivíduo que teve contato acidentalmente com um peixe torpedo (STILLINGS, 1975).

No século XVI, foi descrito que a eletroterapia com peixes elétricos era eficaz no tratamento de cefaleia crônica, cefaleia unilateral e vertigem (KUHN, 1946; SCHECHTER, 1971; STILLINGS, 1975). A partir do século XVII, a terapia por eletricidade natural foi sendo substituída por eletricidade artificial gerada por dispositivos criados pelo homem, permitindo, assim, que o tratamento da dor não estivesse limitado ao uso de organismos vivos (MACDONALD, 1993). Em 1672, foi datada a primeira produção artificial de eletricidade com a criação da bola de enxofre eletrostática de Otto Von Guericke (STILLINGS, 1975).

Foi proposto que a história da eletroterapia pode ser dividida em quatro fases que se configuraram como marcos históricos na sua evolução (TURRELL, 1969). A primeira fase é denominada Frankilnismo, a qual está fundamentada na aplicação da eletricidade estática ou atmosférica. Esse tipo de eletricidade era gerada por máquinas de atrito que induziam choques súbitos e faíscas, gerando assim, uma eletricidade caracterizada por alta tensão e baixas correntes, semelhante ao que foi realizado por Otto Von Guericke com a criação da bola de enxofre (TURRELL, 1969; STILLINGS, 1975; HEIDLAND *et al.*, 2013).

O armazenamento da corrente elétrica foi possível graças à criação do condensador de Leiden (precursor do capacitor elétrico). O primeiro uso da eletricidade estática com fins terapêuticos na Europa ocorreu em 1744 pelo médico Christian Kratzenstein. Em 1752, o cientista Benjamin Franklin criou o quadrado mágico, uma forma simples de condensador capaz de gerar choques fortes para tratamento de uma variedade de doenças. Nos anos seguintes, foram criadas máquinas de grande porte que não sofressem alterações de acordo com as condições meteorológicas (MACDONALD, 1993; HEIDLAND *et al.*, 2013).

A segunda fase da evolução histórica da eletroterapia é denominada de galvanismo (1800), essa fase permitiu o contato direto da eletricidade dinâmica ao longo dos nervos, sem a geração de choques ou faíscas (MACDONALD, 1993). A introdução do galvanismo foi precedida pela descoberta de Galvani (1780), mostrando que um sapo com as pernas cortadas conseguiu chutar quando estimulado por correntes elétricas. Foi no período do galvanismo que foi criada a pilha voltaica, utilizada na época para o tratamento de diversas doenças, incluindo a depressão (STILLINGS, 1975).

A origem da eletroacupuntura também se deu nesse período, quando os médicos franceses Hector Berlioz e Jean Baptiste Sanladière propuseram que o efeito do galvanismo poderia ser potencializado com o uso da acupuntura (método clássico chinês) (STILLINGS, 1975). É necessário ressaltar, porém, que o galvanismo não era livre de efeitos colaterais, seu uso prolongado tinha potencial de levar a necrose tecidual. O conhecimento desse efeito colateral permitiu o uso da corrente para tratamento de tumores superficiais (HEIDLAND *et al.*, 2013).

O faradismo foi considerado como a terceira fase da evolução histórica da eletroterapia. Michael Faraday, cientista britânico, em 1832, descobriu que o fluxo de eletricidade podia ser induzido de forma intermitente e em direções alternadas. Tal descoberta impediu a ocorrência de danos teciduais (MACDONALD, 1993; DOLHEM, 2008). O mais importante promotor do faradismo no século 19 foi o físico francês Guillaume Duchenne (pai da eletroterapia), que empregou o uso dessa corrente na estimulação muscular e afirmou que o faradismo é a melhor forma de eletroterapia a ser utilizada para estimulação muscular de forma frequente e por período prolongado (HEIDLAND *et al.*, 2013).

A quarta fase se refere às descobertas das correntes de alta frequência pelo físico francês Jacques Arsène d'Arsonval em 1888. Jacques observou redução da excitabilidade muscular com uso de correntes acima de 5000 Hz (TURRELL, 1969).

O século XIX foi conhecido como “a idade do ouro” para a eletroterapia, pois foi o momento das mais importantes descobertas e da grande utilização desse tipo de terapia em diversas condições patológicas como perturbações dentárias, neurológicas, psiquiátricas e ginecológicas (HEIDLAND *et al.*, 2013). Contudo, no início do século XX, deu-se início à chamada “era farmacológica” e, com ela, surgiram os analgésicos potentes, reduzindo, assim, o interesse do estudo das terapias elétricas (SLAVIN, 2011; HEIDLAND *et al.*, 2013).

Somente no final do século XX, as bases científicas da eletroterapia começaram a ser elucidadas, o que atribuiu maior credibilidade à sua utilização racional para o tratamento de diversas doenças, em contraponto ao que era proposto por curandeiros e charlatões, que

contribuíram para a redução do interesse nessa modalidade terapêutica (MELZACK; WALL, 1965; SLAVIN, 2011; HEIDLAND *et al.*, 2013).

A teoria que se constituiu como uma das maiores contribuições para o desenvolvimento da eletroterapia é a Teoria do Portão, desenvolvida por Melzack e Wall em 1965 (MELZACK; WALL, 1965; SLUKA; WALSH, 2003; SLAVIN, 2011). Em sua teoria, eles afirmaram que estímulos inócuos responsáveis por ativar fibras de grande diâmetro (mecanorreceptores) eram capazes de suprimir a transmissão nociceptiva evocada na substância gelatinosa do corno dorsal da medula. Além desse mecanismo de inibição segmentar da dor, esses autores propuseram que a ação de vias descendentes inibitórias sob neurônios espinais poderiam estar envolvidas na inibição dolorosa (MELZACK; WALL, 1965; SLUKA; WALSH, 2003; SLAVIN, 2011; HEIDLAND *et al.*, 2013; KUMAR; RIZVI, 2014).

A eletroterapia foi mais aceita pela comunidade médica quando, em 1967, Wall e Sweet publicaram um estudo mostrando clinicamente que a estimulação elétrica não dolorosa de um nervo periférico promovia redução da dor na sua área de inervação (WALL; SWEET, 1967; SLUKA; WALSH, 2003; SLAVIN, 2011).

Atualmente, já são conhecidos diversos mecanismos envolvidos na ação inibitória da dor promovida por correntes elétricas. O desafio está em conhecer mecanismos específicos de cada tipo de corrente para adequada indicação terapêutica, além da execução de ensaios clínicos randomizados que provem a sua eficácia enquanto terapia analgésica (WATSON, 2000; SLUKA; WALSH, 2003).

2.5 Conceitos básicos e efeitos biológicos das correntes elétricas

A base para a ocorrência de um fenômeno elétrico é a carga elétrica e seu comportamento dentro de um campo elétrico (JUNIOR, 2005). As partículas carregadas tendem a se mover na matéria quando há diferença de potencial elétrico. Para que os íons se movam, quando submetidos à voltagem, eles deverão estar livres (NELSON; HAYES; CURRIER, 2003; YOUNG; FREEDMAN, 2003). Os tecidos humanos permitem a movimentação dos íons pois eles permanecem livres, contudo, a capacidade de movimentação do íon dependerá das características do tecido. O músculo e o nervo são ótimos condutores, enquanto a pele e a gordura são condutores fracos (JUNIOR, 2005).

O fluxo ordenado de carga de um lugar para outro através da matéria é chamado de corrente. Íons ou elétrons livres são considerados carga. O fluxo organizado dessas cargas é dependente de fonte de elétrons livres e de íons, de material condutor e de força eletromotriz

(GUSSOW, 1985). A unidade de medida da corrente (I) é o ampère (A), definido como a taxa de passagem do fluxo de cargas por uma seção transversal de referência em um condutor. Na eletroestimulação em tecidos humanos são utilizadas correntes da ordem de miliampère (mA) ou microampère (μ A) (OKUNO, CALDAS, CHOW, 1982).

As correntes elétricas geradas por dispositivos utilizados na clínica podem ser de três tipos: correntes contínuas, correntes alternadas e correntes pulsadas. As correntes contínuas são caracterizadas por voltagem de magnitude fixa. Já as correntes alternadas, são caracterizadas por possuírem fluxo bidirecional contínuo ou ininterrupto de partículas carregadas, nesse tipo de corrente a voltagem oscila em magnitude. As correntes pulsadas, por sua vez, são caracterizadas pela entrega de pulsos únicos, definidos como eventos elétricos isolados com tempo finito para início do próximo evento (LOW, REED, 2001; HAAR, 2003; KITCHEN, 2003; OZCAN; WARD; ROBERTSON, 2004).

As correntes pulsadas e alternadas são caracterizadas por possuir frequência, termo que indica o número de pulsos/ciclos por unidade de tempo, expressa em Hertz (Hz) ou ciclos por segundo (cps) (ROBINSON; SNYDER-MACKLER, 2001; NELSON, HAYES; CURRIER, 2003).

Alguns conceitos relevantes devem ser esclarecidos quando se trata de correntes elétricas. Denomina-se resistência a capacidade de um material de resistir ao fluxo que passa por ele; cada material possui suas capacidades de resistência características (YOUNG; FREEDMAN, 2003). Contudo, quando se trata de estimulação elétrica clínica, torna-se ideal o uso do termo impedância, quando o objetivo for se referir à resistência à passagem da corrente promovida pelos tecidos. O termo impedância, além de levar em consideração a resistência tecidual, também considera sua capacitância (capacidade do tecido de armazenar carga) (ROBINSON; SNYDER-MACKLER, 2001; NELSON; HAYES; CURRIER, 2003).

Todas as células do corpo humano são eletricamente carregadas. No estado de repouso, as células mantêm-se carregadas negativamente em seu interior e positivamente na face extracelular. O potencial de membrana em repouso de uma grande variedade de células gira em torno de -70 mV, podendo chegar a -90 mV nos nervos (WATSON, 2000). Para que um estimulador elétrico externo promova a despolarização celular, é necessário que ele acumule cargas negativas no exterior da célula até que um limiar de excitabilidade seja atingido (WATSON, 2000).

A quantidade ideal de carga necessária dependerá da fração de carga que consegue atingir a membrana. Esse processo é influenciado por diversos fatores como quantidade de carga que é emitida pelo estimulador, tamanho do eletrodo, contato adequado com a pele e

impedâncias teciduais até atingir a membrana-alvo (HAAR, 2003; NELSON; HAYES; CURRIER, 2003). Ao atingir a membrana-alvo e promover alterações elétricas (despolarização ou hiperpolarização) ou químicas na célula, gera-se o efeito biológico da corrente (WATSON, 2000).

2.6 Corrente interferencial

O princípio da modulação da amplitude, que explica a geração da corrente interferencial, foi inicialmente descrito na literatura por seu inventor Hans Nemec, em 1959 (NEMEC, 1959; GANNE, 1976; MINDER *et al.*, 2002). A CI é caracterizada pelo uso de correntes de média frequência, gerando efeitos biológicos típicos de uma corrente de baixa frequência (WATSON, 2000).

Esse resultado é alcançado, pois, como sua própria nomenclatura direciona, a corrente interferencial é resultante da interferência/cruzamento de duas correntes de média frequência para geração de uma FAM com baixa frequência. Essas correntes são aplicadas continuamente a uma intensidade constante, porém, possuem frequências ligeiramente diferentes uma da outra. Na região de intersecção das duas correntes, é gerada uma onda de formato sinusoidal (figura 3) com frequência modulada resultante, também chamada de frequência de batida, que corresponde à diferença entre as duas correntes (WATSON, 2000; OZCAN; WARD; ROBERTSON, 2004; WARD, 2009).

Numa aplicação de correntes de frequência de 4100 Hz e 4000 Hz, a frequência de batida resultante responsável pela geração dos efeitos teciduais é de 100 Hz. O mesmo ocorre numa aplicação de correntes de frequência de 4050 Hz e 4000 Hz, que possui frequência de batida em 50 Hz (WARD, 2009; CRUZ, 2014).

A intensidade do estímulo resultante varia sistematicamente a partir de um máximo, quando dois picos ou depressões coincidem (interferência construtiva) ou amplitude zero, quando as correntes se anulam (interferência destrutiva) (figura 3) (MARTIN, 1996; JARIT *et al.*, 2003; OZCAN; WARD; ROBERTSON, 2004). Na clínica, as frequências de amplitude modulada comumente utilizadas para o tratamento de diversas condições, gira em torno de 1 a 150 Hz (MINDER *et al.*, 2002; ROBERTSON, 2006).

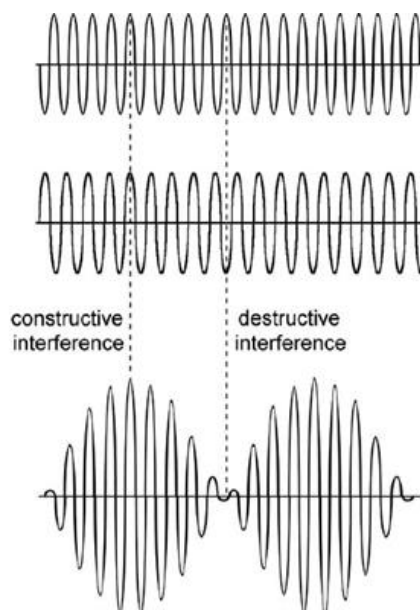


Figura 3. Corrente em formato de onda senoidal resultante da interferência de correntes de diferentes frequências (OZCAN; WARD; ROBERTSON, 2004).

A terapia interferencial é instituída transcutaneamente através de aplicação quadripolar (com quatro eletrodos) ou bipolar (com dois eletrodos). Na aplicação quadripolar, também conhecida como corrente interferencial “verdadeira”, as correntes de frequência diferentes são aplicadas na pele em dois circuitos isolados posicionados diagonalmente opostos. O cruzamento das correntes acontece dentro do tecido. Na aplicação bipolar, também conhecida como pré-modulada, a frequência de batida é gerada pela máquina e entregue diretamente ao indivíduo através dos eletrodos (DOUNAVI; CHESTERTON; SIM, 2012; OZCAN; WARD; ROBERTSON, 2004; WARD, 2009).

Embora na aplicação quadripolar a corrente gerada no tecido seja a diferença entre as duas correntes primárias que se cruzam, autores afirmam que nem todo o tecido sofrerá a mesma estimulação por corrente de amplitude modulada. Essa estimulação será influenciada pela posição das fibras nervosas, posicionamento dos eletrodos e impedância dos tecidos. Sendo assim, somente as regiões que estiverem idealmente anguladas entre os dois eixos dos eletrodos receberão a corrente modulada (TREFFENE, 1983; LAMBERT *et al.*, 1993; WARD, 2009).

Na aplicação da corrente pré-modulada, por sua vez, a estimulação é influenciada pela proximidade dos eletrodos às fibras nervosas. Fibras nervosas próximas recebem estímulos supralimiáres, enquanto as mais distantes recebem estímulos sublimiáres (WARD, 2009).

Alguns autores defendem a superioridade da corrente interferencial “verdadeira” em comparação com a pré-modulada (GOATS, 1990; LOW; REED, 2001). Entretanto, estudo prévio não mostra essa superioridade entre os dois tipos de aplicação em relação à profundidade de eficiência (limiar sensorial e motor) e conforto (OZCAN; WARD; ROBERTSON, 2004).

A grande maioria dos autores defendem que a CI, por ser uma corrente que utiliza médias frequências, tem o potencial de penetrar mais profundamente os tecidos por vencer a impedância da pele, além de ser mais confortável quando comparado a outros recursos eletroterapêuticos (NEMEC, 1959; CHEING; HUI-CHAN, 2003; JARIT *et al.*, 2003; JOHNSON; TABASAM, 2003; CORRÊA *et al.*, 2016; ALBORNOZ-CABELLO *et al.*, 2017; ALQUALO-COSTA *et al.*, 2018).

Na literatura científica, é possível identificar evidências da utilização da CI para o tratamento de diversas condições, sejam elas dolorosas ou não. A CI promove melhora da deglutição e defesa da via aérea em pacientes com disfagia (FURUTA *et al.*, 2012; MAEDA; KOGA; AKAGI, 2017), aumenta trânsito intestinal em pacientes com constipação (ZIVKOVIC *et al.*, 2017; MOORE; GIBSON; BURGELL, 2018; VITTON *et al.*, 2018), promove melhora aguda da espasticidade, equilíbrio e marcha de pacientes com acidente vascular cerebral (AVC) (SUH; HAN; CHO, 2014) e reduz incontinência urinária (MAUROY *et al.*, 2001; DEMIRTÜRK *et al.*, 2008; POSADZKI; ERNST, 2011).

Como terapia analgésica, a CI é utilizada no tratamento de dor lombar crônica (FACCI *et al.*, 2011; ALBORNOZ-CABELLO *et al.*, 2017; RAJFUR *et al.*, 2017; FRANCO *et al.*, 2018), artrite (WALKER *et al.*, 2006; ELNAGGAR; ELSHAFFEY, 2016), osteoartrite (GUNDOG *et al.*, 2012; ZENG *et al.*, 2015), dor muscular tardia (ROCHA *et al.*, 2012), dismenorreia primária (TUGAY *et al.*, 2007) e dor pós-operatória (JARIT *et al.*, 2003).

Poucos estudos pré-clínicos foram desenvolvidos objetivando mostrar o efeito da CI. Esses estudos concluíram que a CI promove antinocicepção em modelo animal de inflamação na pata (JORGE *et al.*, 2006), modelo de inflamação articular no joelho (CRUZ, 2014; CRUZ, 2019) e em modelo de dor muscular crônica generalizada (DESANTANA *et al.*, 2011).

A CI tem seus mecanismos de ação pouco esclarecidos em relação a sua função analgésica. Alguns experimentos *in vitro* já foram desenvolvidos objetivando conhecer algumas ações dessa corrente na célula (SONTAG; DERTINGER, 1998; SONTAG, 2000, 2001, 2004). O uso da CI em promielócitos humanos diferenciados em monócitos/macrófagos reduziu a liberação de IL-8, aumentou a liberação de IL-1 β e promoveu aumento ou redução de TNF α , alterações dependentes da frequência de modulação da corrente (SONTAG, 2000). A CI promoveu, ainda, aumento ou redução nas concentrações de AMPc intracelular e redução do

GMPc intracelular, a depender da frequência de estimulação utilizada (SONTAG; DERTINGER, 1998; SONTAG, 2004).

Um estudo mostrou, ainda, que o efeito antinociceptivo promovido pela CI num modelo de artrite não é mediado por receptores opióides mu e delta em regiões espinais e supraespinais (CRUZ, 2014). O tratamento com essa corrente também não promove o aumento de betaendorfinas no plasma (BEATTI; CABOT; CHIPCHASE, 2012). O efeito anti-hiperalgésico da CI foi associado à participação de receptores α_2 -adrenérgicos e da via do óxido nítrico por ativação de canais de potássio dependentes de ATP, informações obtidas com a administração sistêmica de antagonistas (CRUZ, 2019).

Por se tratarem de terapias elétricas que têm apresentado resultados semelhantes nas suas respostas analgésicas, a TENS e a CI são comumente comparadas na literatura científica. Ao contrário da CI, a TENS possui seus mecanismos de ação para promoção de analgesia amplamente descritos (CORRÊA *et al.*, 2016). Um número expressivo de estudos pré-clínicos apontam efeito anticociceptivo da TENS em modelos animais de dor inflamatória (SLUKA *et al.*, 1998; KALRA; URBAN; SLUKA, 2001; SLUKA, 2000; RADHAKRISHNAN *et al.*, 2003; SLUKA; VANCE; LISI, 2005; KING *et al.*, 2005; SLUKA; LISI; WESTLUND, 2006). Esse efeito é mediado pela ativação de receptores mu e delta opióides espinais e supraespinais (SLUKA *et al.*, 1999; SLUKA, 2000; KALRA; URBAN; SLUKA, 2001), receptores α_2 -adrenérgicos periféricos (KING *et al.*, 2005) e receptores espinais de serotonina (5-HT_{2A} e 5-HT₃) (RADHAKRISHNAN *et al.*, 2003). Além disso, a TENS promove redução da liberação de neurotransmissores excitatórios (glutamato e aspartato) no corno dorsal da medula (SLUKA; VANCE; LISI, 2005) e aumentam a liberação de serotonina espinal (SLUKA; LISI; WESTLUND, 2006).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Investigar a participação de receptores serotoninérgicos e noradrenérgicos no efeito antinociceptivo da corrente interferencial em modelo animal de inflamação articular em ratos *Wistar*.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar repercussão sensorial (hiperalgesia mecânica) e motora da aplicação da CI.
- Avaliar, por via espinal, a participação de receptores α_2 -adrenérgicos na ação antinociceptiva da CI.
- Avaliar, por via espinal, a participação de receptores serotoninérgicos (5-HT₁, 5-HT₂ e 5-HT₃) na ação antinociceptiva da CI.

4. MATERIAL E MÉTODO

4.1 Animais

Foram incluídos neste estudo 54 ratos *Wistar* machos, com dois meses de idade, pesando 250-350 g. A amostra foi obtida tomando como referência estudos anteriores com desenho metodológico e objetivos semelhantes (RADHAKRISHNAN; SLUKA, 2003; LEE *et al.*, 2014) e foi confirmada com base na média e desvios padrão por meio do programa WinPepi (WinPepi, copyright JH Abramson, versão 11.65). Os animais foram mantidos no biotério do Laboratório de Pesquisa em Neurociência da Universidade Federal de Sergipe (LAPENE/UFS), após apreciação e aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal desta universidade (CEPA/UFS nº 60/2018 – Anexo A). Os animais permaneceram alojados em *rack* ventilada com sistema de mini-isoladores (máximo de cinco animais em cada), com 48,7 cm de comprimento, 33,1 cm de largura e 21,4 cm de altura, feitos de polisulfona, ambiente climatizado (temperatura em torno de 22°C) e em ciclo claro-escuro de 12 horas. Os testes foram realizados durante o ciclo claro. Alimentação (ração labina, Nuvilab®, Canguiri, Colombo, Paraná) e água estavam disponíveis *ad libitum*.

Todos os procedimentos foram realizados em consonância com os princípios éticos do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e com o estabelecido na Lei nº 11.794/08 que regulamenta o inciso VII do § 1º do art. 225 da constituição federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais e na Lei nº 8366/17 que institui o código de proteção aos animais do estado de Sergipe.

4.2 Indução da inflamação articular

Para indução da inflamação articular, uma mistura de 3% de caolina e 3% de carragenina (0,1 mL em solução salina estéril, pH 7,2 a 7,4) foi injetada no joelho esquerdo dos animais, enquanto eles foram mantidos anestesiados com isoflurano (2-5%; BioChimico®, Itatiaia, RJ, Brasil) (SLUKA; WESTLUND, 1993).

4.3 Aplicação da corrente interferencial

A CI foi aplicada nos joelhos inflamados durante 20 minutos, enquanto os ratos permaneceram anestesiados com isoflurano (2-5%; BioChimico®, Itatiaia, RJ, Brasil/ 5%,

mantido em 2%), tal como foi usado para a estimulação com TENS (SLUKA; VANCE; LISI, 2005). Um par de eletrodos de carbono e silicone (1,3 cm de diâmetro) foi colocado nas regiões medial e lateral do joelho (aplicação bipolar) (figura 4). Uma FAM de 100 Hz foi usada como corrente estimulante. Para atingir esta corrente de FAM, duas correntes separadas de média frequência, uma de 4.000 Hz e outra de 4.100 Hz, foram sobrepostas dentro do estimulador.

A corrente foi aplicada em intensidade motora (definida como aquela em que o músculo deve se manter contraído durante a estimulação) e duração da fase de 125 microssegundos. Estudo anterior comprovou maior efeito antinociceptivo da intensidade motora quando comparada à intensidade sensorial no modelo de artrite (CRUZ, 2019). A intensidade foi ajustada a cada 5 min de acordo com protocolo padronizado pelo laboratório para evitar habituação sensorial (APÊNDICE C) (CRUZ, 2014).

O equipamento de CI utilizado no presente estudo é igual ao utilizado clinicamente (Neurovector®, Ibramed, Amparo, SP, Brasil). Os eletrodos foram fixados à pele do rato com gel aquoso após tricotomia da região. O tamanho dos eletrodos que foram utilizados nestes experimentos é comparável à área do tecido que seria coberta pelos eletrodos em ensaios clínicos. Tanto os animais que receberam corrente ativa como aqueles que não receberam tratamento com a corrente permaneceram com os eletrodos posicionados e fixados.

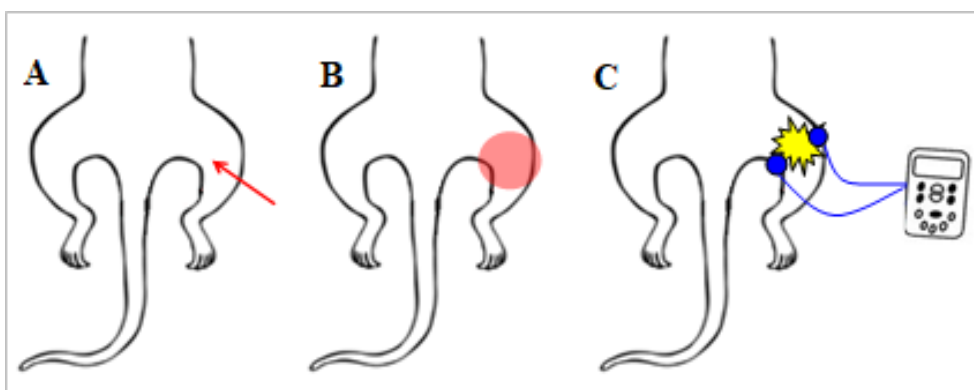


Figura 4. A: Injeção de carragenina e caolina (seta vermelha); B. Local da inflamação (em vermelho); C. Eletrodos e local da aplicação da corrente interferencial (CI) (CRUZ, 2014, 2019).

4.4 Testes comportamentais

4.4.1 Mensuração do limiar mecânico de retirada da pata

Para avaliação da sensibilidade mecânica, foi utilizado o von Frey eletrônico (Insight®, São Paulo, SP, Brasil). O aparelho consiste em um transdutor de pressão conectado a um contador digital de força expressa em gramas (g), com capacidade de mensuração de 0 até

1000 g (0 a 10000 mN). O contato do transdutor à pata dos animais é realizado por meio de uma ponteira descartável de polipropileno com 0,5 mm de diâmetro.

Os animais foram colocados em caixas de acrílico, cujo assoalho é uma malha de arame não maleável. O experimentador aplicou uma pressão linearmente crescente no centro da planta das patas traseiras do animal até que ele produzisse uma resposta flexora característica denominada de “flinch”. Foram registradas cinco medidas, posteriormente, foi calculada uma média aritmética dos três valores mais próximos. O valor obtido foi convertido a milinewtons e foi considerado o limiar mecânico de retirada da pata. A redução do limiar foi interpretada como hiperalgesia mecânica secundária (VIVANCOS *et al.*, 2004).

Os animais foram aclimatados por dois dias consecutivos previamente à realização do experimento. A aclimação consistiu em manter os animais por 30 minutos em suas caixas na sala de comportamento. Na sequência, eles foram colocados nos cubículos transparentes na plataforma do von Frey e aclimatados novamente por 30 minutos. Durante esse período, a superfície plantar das patas traseiras dos animais foi estimulada cinco vezes com a ponteira do equipamento, simulando o procedimento de avaliação (VIVANCOS *et al.*, 2004).

4.4.2 Mensuração da distância percorrida

Para avaliação da função motora foi utilizado o monitor de atividades (Insight®, Ribeirão Preto, SP, Brasil), que consiste em um equipamento destinado a monitorização de movimentos dos animais colocados dentro de uma caixa de acrílico (comprimento: 50 cm, altura: 48 cm, profundidade: 50 cm). Nesse equipamento, os movimentos são monitorados por sensores infravermelhos nos eixos x, y e z, ou seja, altura, largura e profundidade. O programa é capaz de reconhecer movimentos circulares, horário e anti-horário, bem como o espaço percorrido e a velocidade.

Para realização do teste, os animais foram retirados das suas caixas e colocados no equipamento. O software foi programado para avaliação e registro das atividades por um período de 5 minutos e foi analisada a distância percorrida (mm) (TATEM *et al.*, 2014).

4.5 Série experimental

4.5.1 Injeção intratecal

A injeção intratecal se caracteriza por ser de rápida execução, com alta reprodutibilidade e exige pequenas doses de fármacos para sua utilização (HYLDEN;

WILCOX, 1980). É uma técnica segura que não causa efeitos colaterais ao animal (ALMEIDA *et al.*, 2000).

Os animais foram inicialmente anestesiados com isoflurano (2%-5%) e foi realizada uma injeção intratecal para a administração das drogas ou veículos. Esse procedimento consiste em introduzir uma agulha hipodérmica (0,70x25mm, BD®) no espaço intervertebral entre as vértebras lombares, L5 e L6, próximo ao final da medula espinal e início da cauda equina. Usualmente, há um reflexo de retirada da cauda indicando sucesso no procedimento de introdução da agulha nesta região (HYLDEN; WILCOX, 1980). Para comprovação da capacitação técnica do executor desse procedimento, foram realizadas injeções intratecais com cloridrato de lidocaína 1% (20 µL, xilestesin®, Cristália, Itapira, SP) em animais que não participaram do experimento (GALDINO; DUARTE; PEREZ, 2015; GALDINO *et al.*, 2015). O executor obteve uma taxa de acerto de 100% no local da injeção em dez tentativas, comprovado por paralisia das patas posteriores dos animais que receberam o anestésico via intratecal.

4.5.2 Grupos

Para determinar se a administração intratecal de antagonistas de receptores monoaminérgicos bloqueia o efeito antinociceptivo da CI, os animais foram distribuídos aleatoriamente em nove grupos (quadro 1).

Os animais de todos os grupos foram submetidos a indução de artrite. Os animais dos grupos antagonistas, após indução da inflamação, receberam injeção de antagonistas específicos dos seus receptores (cloridrato de ioimbina, maleato de metisergida e tropanil diclorobenzoato) e, posteriormente, foram submetidos ao tratamento com a corrente.

Os animais dos grupos agonistas, após indução da inflamação, receberam injeção com agonistas (cloridrato de clonidina e cloridrato de serotonina) das respectivas vias que foram avaliadas. O uso de grupos controle com agonistas objetivou mostrar o efeito da interação agonista e receptor, além do estabelecimento de um parâmetro para comparação do efeito promovido pelo agonista (na dose selecionada neste estudo) em relação ao efeito promovido pela corrente.

Os fármacos utilizados no experimento foram diluídos em solução salina (NaCl, 0,9%) ou dimetilsulfóxido a 20% (DMSO 20%, Labsynth produtos para laboratório Ltda., Diadema, SP, Brasil), tornando necessária a avaliação dos grupos com corrente ativa e inativa utilizando os dois veículos. Os grupos veículo (CI + salina e CI + DMSO 20%), após indução da

inflamação, foram injetados com salina (NaCl, 0,9%) ou DMSO 20% e, posteriormente, foram submetidos ao tratamento com a corrente. Os grupos controle (CI inativa + salina e CI inativa + DMSO 20%), após indução da inflamação, foram injetados com salina (NaCl, 0,9%) ou DMSO 20% e, posteriormente, foram anestesiados pelo tempo de aplicação da corrente com o aparelho posicionado no local de aplicação, porém inativo.

Quadro 1. Bloqueio farmacológico e grupos da série experimental.

Bloqueio farmacológico		
Receptores avaliados	Efeito	Grupo (n=6/grupo)
-	-	CI inativa + salina
-	-	CI inativa + DMSO 20%
-	-	CI + salina
-	-	CI + DMSO 20%
Noradrenérgicos (α_2)	Bloqueio de receptores α_2 -adrenérgicos	CI + ioimbina
	Ativação de receptores α_2 -adrenérgicos	Cloridrato de clonidina
Serotoninérgicos (5-HT ₁ e 5-HT ₂) Serotoninérgicos (5-HT ₃)	Bloqueio de receptores 5-HT ₁ e 5-HT ₂	CI + metisergida
	Bloqueio de receptores 5-HT ₃	CI + tropanil diclorobenzoato
	Ativação de receptores serotoninérgicos	Cloridrato de serotonina

Legenda: n: número. CI: corrente interferencial. DMSO: dimetilsulfóxido. 5-HT: serotonina.

4.5.3 Fármacos

No quadro 2, encontram-se os fármacos e doses que foram utilizados para avaliação da participação dos receptores. Todos os fármacos foram diluídos em solução salina (NaCl, 0,9%), com exceção do tropanil diclorobenzoato (Alfa Aesar®, Tewksbury, MA, EUA), que foi diluído em DMSO 20%. O tropanil diclorobenzoato foi obtido da Interprise® (Paulínia, SP, Brasil), as demais drogas foram obtidas da Sigma Aldrich Brasil Ltda (São Paulo, SP, Brasil). As doses utilizadas nesse experimento foram obtidas em estudo anterior que objetivou avaliar a participação de receptores noradrenérgicos e serotoninérgicos no mecanismo de ação da TENS (RADHAKRISHNAN *et al.*, 2003). O volume determinado para injeção intratecal está de acordo com o utilizado em estudo anterior (MONTEROS-ZUÑIGA *et al.*, 2016). O intervalo entre a administração das drogas e início do tratamento com a corrente foi de 15 minutos (RADHAKRISHNAN *et al.*, 2003).

Quadro 2. Fármacos e doses da série experimental.

Receptores	Classe	Fármaco	Dose
Noradrenérgicos (α_2-adrenérgicos)	Antagonista	Cloridrato de ioimbina	30 μ g/20 μ L
Serotoninérgicos (5-HT₁ e 5-HT₂)	Antagonista	Maleato de metisergida	30 μ g/20 μ L
Serotoninérgicos (5-HT₃)	Antagonista	Tropanil diclorobenzoato	12 μ g/20 μ L
Noradrenérgicos (α_2-adrenérgicos)	Agonista	Cloridrato de clonidina	5 μ g/20 μ L
Serotoninérgicos	Agonista	Cloridrato de serotonina	30 μ g/20 μ L

Legenda: 5-HT: serotonina

4.5.4 Delineamento experimental

Os animais foram aclimatados por dois dias prévios à realização do experimento (D-2 e D-1). No D0, foram realizados os testes comportamentais seguidos da injeção de carragenina e caolina via intra-articular. Após 24 h da indução da inflamação (D1), os animais foram reavaliados e, logo após, foram distribuídos aleatoriamente entre os grupos do experimento (quadro 1). A distribuição aleatória foi realizada por um participante externo ao experimento, que, na aleatorização, selecionou animais de diferentes caixas para constituir um grupo de animais, considerando a homogeneidade em relação a peso e idade.

Ainda no D1, os animais dos grupos antagonistas (CI + ioimbina, CI + metisergida e CI + tropanil diclorobenzoato) e veículos (CI + salina e CI + DMSO 20%) receberam injeção intratecal com seus respectivos fármacos. Após 15 minutos, os animais foram submetidos ao tratamento com a corrente de acordo com protocolo previamente descrito. Os grupos controle (CI inativa + salina e CI inativa + DMSO 20%) receberam injeção com os veículos e não foi realizado tratamento com a CI. Os animais foram mantidos anestesiados com isoflurano (2%-5%) por 20 minutos, com os eletrodos posicionados no joelho inflamado, porém com a corrente inativa. Os grupos agonistas (cloridrato de clonidina e cloridrato de serotonina) receberam injeção com seus respectivos fármacos e não receberam aplicação da corrente.

Todos os testes foram realizados com o experimentador cego para o fármaco e para o tratamento realizado. Para garantir o cegamento, no momento da administração das drogas e realização da corrente, os animais se mantiveram com as identificações da cauda cobertas. O procedimento realizado em cada animal (droga administrada, corrente ativa ou inativa) foi direcionado por um participante externo à avaliação comportamental. As atividades realizadas nesse experimento estão descritas na linha do tempo (figura 5).

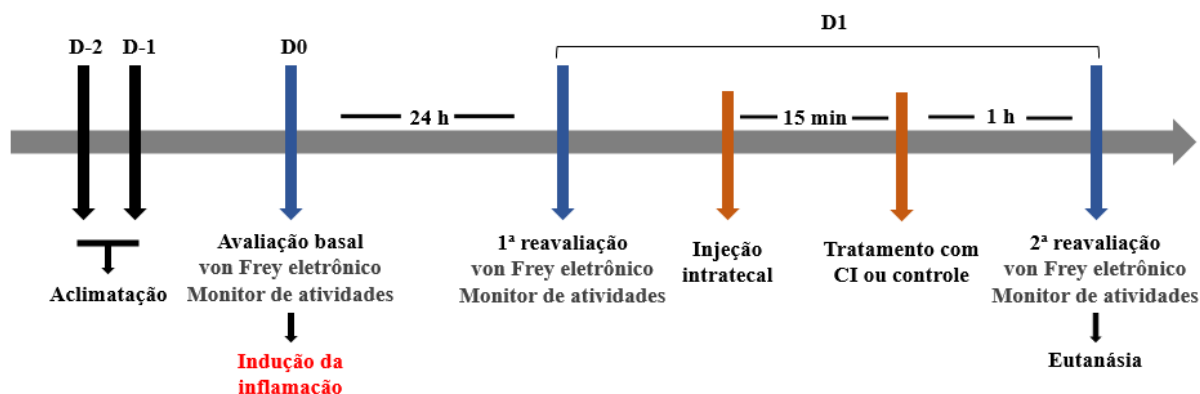


Figura 5. Delineamento experimental. D: dia

4.6 Análise estatística

Para análise dos dados, foi utilizado, inicialmente, o teste de normalidade Shapiro-Wilk para avaliar se a distribuição dos dados é normal. Posteriormente, foi usado o teste de análise de variância de duas vias (ANOVA two-way) para avaliar diferenças entre grupos e para diferenças intra-grupo, seguido pelo post hoc de Tukey para comparações múltiplas (GraphPad Prism 7.0 Software, Intuitive Software for Science, San Diego, CA). O valor de p menor que 0,05 foi considerado estatisticamente significativo. Os dados foram apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (APÊNDICES A e B). Para avaliar o efeito da corrente em comparação ao efeito promovido pelo agonista e avaliar o potencial dos antagonistas em bloquear o efeito da corrente, foi calculado o tamanho de efeito por meio do índice do d de Cohen (COHEN, 1988, 1992a, b; ESPIRITO SANTO; DANIEL, 2015). Os valores de referência para classificação do tamanho de efeito estão de acordo com o proposto inicialmente por Cohen (1988) e complementado por Rosenthal (1996), que acrescentou tamanho de efeito “muito grande” à classificação (quadro 3). Após identificação dos receptores envolvidos no mecanismo antinociceptivo da CI, também foi calculado o percentual de inibição nociceptiva promovido pela corrente em relação ao promovido pelo agonista do receptor, levando em consideração que, na dose testada, foi estabelecido que a administração do agonista corresponde a 100% do efeito.

Quadro 3. Valores para interpretação dos tamanhos de efeito.

Pequeno	Médio	Grande	Muito grande
0,20 - 0,49	0,50 - 0,79	0,80 - 1,29	> 1,30

Fonte: Cohen (1988); Rosenthal (1996).

5. RESULTADOS

Houve diminuição significativa do limiar mecânico de retirada da pata esquerda 24 h após indução da inflamação em todos os grupos ($p < 0,0001$). Os grupos tratados com corrente interferencial com administração de veículos (salina ou DMSO 20%), no momento pós-tratamento, apresentaram aumento significativo do limiar mecânico de retirada da pata esquerda em comparação ao momento pré-tratamento ($p \leq 0,001$). Tanto o grupo CI + salina, como o grupo CI + DMSO 20% tiveram tamanho de efeito muito grande, $d = 1,95$ e $d = 1,83$, respectivamente, quando comparados aos grupos CI inativa + salina ou CI inativa + DMSO 20%. Os grupos não tratados com corrente não alteraram o limiar mecânico de retirada da pata comparando-se antes e após o tratamento. No momento pós-tratamento, comparando-se os grupos CI + salina e CI inativa + salina e os grupos CI + DMSO 20% e CI inativa + DMSO 20%, nota-se que os grupos tratados com a corrente aumentaram significativamente o limiar mecânico de retirada da pata esquerda, diferente dos grupos não tratados (figuras 6 e 7).

No experimento que avaliou a participação de receptores serotoninérgicos no mecanismo antinociceptivo da CI, pôde-se observar que o grupo que recebeu metisergida (antagonista não seletivo de 5-HT₁ e 5-HT₂) antes do tratamento com a CI, não mostrou diferença estatisticamente significativa no limiar mecânico de retirada da pata esquerda, quando comparados os momentos pré e pós-tratamento ($p = 0,99$). No pós-tratamento, comparando-se os grupos CI + salina e CI + metisergida, nota-se que o grupo que recebeu metisergida antes do tratamento com a corrente, não aumentou o limiar mecânico de retirada da pata esquerda, diferente do grupo que recebeu salina, que teve aumento significativo (figura 6). O potencial de bloqueio do efeito da corrente promovido pela injeção da metisergida foi calculado utilizando o d de Cohen. A metisergida teve tamanho de efeito de bloqueio muito grande ($d = 1,73$), quando comparado ao grupo CI + salina.

Os animais que receberam o tropanil diclorobenzoato (antagonista 5-HT₃) não mostraram diferença estatisticamente significativa no limiar mecânico de retirada da pata esquerda, quando comparados os momentos pré e pós-tratamento ($p = 0,081$). No pós-tratamento, comparando-se os grupos CI + DMSO 20% e CI + tropanil diclorobenzoato, nota-se que o grupo que recebeu tropanil diclorobenzoato antes do tratamento com a corrente não aumentou o limiar mecânico de retirada da pata esquerda, diferente do grupo que recebeu DMSO 20%, que teve aumento significativo (figura 6). O tamanho do efeito do bloqueio

promovido pelo tropanil diclorobenzoato foi muito grande ($d = 2,13$), quando comparado ao grupo CI + DMSO 20%.

A administração de cloridrato de serotonina (agonista de receptores serotoninérgicos) nos animais com inflamação articular aumentou o limiar mecânico de retirada da pata esquerda comparando-se os momentos pré-tratamento e pós-tratamento ($p = 0,004$). No pós-tratamento, a comparação dos grupos cloridrato de serotonina e CI + salina mostra que ambos aumentaram o limiar mecânico de retirada da pata esquerda. Já a comparação entre os grupos cloridrato de serotonina e CI inativa + salina, mostrou diferença entre eles, o grupo que recebeu o agonista aumentou o limiar mecânico de retirada da pata esquerda, porém, os animais não tratados com a corrente que receberam salina não alteraram o limiar (figura 6). O tratamento com o agonista teve tamanho de efeito muito grande ($d = 2,40$), quando comparado ao grupo CI inativa + salina. Levando em consideração que a administração de cloridrato de serotonina, na dose testada, foi tomado como padrão ouro, representando 100% da inibição nociceptiva, a aplicação da corrente no grupo CI + salina promoveu 97,89% de inibição.

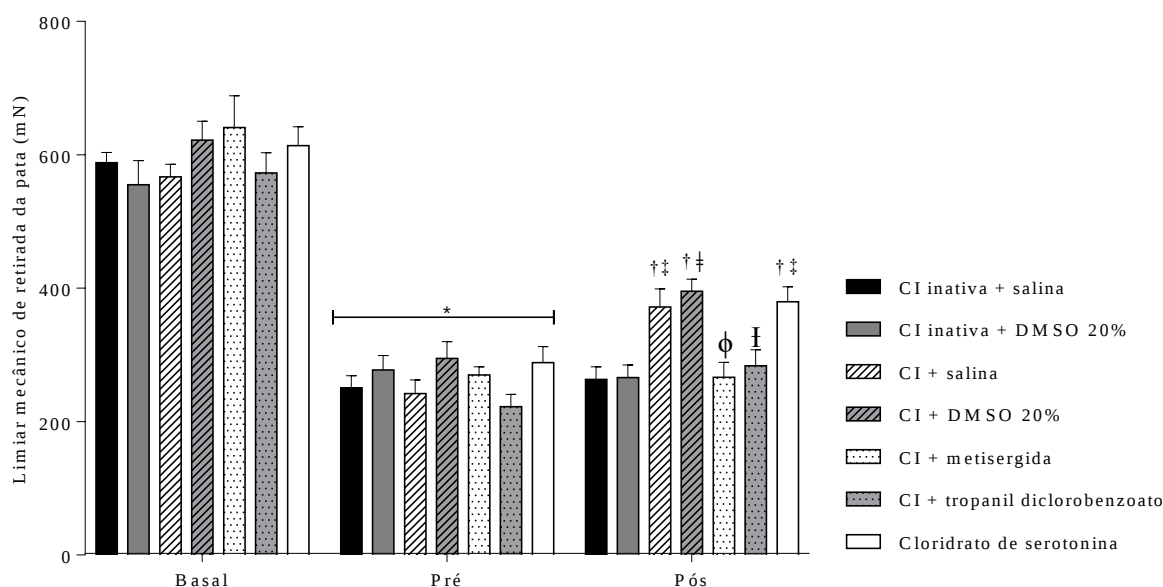


Figura 6. Efeito da CI em associação ao bloqueio de receptores serotoninérgicos no limiar mecânico de retirada da pata esquerda de animais com inflamação articular. O limiar mecânico (mN) foi avaliado nos momentos antes (basal) e 24 h após a indução da inflamação (pré), bem como após administração dos fármacos seguido de tratamento com a CI em intensidade motora (pós). Dados apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. ANOVA duas vias, com pós-teste de Tukey, $*p < 0,0001$ em relação ao basal, $\ddagger p \leq 0,033$ em relação ao grupo CI inativa + salina no momento pós-tratamento, $\dagger p \leq 0,004$ em relação ao pré-tratamento, $\ddagger p \leq 0,033$ em relação ao grupo CI inativa + salina no momento pós-tratamento, $\dagger p = 0,018$ em relação ao grupo CI inativa + DMSO 20% no momento pós-tratamento, $\phi p = 0,042$ em relação ao grupo CI + salina no momento pós-tratamento, $\dagger p = 0,025$ em relação ao grupo CI + DMSO 20% no momento pós-tratamento. CI: corrente interferencial. DMSO: dimetilsulfóxido.

No experimento que avaliou a participação de receptores α_2 -adrenérgicos no mecanismo antinociceptivo da CI, pôde-se observar que os animais administrados com ioimbina (antagonista α_2 -adrenérgico) antes da aplicação da corrente, aumentaram significativamente o limiar mecânico de retirada da pata inflamada quando comparados os momentos antes e após o tratamento ($p = 0,005$). No pós-tratamento, tanto o grupo CI + salina quanto o grupo CI + ioimbina aumentaram o limiar mecânico de retirada da pata esquerda. A administração de cloridrato de clonidina (agonista α_2 -adrenérgico) também aumentou significativamente o limiar mecânico de retirada da pata inflamada no momento pós-tratamento em relação ao pré-tratamento ($p = 0,001$), com tamanho de efeito muito grande ($d = 5,01$) quando comparado ao grupo CI inativa + salina. Além disso, no pós-tratamento, o grupo que recebeu o agonista α_2 -adrenérgico aumentou de forma significativa o limiar mecânico de retirada da pata esquerda, diferente do grupo CI inativa + salina (figura 7).

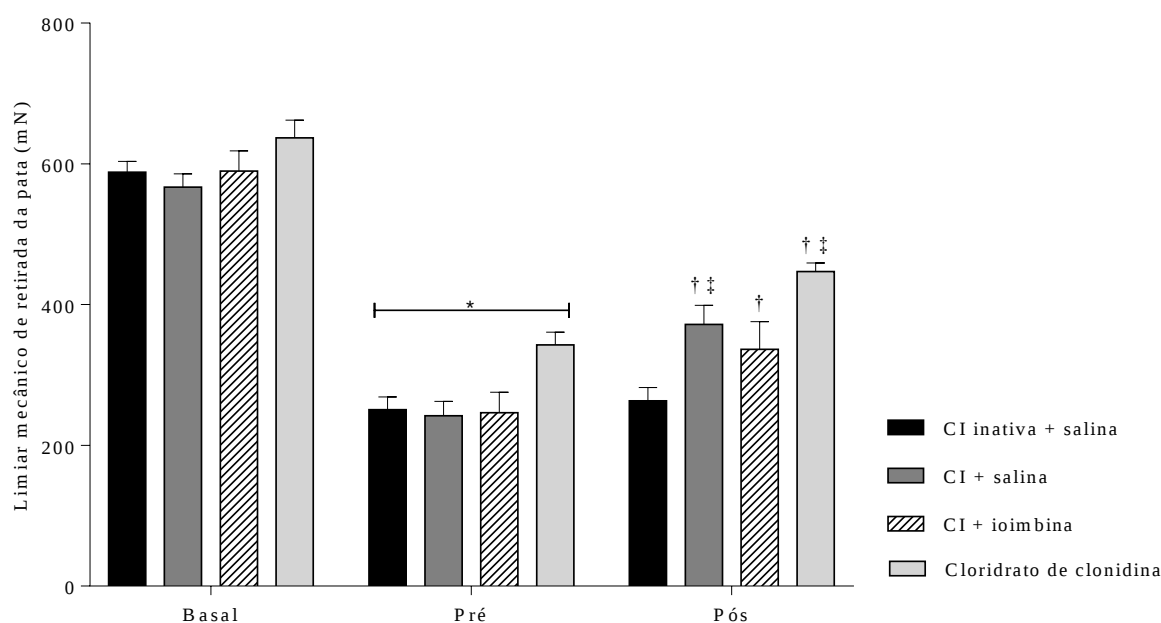


Figura 7. Efeito da CI em associação ao bloqueio de receptores noradrenérgicos no limiar mecânico de retirada da pata esquerda de animais com inflamação articular. O limiar mecânico (mN) foi avaliado nos momentos antes (basal) e 24 h após a indução da inflamação (pré), bem como após administração dos fármacos seguido de tratamento com a CI em intensidade motora (pós). Dados apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. ANOVA duas vias, com pós-teste de Tukey, * $p < 0,0001$ em relação ao basal, † $p \leq 0,005$ em relação ao pré-tratamento, ‡ $p \leq 0,0104$ em relação ao grupo CI inativa+salina no momento pós-tratamento. CI: corrente interferencial.

As análises do limiar mecânico de retirada da pata direita (figuras 8 e 9) não foram diferentes nas comparações intragrupo e intergrupo em todos os grupos avaliados.

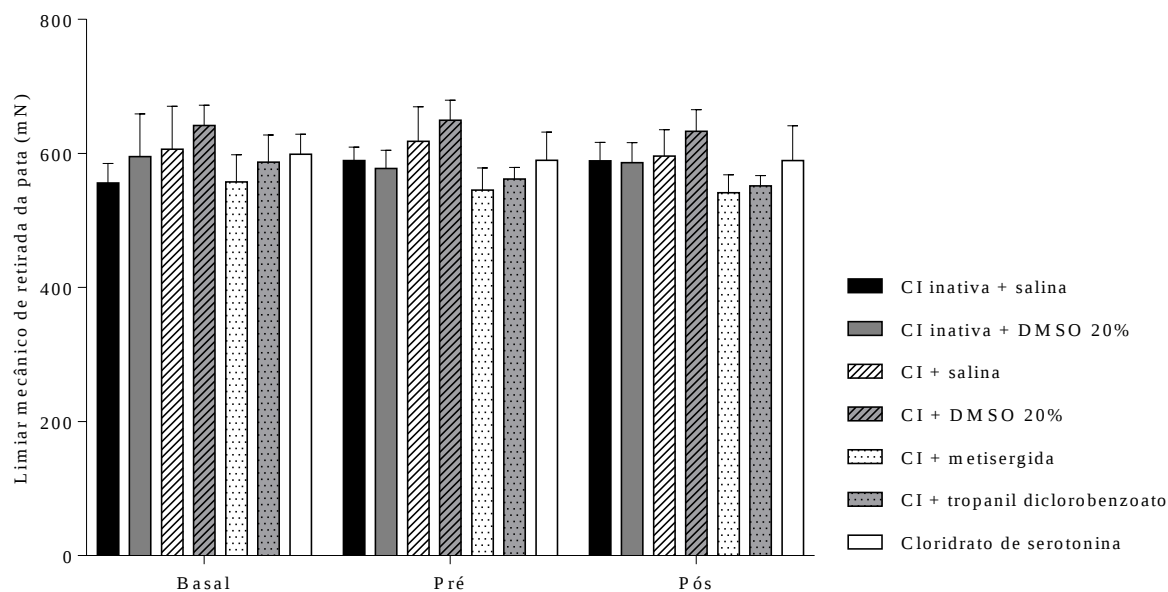


Figura 8. Efeito da CI em associação ao bloqueio de receptores serotoninérgicos no limiar mecânico de retirada da pata direita de animais com inflamação articular. O limiar mecânico (mN) foi avaliado nos momentos antes (basal) e 24 h após a indução da inflamação (pré), bem como após administração dos fármacos seguido de tratamento com a CI em intensidade motora (pós). Dados apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. ANOVA duas vias. CI: corrente interferencial. DMSO: dimetilsulfóxido.

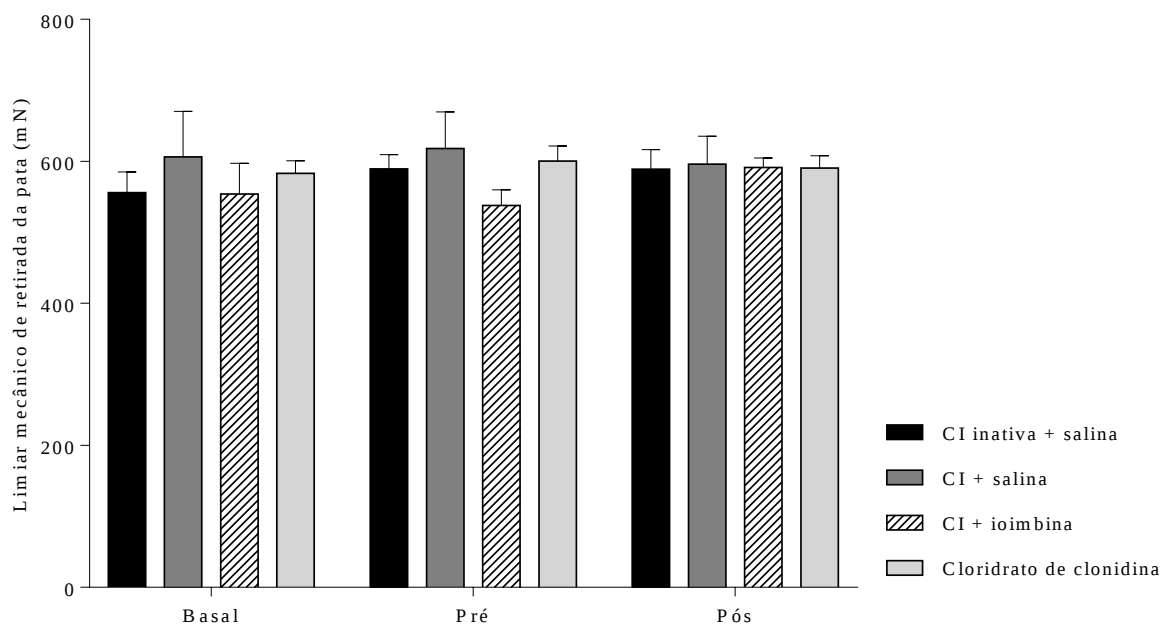


Figura 9. Efeito da CI em associação ao bloqueio de receptores noradrenérgicos no limiar mecânico de retirada da pata direita de animais com inflamação articular. O limiar mecânico (mN) foi avaliado nos momentos antes (basal) e 24 h após a indução da inflamação (pré), bem como após administração dos fármacos seguido de tratamento com a CI em intensidade motora (pós). Dados apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. ANOVA duas vias. CI: corrente interferencial.

Na avaliação da atividade locomotora houve diminuição significativa na distância percorrida por todos os grupos após a indução da inflamação articular ($p \leq 0,0207$). Os animais dos grupos CI + ioimbina e CI + tropanil diclorobenzoato apresentaram redução significativa do deslocamento espontâneo após o tratamento com a corrente, quando comparados ao pré-tratamento ($p \leq 0,018$). Contudo, a comparação entre todos os grupos no momento pós-tratamento, mostrou que não houve diferença estatisticamente significativa na distância percorrida pelos animais (figura 10).

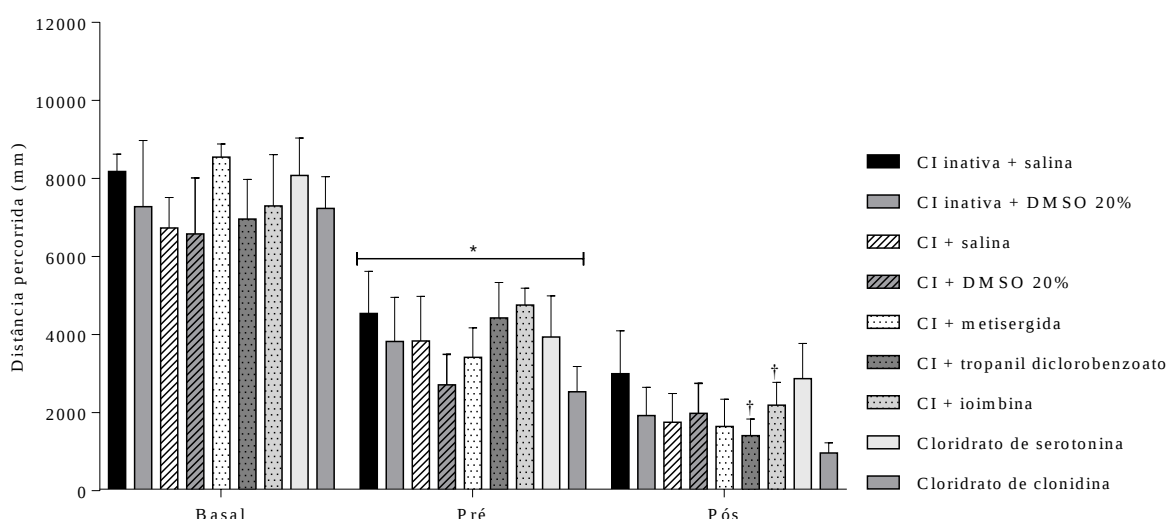


Figura 10. Efeito da CI em associação ao bloqueio de receptores serotoninérgicos e noradrenérgicos na distância percorrida pelos animais. A distância percorrida (mm) foi avaliada nos momentos antes (basal) e 24 h após a indução da inflamação (pré), bem como após administração dos fármacos seguido de tratamento com a CI em intensidade motora (pós). Dados apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. ANOVA duas vias, com pós-teste de Tukey, $*p \leq 0,0207$ em relação ao basal, $†p \leq 0,018$ em relação ao pré-tratamento. CI: corrente interferencial. DMSO: dimetilsulfóxido.

6. DISCUSSÃO

Os resultados desse estudo mostraram que a corrente interferencial em intensidade motora reduziu a hiperalgesia mecânica de ratos com inflamação articular na pata esquerda. Além disso, foi apontada a participação dos receptores espinais de serotonina (5-HT₁, 5-HT₂ e 5-HT₃) no efeito antinociceptivo da corrente. Contudo, esse efeito não está relacionado à ativação de receptores α_2 -adrenérgicos espinais. A administração de fármacos agonistas de receptores serotoninérgicos e α_2 -adrenérgicos gerou efeito antinociceptivo, mostrando que esses receptores estão envolvidos na modulação nociceptiva inibitória. Não houve alterações quanto à hiperalgesia mecânica na pata direita, contralateral à lesão, em nenhum dos grupos do experimento nos diversos momentos avaliados. Em relação ao desempenho motor, o tratamento com CI em intensidade motora e/ou a administração de fármacos não alterou o deslocamento espontâneo dos animais nas situações experimentais testadas.

Assim como o presente estudo, outros apontaram que a CI promove efeito antinociceptivo em modelos pré-clínicos (JORGE *et al.*, 2006; DESANTANA *et al.*, 2011; CRUZ, 2014, 2019). Um desses estudos mostrou que CI reduziu a hiperagelsia mecânica primária em ratos *Wistar* com inflamação na pata por injeção de carragenina (100 μ g, 50 μ L) e no comportamento nociceptivo induzido por injeção de formalina 1% (50 μ L) na pata (JORGE *et al.*, 2006).

Na pesquisa supracitada, o protocolo de tratamento com a corrente diferiu do utilizado na presente pesquisa. Os autores avaliaram o efeito da CI com FAM: 140 Hz, duração de fase: 125 μ s, intensidade: 5 mA (sensorial) e 1 h de aplicação com os eletrodos posicionados no terço póstero-inferior do membro e porção proximal do dorso da pata inflamada (JORGE *et al.*, 2006). O presente estudo, por sua vez, utilizou apenas 20 min de aplicação da corrente com os eletrodos posicionados no joelho inflamado, FAM: 100 Hz, duração de fase: 125 μ s e intensidade motora (ajustada), ocasionando redução da hiperalgesia mecânica secundária. Esses dados mostram que diferentes protocolos de tratamento podem promover resultados favoráveis na utilização da corrente de acordo com o modelo utilizado.

Um estudo prévio mostrou resultados semelhantes aos apontados na presente pesquisa no que diz respeito à hiperalgesia mecânica secundária (DESANTANA *et al.*, 2011). Os autores investigaram os efeitos da CI em um modelo de dor muscular crônica não inflamatória mostrando ação anti-hiperágésica. Esse modelo foi obtido por dupla injeção de solução salina ácida (pH 4,0) no músculo gastrocnêmio esquerdo dos animais (DESANTANA *et al.*, 2011). Os protocolos de tratamento com a corrente utilizados nos dois estudos tiveram FAM de 100

Hz e tempo de aplicação de 20 minutos com os eletrodos posicionados na região do insulto, gastrocnêmio esquerdo (estudo citado) ou joelho inflamado (presente pesquisa). Os protocolos diferiram na intensidade de estimulação do tecido, o estudo referido empregou intensidade sensorial, definida como aquela abaixo do limiar motor, enquanto a presente pesquisa utilizou a corrente em intensidade motora, quando o animal realiza uma contração muscular isométrica (DESANTANA *et al.*, 2011).

Os resultados do presente estudo corroboram os encontrados em pesquisas anteriores que avaliaram o efeito da CI na hiperalgesia mecânica secundária em modelo inflamatório articular induzido por injeção de carragenina e caolina. A CI promoveu efeito anti-hiperalgésico quando aplicada em intensidade sensorial (CRUZ, 2014) e em intensidade motora (CRUZ, 2019), seguindo os mesmos parâmetros em relação a FAM, local de aplicação dos eletrodos e tempo de tratamento utilizados no presente estudo. Foi apontada, ainda, superioridade do tamanho de efeito anti-hiperalgésico da CI em intensidade motora quando comparada à intensidade sensorial em modelo experimental de inflamação articular (CRUZ, 2019). Com base nesses resultados, a intensidade motora foi incluída no protocolo de tratamento desse estudo, visto que, o uso da intensidade que promove maior efeito auxilia na interpretação dos dados quando o objetivo é investigar mecanismos de ação da corrente.

A superioridade da CI em intensidade motora para geração de efeito anti-hiperalgésico também pôde ser vista em um ensaio clínico randomizado com pacientes com fibromialgia (FM) que objetivou comparar o efeito da CI em intensidade motora e sensorial (ARAÚJO, 2015). Os resultados mostraram que a CI, somente quando aplicada em intensidade motora, promoveu redução da dor e de alterações psicossomáticas presentes em indivíduos com FM (ARAÚJO, 2015). Assim como no presente estudo, foi utilizada uma corrente com FAM em 100 Hz. Em contrapartida, os autores realizaram o tratamento com os eletrodos posicionados na região paravertebral, em 10 sessões de 30 minutos (ARAÚJO, 2015).

Outros ensaios clínicos randomizados investigaram o efeito anti-hiperalgésico da CI, mostrando que o tratamento com essa corrente promoveu redução da dor em pacientes com osteoartrite quando comparado ao tratamento placebo (ADEDYOYIN; OLAOGUN; OYEYEMI, 2005; DEFRIN; ARIEL; PERETZ, 2005; ATAMAZ *et al.*, 2012; GUNDOG *et al.*, 2012). Além da redução da dor, houve redução da incapacidade funcional (GUNDOG *et al.*, 2012) e do uso de analgésicos após o tratamento com a CI (ATAMAZ *et al.*, 2012). Esses estudos apresentam diferenças nos parâmetros aplicados para o tratamento com a corrente, mostrando que protocolos diferentes podem beneficiar pacientes com quadro de dor inflamatória

(ADEDYOYIN; OLAOGUN; OYEYEMI, 2005; DEFRIN; ARIEL; PERETZ, 2005; ATAMAZ *et al.*, 2012; GUNDOG *et al.*, 2012).

Visando investigar os mecanismos de ação da CI por meio de bloqueios farmacológicos, os resultados do presente estudo comprovaram a participação de receptores serotoninérgicos (5-HT₁, 5-HT₂ e 5-HT₃), mas não de receptores α_2 -adrenérgicos no efeito anti-hiperalgésico da CI. As aminas biogênicas como noradrenalina, dopamina e serotonina são neurotransmissores envolvidos no sistema descendente inibitório da dor (LI; ZHUO, 2001; WATKINS; MILLIGAN; MAIER, 2001; RUSSELL; LARSON, 2009; BRADLEY, 2009; GASSNER; RUSCHEWEYH; SANDKÜHLER, 2009; ROSENBERG; CARROLL; NEGUS, 2013). A administração intraperitoneal (i.p.) de reserpina, inibidor da captação de monoaminas para vesículas de armazenamento que tem efeito monoaminérgico depletor, bloqueou o efeito antinociceptivo da CI em modelo animal de inflamação articular, mostrando que o efeito hipoalgésico da CI é mediado pela ação de monoaminas (CRUZ, 2019).

A redução das monoaminas está relacionada com estados de dor crônica, como fibromialgia e dor neuropática (HORIUCHI *et al.*, 2003; SLUKA; CLAUW, 2016). Os antidepressivos, sejam eles tricíclicos, inibidores de recaptação de serotonina ou inibidores de recaptação de serotonina e norepinefrina são comumente prescritos na clínica para o tratamento de dor crônica (KHOUZAM, 2016). Um dos mecanismos utilizados pelos antidepressivos para atingir o efeito anti-hiperalgésico é a alteração do processamento nociceptivo por prolongar a atividade sináptica de monoaminas, aumentando a ação descendente inibitória na medula espinal e em outras regiões do SNC (JANN; SLADE, 2007).

No que se refere à participação de receptores noradrenérgicos no mecanismo de ação da CI, os resultados do presente estudo mostraram que o efeito antinociceptivo dessa corrente não é bloqueado pela administração de ioimbina (antagonista de receptores α_2 -adrenérgicos) via espinal, evidenciando que o efeito anti-hiperalgésico da CI não é mediado por receptores α_2 -adrenérgicos na medula. Esses resultados diferem dos encontrados em outro estudo que mostrou que a administração via i.p. de ioimbina bloqueou o efeito anti-hiperalgésico da CI em modelo animal de inflamação articular, indicando que o efeito antinociceptivo da corrente é mediado por receptores α_2 -adrenérgicos (CRUZ, 2019). Apesar das diferenças nos resultados, é necessário ressaltar, porém, que a administração sistêmica (i.p) pode bloquear receptores em nível periférico e central (espinal e supraespinal). Nos resultados da presente pesquisa, não houve participação de receptores espinais, porém, é possível que a CI atue por meio de receptores α_2 -adrenérgicos localizados periféricamente ou em regiões supraespinais, necessitando, portanto, de estudos adicionais para comprovar essa hipótese. Os parâmetros para

o tratamento com a corrente no estudo citado (CRUZ, 2019) são idênticos aos utilizados nessa pesquisa.

Científica e clinicamente, a TENS e a CI são comumente comparadas em relação aos seus efeitos analgésicos, permitindo, assim, o estabelecimento de comparações em relação aos seus possíveis mecanismos de ação (SHANAHAN; WARD; ROBERTSON, 2006; ATAMAZ *et al.*, 2012). A administração intratecal de um antagonista de receptores α_2 -adrenérgicos (ioimbina) não teve efeito na antinocicepção promovida pela TENS, seja de baixa ou alta frequência (RADHAKRISHNAN *et al.*, 2003), resultados semelhantes aos encontrados na presente pesquisa que não relacionou o efeito hipoalgésico da CI à ativação de receptores α_2 -adrenérgicos espinais.

Outros autores, porém, mostraram que a TENS de baixa e alta frequência promoveu efeito anti-hiperalgésico diminuído em camundongos com inflamação articular com mutações em receptores α_2 -adrenérgicos (KING *et al.*, 2005). Esses mesmos autores comprovaram que a administração intra-articular de um antagonista de receptores α_2 -adrenérgicos (cloridrato de SKF-8646) bloqueou o efeito antinociceptivo promovido pela TENS de alta e baixa frequência, resultados não observados com a administração desse antagonista via intratecal e intracerebroventricular (KING *et al.*, 2005). Infere-se, portanto, que a TENS promove anti-hiperalgesia por ativação de α_2 -adrenorreceptores periféricos. Com base nesses resultados, é possível perceber que o efeito de uma corrente pode ser mediado por receptores em locais específicos, ressaltando a hipótese de que a CI possa ativar receptores α_2 -adrenérgicos em outras regiões diferentes da espinal.

No que se refere à participação de receptores serotoninérgicos no mecanismo de ação da CI, os resultados encontrados mostraram que o efeito antinociceptivo dessa corrente é bloqueado pela administração espinal de metisergida (antagonista 5-HT₁ e 5-HT₂) e tropanil diclorobenzoato (antagonista 5-HT₃), evidenciando que o efeito anti-hiperalgésico é mediado por receptores espinais 5-HT₁, 5-HT₂ e 5-HT₃. Esses resultados corroboram os encontrados em um estudo que avaliou mecanismos de ação da TENS (RADHAKRISHNAN *et al.*, 2003). A injeção intratecal de metisergida (30 µg) e tropanil diclorobenzoato (12 µg), nas mesmas doses utilizadas na presente pesquisa, inibiu o efeito antinociceptivo da TENS de baixa frequência, mas não de alta frequência. Investigação de subtipos de receptores com o uso de antagonistas específicos apontou a participação de receptores 5-HT_{2A} no mecanismo de ação da TENS (RADHAKRISHNAN *et al.*, 2003). Esses resultados comprovam que a CI e a TENS compartilham mecanismos de ação semelhantes, em relação à via serotoninérgica espinal, para promoção de efeito anti-hiperalgésico.

Receptores 5-HT₁, 5-HT₂ e 5-HT₃ estão localizados no corno dorsal da medula em terminais de fibras aferentes primárias (FAP), neurônios de projeção (NP) e interneurônios inibitórios encefalilérgicos e gabaérgicos (MILLAN, 2002). Considerando que o modelo utilizado na presente pesquisa promove aumento de neurotransmissores excitatórios no corno dorsal da medula (SLUKA; WESTLUND, 1993), sugere-se que a CI, através de ativação de receptores espinais 5-HT₁, 5-HT₂ e 5-HT₃, inibiu a liberação de neurotransmissores excitatórios pelas FAP e NP e estimulou a liberação de opióides endógenos e ácido gama-aminobutírico, resultando em ação anti-hiperalgésica. Esses efeitos são dependentes de mecanismos de transdução de sinal que ocorrem após ativação de receptores de serotonina. Os receptores 5-HT₁ são acoplados à proteína Gi, sua ativação reduz a produção de AMPc intratecal por inibição da enzima adenilil ciclase (CORTES-ALTAMIRANO *et al.*, 2018). Os receptores 5-HT₂, por sua vez, são acoplados à proteína Gq, sua ativação promove eventos intracelulares dependentes da ativação da fosfolipase C (MCCORVY; ROTH, 2015). Já os receptores 5-HT₃ são canais iônicos ativados por ligantes e viabilizam sua função biológica por promover influxo de cátions (CORTES-ALTAMIRANO *et al.*, 2018).

Na presente pesquisa, a administração de antagonistas foi uma ferramenta metodológica para traçar o mecanismo de ação antinociceptivo da CI; esse recurso é comumente utilizado por diversos pesquisadores (SKYBA *et al.*, 2003; HAGIWARA *et al.*, 2009; STEPANOVIĆ-PETROVIĆ *et al.*, 2012; SIQUEIRA-LIMA *et al.*, 2017; PARK *et al.*, 2018). Um estudo que avaliou quais receptores espinais estavam envolvidos no efeito antinociceptivo da mobilização articular, utilizou o bloqueio farmacológico para esse fim (SKYBA *et al.*, 2003). O efeito anti-hiperalgésico da mobilização articular em animais com inflamação no joelho induzida por capsaicina foi prevenido pela administração de metisergida (30 µg) e atenuado pela ioimbina (30 µg), ambos injetados via intratecal. O bloqueio espinal de receptores 5-HT₃ (tropanil diclorobenzoato, 12µg), opióides, ou GABA_A não teve efeito na anti-hiperalgesia induzida por manipulação (SKYBA *et al.*, 2003). As doses dos antagonistas utilizados no estudo citado são semelhantes às utilizadas na presente pesquisa.

Outro estudo que também fez uso desse recurso metodológico, avaliou o papel de vias descendentes inibitórias noradrenérgicas e serotoninérgicas na mediação dos efeitos analgésicos da radiofrequência pulsada. O tratamento com radiofrequência pulsada inibiu o efeito hiperalgésico em ratos com inflamação na pata induzida por injeção de adjuvante completo de Freund. A ação antinociceptiva foi atenuada pela injeção intratecal de ioimbina (30 nmol), metisergida (100 nmol) e tropanil diclorobenzoato (30 nmol), comprovando que a

ação analgésica da radiofrequência pulsada envolve a ativação de receptores noradrenérgicos e serotoninérgicos (HAGIWARA *et al.*, 2009).

Além das informações obtidas com o uso de antagonistas, na presente pesquisa, foram introduzidos os fármacos agonistas de receptores serotoninérgicos e α_2 -adrenérgicos para mostrar o efeito da interação agonista e receptor, além de estabelecer um parâmetro para comparação do efeito promovido pelo agonista, na dose testada, em relação ao efeito promovido pela corrente. No presente estudo, a administração intratecal de cloridrato de serotonina promoveu efeito anti-hiperalgésico nos animais com inflamação articular. Resultado semelhante foi visto com a administração intratecal de serotonina (10 μ g e 100 μ g) em modelo animal de dor neuropática por constrição do nervo ciático, dor inflamatória por injeção de carragenina na pata e dor induzida pelo modelo de diabetes. A serotonina não promoveu efeito antinociceptivo em modelo animal de poliartrite induzido por injeção de *Mycobacterium butyricum* inativado na base da cauda (BARDIN *et al.*, 2000).

Para avaliar a participação de receptores serotoninérgicos no mecanismo de ação da TENS, o cloridrato de serotonina foi utilizado para mostrar o efeito da ligação agonista e receptor, além de comprovar a seletividade do antagonista utilizado na avaliação. A injeção intratecal de cloridrato de serotonina (30 μ g), na mesma dose utilizada na presente pesquisa, levou à antinocicepção de animais com inflamação articular induzida por carragenina e caolina. Esse efeito foi revertido pela pré-administração de metisergida (RADHAKRISHNAN *et al.*, 2003). Outro estudo afirmou, ainda, que a TENS de baixa frequência provocou aumento nas concentrações de serotonina no corno dorsal da medula e que o aumento desse neurotransmissor estava relacionado à efeitos antinociceptivos (SLUKA; LISI; WESTLUND, 2006).

Assim como os animais que receberam cloridrato de serotonina, os que foram tratados com cloridrato de clonidina também reduziram a hiperalgesia. Resultados semelhantes podem ser observados em outros modelos pré-clínicos (YOON *et al.*, 2015; YEO *et al.*, 2016). Animais com dor neuropática induzida por oxaliplatina reduziram a hiperalgesia mecânica após uma única injeção de clonidina (0,1 mg/kg) via intraperitoneal, associado a prejuízo na coordenação motora e redução da pressão arterial (YEO *et al.*, 2016). A aplicação de clonidina (30 μ g/kg e 100 μ g/kg) por via intraperitoneal suprimiu respostas nociceptivas no teste de formalina orofacial, porém também levou a comprometimentos na coordenação motora e pressão arterial (YOON *et al.*, 2015). O uso clínico da clonidina para analgesia é limitado devido aos seus efeitos secundários que envolvem sedação e hipotensão (NEIL, 2011). Na presente pesquisa, a avaliação da coordenação motora e hemodinâmica não foi realizada, não permitindo, assim, o

estabelecimento de comparações em relação aos efeitos secundários da administração desse fármaco.

Os resultados dos bloqueios farmacológicos com metisergida e tropanil diclorobenzoato, associado aos obtidos com a injeção de cloridrato de serotonina reforçam a participação de receptores serotoninérgicos no mecanismo de ação da CI. Os animais tratados com CI + salina apresentaram tamanho de efeito anti-hiperalgésico muito grande, assim como os animais tratados com o cloridrato de serotonina. Além disso, o percentual de inibição nociceptiva apontou que a aplicação da CI apresentou efeito inibitório da hiperalgesia muito próximo ao promovido pelo agonista serotoninérgico. Esses dados permitem inferir que o tratamento com a corrente, no protocolo utilizado, foi eficaz enquanto terapia analgésica, assim como a administração do fármaco agonista na dose selecionada.

Como já citado, fármacos que prolongam a atividade de monoaminas (serotonina, norepinefrina e dopamina) são comumente utilizados na clínica para tratamento de condições dolorosas (KHOUZAM, 2016). Alguns efeitos adversos provocados por fármacos que aumentam o tempo de atividade serotoninérgica na fenda sináptica devem ser destacados. O uso de inibidores de recaptação de serotonina aumenta o risco de sangramento anormal por diminuição da serotonina plaquetária (ANDRADE; SHARMA, 2016). O local de sangramento mais comum é o trato gastrointestinal superior, pois, o uso desses fármacos aumenta a acidez gástrica e o risco de ulceração gástrica (ANDRADE; SHARMA, 2016).

Uma revisão com metanálise que avaliou a associação entre inibidores seletivos da recaptação da serotonina e alterações no eletrocardiograma em humanos concluiu que o uso desses fármacos foi associado a aumento do intervalo entre a onda Q (representação gráfica do início da despolarização ventricular) e a onda T (representação da repolarização ventricular), embora em menor grau do que os antidepressivos tricíclicos (BEACH *et al.*, 2014). O intervalo QT reflete a atividade elétrica ventricular, seu prolongamento está associado à precipitação da “torsade de pointes”, uma taquicardia ventricular polimórfica que pode causar morte súbita (KALLERGIS *et al.*, 2012).

Já que o tratamento com CI e com o agonista serotoninérgico tiveram efeito antinociceptivo semelhante, sugere-se que o uso da corrente como terapia complementar para redução das doses dos fármacos, ou ainda, em substituição ao tratamento farmacológico pode ser uma estratégia visando reduzir os efeitos adversos decorrentes do tratamento medicamentoso. Ensaios clínicos randomizados que objetivem avaliar essa hipótese devem ser realizados. É necessário destacar que até o momento não foram identificados efeitos adversos do tratamento com a corrente, necessitando de estudos adicionais.

No que tange à atividade locomotora, os presentes resultados mostraram que o tratamento com a CI em intensidade motora não interferiu na distância percorrida pelos animais. A hipótese traçada nessa pesquisa em relação aos efeitos da CI na atividade motora, era que a aplicação dessa corrente promovesse melhora do deslocamento espontâneo dos animais devido à ação antinociceptiva. Contudo, torna-se relevante citar que o modelo pré-clínico utilizado promove processo inflamatório exacerbado que leva a grande limitação funcional devido ao edema acentuado (SLUKA; WESTLUND, 1993). Sugere-se que, mesmo com o efeito anti-hiperalgésico promovido pela corrente, a limitação funcional tenha impedido o aumento do deslocamento dos animais.

Resultados distintos foram obtidos em um estudo que mostrou que o tratamento com a CI em intensidade motora, mas não sensorial, levou à redução da distância percorrida em relação ao momento pré-tratamento, utilizando os mesmos parâmetros da corrente estabelecidos no presente estudo (CRUZ, 2019). É necessário ressaltar, porém, que o intervalo entre o tratamento com a corrente e a avaliação comportamental na presente pesquisa foi de uma hora, enquanto no estudo supracitado, a avaliação ocorreu 15 minutos após a intervenção. Sugere-se que, no corte de tempo estabelecido no atual estudo, não houve efeito da CI no desempenho motor, o que não impede a ocorrência de alterações antes desse período. O intervalo de tempo para a reavaliação pode ter ultrapassado o tempo do efeito da corrente no músculo. Pesquisas futuras são necessárias para comprovação dessa hipótese.

Outros autores estabeleceram a relação do uso de terapias elétricas com o músculo, mostrando que, a depender dos parâmetros aplicados, pode ocorrer fadiga muscular (BIZID *et al.*, 2009; GORGEY *et al.*, 2009; DOUCET; LAM; GRIFFIN, 2012). A contração muscular obtida por estimulação elétrica em frequências mais altas que as fisiológicas (acima de 50 Hz), podem produzir fadiga de alta frequência, caracterizada por redução da força muscular, de recuperação rápida após cessado o estímulo elétrico, diferente da fadiga muscular fisiológica. Esse fenômeno pode ser explicado, em parte, pelo esgotamento de neurotransmissores na junção neuromuscular ou até mesmo por falha de transmissão dos potenciais de ação pelos túbulos transversos em resposta à alta estimulação (WARD, 2009). Essas informações corroboram a hipótese de que o intervalo entre a aplicação da corrente e a avaliação da distância percorrida pelos animais pode alterar as respostas encontradas. Levando em consideração que a fadiga de alta frequência tem recuperação rápida após cessado o estímulo elétrico, isso pode explicar os resultados do presente estudo.

Em um ensaio clínico randomizado que avaliou os efeitos da CI em indivíduos com sequelas de acidente vascular encefálico com espasticidade em flexão plantar, pôde-se observar

que o tratamento com CI em intensidade sensorial (FAM: 100 Hz) por 60 minutos com os eletrodos aplicados no gastrocnêmio, reduziu a hipertonía desse músculo, indicando possível efeito relaxante muscular promovido pela corrente. Tendo em vista os resultados contraditórios entre a presente pesquisa e as demais citadas, torna-se relevante a realização de estudos para melhor compreensão dos efeitos biológicos da corrente no tecido muscular e consequentemente maior segurança no direcionamento do tratamento, considerando os seus efeitos secundários.

Esse estudo se propôs a avaliar a participação de receptores serotoninérgicos (5-HT₁, 5-HT₂ e 5-HT₃) e α_2 -adrenérgicos no mecanismo de ação da CI, contudo, algumas limitações devem ser destacadas. Primeiro, a participação dos receptores 5-HT₁ e 5-HT₂ foi avaliada utilizando um único antagonista, o que não exclui a possibilidade de somente um desses receptores mediar a ação anti-hiperalgésica da CI. Além disso, não foram avaliados os subtipos de receptores serotoninérgicos e α_2 -adrenérgicos, o que permitiria a identificação precisa do receptor pelo qual a CI promove seu efeito. Essas investigações não foram realizadas devido a indisponibilidade de recursos financeiros suficientes para a aquisição de fármacos.

Outra limitação incluiu a não investigação do efeito da CI em associação ao bloqueio de receptores serotoninérgicos e noradrenérgicos espinais na hiperalgesia mecânica primária. Esses dados poderiam fornecer informações quanto a efeitos da CI na sensibilização periférica em animais com inflamação articular, dados ainda não mostrados na literatura científica. A limitação pode ser justificada pela indisponibilidade do aparelho de mensuração da hiperalgesia mecânica primária no laboratório.

A realização desse estudo permitiu elucidar parte do mecanismo de ação da CI, atribuindo seu efeito anti-hiperalgésico à ativação de receptores serotoninérgicos (5-HT₁, 5-HT₂ e 5-HT₃). Para a comunidade científica, os resultados da presente pesquisa fortalecem as bases científicas da eletroterapia, direcionam o desenvolvimento de novas pesquisas e, principalmente, fornecem informações relevantes para a condução de tratamentos clínicos que utilizem a corrente interferencial.

A identificação das diferentes vias ativadas pela CI para o desenvolvimento de efeitos biológicos é de grande relevância, pois respalda a indicação ou contraindicação do tratamento pelo profissional. Translacionando os resultados desse estudo para a prática clínica, sugere-se que a CI provavelmente pode ser usada como terapia analgésica para o tratamento de pacientes com condições dolorosas que se beneficiam do uso de inibidores de recaptação de serotonina, inibidores de recaptação de serotonina e norepinefrina e antidepressivos tricíclicos, considerando as particularidades na condução terapêutica de cada paciente de forma singular.

Como perspectivas para estudos posteriores, sugere-se a investigação do bloqueio farmacológico de receptores noradrenérgicos e serotoninérgicos supraespinais e periféricos no efeito antinociceptivo da CI, investigação do efeito dessa corrente na atividade muscular e atividade inflamatória, além de outros efeitos biológicos da aplicação da corrente interferencial.

7. CONCLUSÃO

Diante dos resultados encontrados nesse estudo, conclui-se que o efeito antinociceptivo da corrente interferencial em intensidade motora no tratamento de ratos *Wistar* machos com inflamação articular é mediado pela ativação espinal de receptores 5-HT₁, 5-HT₂ e 5-HT₃, mas não por receptores α_2 -adrenérgicos.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, F. V.; HONG, Y.; BLIER, P. Activation of 5-HT_{2A} receptors potentiates pain produced by inflammatory mediators. *Neuropharmacology*, v. 35, n. 1, p. 99–110, jan. 1996.
- ABOLS, I. A.; BASBAUM, A. I. Afferent connections of the rostral medulla of the cat: a neural substrate for midbrain-medullary interactions in the modulation of pain. *The Journal of Comparative Neurology*, v. 201, n. 2, p. 285–297, 10 set. 1981.
- ADEDOYIN, R. A.; OLAOGUN, M. O. B.; OYEYEMI, A. L. Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation and Interferential Current Combined with Exercise for the Treatment of Knee Osteoarthritis: A Randomised Controlled Trial. *Hong Kong Physiotherapy Journal*, v. 23, n. 1, p. 13–19, 1 jan. 2005.
- ALBORNOZ-CABELLO, M. *et al.* Effect of interferential current therapy on pain perception and disability level in subjects with chronic low back pain: a randomized controlled trial. *Clinical Rehabilitation*, v. 31, n. 2, p. 242–249, fev. 2017.
- ALI, Z. *et al.* The actions of 5-HT₁ agonists and antagonists on nociceptive processing in the rat spinal cord: results from behavioural and electrophysiological studies. *Brain Research*, v. 661, n. 1–2, p. 83–90, 24 out. 1994.
- ALMEIDA, C. C. DE *et al.* Transcutaneous electrical nerve stimulation and interferential current demonstrate similar effects in relieving acute and chronic pain: a systematic review with meta-analysis. *Brazilian Journal of Physical Therapy*, v. 22, n. 5, p. 347–354, 2018.
- ALMEIDA, F. R. *et al.* Chronic intrathecal cannulation enhances nociceptive responses in rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research = Revista Brasileira De Pesquisas Medicas E Biologicas*, v. 33, n. 8, p. 949–956, ago. 2000.
- ALMEIDA, T. F. *et al.* The effect of combined therapy (ultrasound and interferential current) on pain and sleep in fibromyalgia. *Pain*, v. 104, n. 3, p. 665–672, ago. 2003.
- ALQUALO-COSTA, R. *et al.* Low-level laser therapy and interferential current in patients with knee osteoarthritis: a randomized controlled trial protocol. *Pain Management*, v. 8, n. 3, p. 157–166, maio 2018.
- AMBROSE, K. R.; GOLIGHTLY, Y. M. Physical exercise as non-pharmacological treatment of chronic pain: Why and when. *Best Practice & Research. Clinical Rheumatology*, v. 29, n. 1, p. 120–130, fev. 2015.
- ANDRADE, C.; SHARMA, E. Serotonin Reuptake Inhibitors and Risk of Abnormal Bleeding. *The Psychiatric Clinics of North America*, v. 39, n. 3, p. 413–426, 2016.
- ARAÚJO, F. M. *Efeito da corrente interferencial na fibromialgia : ensaio clínico randomizado*. 2015. Mestrado – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2015. Disponível em: <<http://ri.ufs.br/jspui/handle/riufs/3978>>. Acesso em: 5 jan. 2019.

ARCHER, K. R. *et al.* Cognitive-Behavioral-Based Physical Therapy for Patients With Chronic Pain Undergoing Lumbar Spine Surgery: A Randomized Controlled Trial. *The Journal of Pain: Official Journal of the American Pain Society*, v. 17, n. 1, p. 76–89, 2016.

ASANTE, C. O.; DICKENSON, A. H. Descending serotonergic facilitation mediated by spinal 5-HT₃ receptors engages spinal rapamycin-sensitive pathways in the rat. *Neuroscience Letters*, v. 484, n. 2–2, p. 108–112, 29 out. 2010.

ATAMAZ, F. C. *et al.* Comparison of the efficacy of transcutaneous electrical nerve stimulation, interferential currents, and shortwave diathermy in knee osteoarthritis: a double-blind, randomized, controlled, multicenter study. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, v. 93, n. 5, p. 748–756, maio 2012a.

ATAMAZ, F. C. *et al.* *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, v. 93, n. 5, p. 748–756, maio 2012b.

AZEVEDO, L. F. *et al.* Epidemiology of chronic pain: a population-based nationwide study on its prevalence, characteristics and associated disability in Portugal. *The Journal of Pain: Official Journal of the American Pain Society*, v. 13, n. 8, p. 773–783, ago. 2012.

BABA, H. *et al.* Norepinephrine facilitates inhibitory transmission in substantia gelatinosa of adult rat spinal cord (part 2): effects on somatodendritic sites of GABAergic neurons. *Anesthesiology*, v. 92, n. 2, p. 485–492, fev. 2000.

BALL, E. F. *et al.* Does mindfulness meditation improve chronic pain? A systematic review. *Current Opinion in Obstetrics & Gynecology*, v. 29, n. 6, p. 359–366, dez. 2017.

BANNISTER, K.; DICKENSON, A. H. What do monoamines do in pain modulation? *Current Opinion in Supportive and Palliative Care*, v. 10, n. 2, p. 143–148, 2016.

BARDIN, L. *et al.* Effect of intrathecal administration of serotonin in chronic pain models in rats. *European Journal of Pharmacology*, v. 409, n. 1, p. 37–43, 1 dez. 2000.

BARDIN, L. *et al.* In the formalin model of tonic nociceptive pain, 8-OH-DPAT produces 5-HT_{1A} receptor-mediated, behaviorally specific analgesia. *European Journal of Pharmacology*, v. 421, n. 2, p. 109–114, 8 jun. 2001.

BARDIN, L.; LAVARENNE, J.; ESCHALIER, A. Serotonin receptor subtypes involved in the spinal antinociceptive effect of 5-HT in rats. *Pain*, v. 86, n. 1–2, p. 11–18, maio 2000.

BEACH, S. R. *et al.* Meta-analysis of selective serotonin reuptake inhibitor-associated QTc prolongation. *The Journal of Clinical Psychiatry*, v. 75, n. 5, p. e441–449, maio 2014.

BEATTI, A.; CABOT, P. J.; CHIPCHASE, L. S. Effect of low frequency of interferential therapy on plasma beta-endorphin levels in rats. *Physiotherapy Practice and Research*, v. 33, n. 2, p. 97–104, 1 jan. 2012.

BERGER, M.; GRAY, J. A.; ROTH, B. L. The expanded biology of serotonin. *Annual Review of Medicine*, v. 60, p. 355–366, 2009.

BIZID, R. *et al.* Effects of fatigue induced by neuromuscular electrical stimulation on postural control. *Journal of Science and Medicine in Sport*, v. 12, n. 1, p. 60–66, 1 jan. 2009.

BOLDT, I. *et al.* Non-pharmacological interventions for chronic pain in people with spinal cord injury. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, n. 11, p. CD009177, 28 nov. 2014.

BONNEFONT, J. *et al.* Spinal 5-HT_{1A} receptors differentially influence nociceptive processing according to the nature of the noxious stimulus in rats: effect of WAY-100635 on the antinociceptive activities of paracetamol, venlafaxine and 5-HT. *Pain*, v. 114, n. 3, p. 482–490, abr. 2005.

BORENSTEIN, D. G.; HASSETT, A. L.; PISETSKY, D. Pain management in rheumatology research, training, and practice. *Clinical and Experimental Rheumatology*, v. 35 Suppl 107, n. 5, p. 2–7, out. 2017.

BRADLEY, L. A. Pathophysiology of fibromyalgia. *The American Journal of Medicine*, v. 122, n. 12 Suppl, p. S22–30, dez. 2009.

BREIVIK, H. *et al.* Survey of chronic pain in Europe: prevalence, impact on daily life, and treatment. *European Journal of Pain (London, England)*, v. 10, n. 4, p. 287–333, maio 2006.

BRITO, R. G.; RASMUSSEN, L. A.; SLUKA, K. A. Regular physical activity prevents development of chronic muscle pain through modulation of supraspinal opioid and serotonergic mechanisms. *Pain Reports*, v. 2, n. 5, 21 ago. 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5777681/>>. Acesso em: 30 jan. 2019.

CHAI, W. *et al.* Electroacupuncture Alleviates Pain Responses and Inflammation in a Rat Model of Acute Gout Arthritis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: eCAM*, v. 2018, p. 2598975, 2018.

CHEING, G. L. Y.; HUI-CHAN, C. W. Y. Analgesic effects of transcutaneous electrical nerve stimulation and interferential currents on heat pain in healthy subjects. *Journal of Rehabilitation Medicine*, v. 35, n. 1, p. 15–19, jan. 2003.

COGGESHALL, R. E. *et al.* Discharge characteristics of fine medial articular afferents at rest and during passive movements of inflamed knee joints. *Brain Research*, v. 272, n. 1, p. 185–188, 1 ago. 1983.

COHEN, J. A power primer. *Psychological Bulletin*, v. 112, n. 1, p. 155–159, 1992a.

COHEN, J. Statistical Power Analysis. *Current Directions in Psychological Science*, v. 1, n. 3, p. 98–101, 1 jun. 1992b.

COHEN, J. *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences*. 2^a ed. Department of Psychology, New York University: Lawrence Erlbaum Associates, Publishers, 1988.

COLPAERT, F. C. 5-HT_{1A} receptor activation: new molecular and neuroadaptive mechanisms of pain relief. *Current Opinion in Investigational Drugs (London, England: 2000)*, v. 7, n. 1, p. 40–47, jan. 2006.

CORRÊA, J. B. *et al.* Effects of the carrier frequency of interferential current on pain modulation and central hypersensitivity in people with chronic nonspecific low back pain: A randomized placebo-controlled trial. *European Journal of Pain (London, England)*, v. 20, n. 10, p. 1653–1666, 2016.

CORTES-ALTAMIRANO, J. L. *et al.* Review: 5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃ and 5-HT₇ Receptors and their Role in the Modulation of Pain Response in the Central Nervous System. *Current Neuropharmacology*, v. 16, n. 2, p. 210–221, 30 jan. 2018.

CRUZ, K. M. L. *Efeitos biológicos e mecanismos de ação da corrente interferencial na antinocicepção de ratos artríticos*. 2019. Tese (Doutorado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2019.

CRUZ, K. M. L. *O efeito antinociceptivo da corrente interferencial não é mediado por receptores opióides mu e delta espinhais e supraespinhais em ratos artríticos*. 2014. 60 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2014.

DAILEY, D. L. *et al.* Transcutaneous electrical nerve stimulation reduces pain, fatigue and hyperalgesia while restoring central inhibition in primary fibromyalgia. *Pain*, v. 154, n. 11, p. 2554–2562, nov. 2013.

DE FELICE, M.; OSSIPOV, M. H. Cortical and subcortical modulation of pain. *Pain Management*, v. 6, n. 2, p. 111–120, abr. 2016.

DE LOS MONTEROS-ZUÑIGA, A. E. *et al.* Anti-allodynic effect of mangiferin in neuropathic rats: Involvement of nitric oxide-cyclic GMP-ATP sensitive K⁺ channels pathway and serotonergic system. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, v. 150–151, p. 190–197, dez. 2016.

DEFERIN, R.; ARIEL, E.; PERETZ, C. gundog. *Pain*, v. 115, n. 1–2, p. 152–160, maio 2005.

DEMİRTÜRK, F. *et al.* Interferential current versus biofeedback results in urinary stress incontinence. *Swiss Medical Weekly*, v. 138, n. 21–22, p. 317–321, 31 maio 2008.

DESANTANA, J. *et al.* Electrical stimulation reduces secondary mechanical hyperalgesia in a non-inflammatory pain model in rats. *The Journal of Pain*, v. 12, n. 4, p. P72, 1 abr. 2011.

DESANTANA, J. M. *et al.* Transcutaneous electrical nerve stimulation at both high and low frequencies activates ventrolateral periaqueductal grey to decrease mechanical hyperalgesia in arthritic rats. *Neuroscience*, v. 163, n. 4, p. 1233–1241, 10 nov. 2009.

DESANTANA, J. M.; DA SILVA, L. F. S.; SLUKA, K. A. Cholecystokinin receptors mediate tolerance to the analgesic effect of TENS in arthritic rats. *Pain*, v. 148, n. 1, p. 84–93, jan. 2010.

DESANTANA, J. M.; SLUKA, K. A. Central mechanisms in the maintenance of chronic widespread noninflammatory muscle pain. *Current Pain and Headache Reports*, v. 12, n. 5, p. 338–343, out. 2008.

D'MELLO, R.; DICKENSON, A. H. Spinal cord mechanisms of pain. *BJA: British Journal of Anaesthesia*, v. 101, n. 1, p. 8–16, 1 jul. 2008.

DOGRUL, A.; OSSIPOV, M. H.; PORRECA, F. Differential mediation of descending pain facilitation and inhibition by spinal 5HT-3 and 5HT-7 receptors. *Brain Research*, v. 1280, p. 52–59, 14 jul. 2009.

DOLHEM, R. Histoire de l'électrostimulation en médecine et en rééducation. *Annales de Réadaptation et de Médecine Physique*, v. 51, n. 6, p. 427–431, 1 jul. 2008.

DOLY, S. *et al.* The 5-HT_{2A} receptor is widely distributed in the rat spinal cord and mainly localized at the plasma membrane of postsynaptic neurons. *The Journal of Comparative Neurology*, v. 472, n. 4, p. 496–511, 10 maio 2004.

DOUCET, B. M.; LAM, A.; GRIFFIN, L. Neuromuscular Electrical Stimulation for Skeletal Muscle Function. *The Yale Journal of Biology and Medicine*, v. 85, n. 2, p. 201–215, 25 jun. 2012.

DOUNAVI, M. D.; CHESTERTON, L. S.; SIM, J. Effects of interferential therapy parameter combinations upon experimentally induced pain in pain-free participants: a randomized controlled trial. *Physical Therapy*, v. 92, n. 7, p. 911–923, jul. 2012.

EISENACH, J. C. *et al.* Epidural clonidine analgesia for intractable cancer pain. The Epidural Clonidine Study Group. *Pain*, v. 61, n. 3, p. 391–399, jun. 1995.

EISENACH, J. C.; HOOD, D. D.; CURRY, R. Intrathecal, but not intravenous, clonidine reduces experimental thermal or capsaicin-induced pain and hyperalgesia in normal volunteers. *Anesthesia and Analgesia*, v. 87, n. 3, p. 591–596, set. 1998.

ELNAGGAR, R. K.; ELSHAFFEY, M. A. Effects of Combined Resistive Underwater Exercises and Interferential Current Therapy in Patients with Juvenile Idiopathic Arthritis: A Randomized Controlled Trial. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*, v. 95, n. 2, p. 96–102, fev. 2016.

ESPIRITO SANTO, H.; DANIEL, F. B. Calcular e apresentar tamanhos do efeito em trabalhos científicos (1): As limitações do $p < 0,05$ na análise de diferenças de médias de dois grupos. *Revista Portuguesa de Investigação Comportamental e Social*, v. 1, n. 1, p. 3–16, 28 fev. 2015.

FACCI, L. M. *et al.* Effects of transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) and interferential currents (IFC) in patients with nonspecific chronic low back pain: randomized clinical trial. *Sao Paulo Medical Journal = Revista Paulista De Medicina*, v. 129, n. 4, p. 206–216, 2011.

FRANCO, Y. R. *et al.* Does the use of interferential current prior to pilates exercises accelerate improvement of chronic nonspecific low back pain? *Pain Management*, v. 8, n. 6, p. 465–474, 1 nov. 2018.

FURUTA, T. *et al.* Interferential electric stimulation applied to the neck increases swallowing frequency. *Dysphagia*, v. 27, n. 1, p. 94–100, mar. 2012.

GALDINO, G. S.; DUARTE, I. D.; PEREZ, A. C. Central release of nitric oxide mediates antinociception induced by aerobic exercise. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research = Revista Brasileira De Pesquisas Medicas E Biologicas*, v. 48, n. 9, p. 790–797, set. 2015.

GALDINO, GIOVANE S. *et al.* The Nitric oxide/CGMP/KATP pathway mediates systemic and central antinociception induced by resistance exercise in rats. *The International Journal of Neuroscience*, v. 125, n. 10, p. 765–773, 2015.

- GANNE, J. M. Interferential therapy. *The Australian Journal of Physiotherapy*, v. 22, n. 3, p. 101–110, set. 1976.
- GASSNER, M.; RUSCHEWEYH, R.; SANDKÜHLER, J. Direct excitation of spinal GABAergic interneurons by noradrenaline. *Pain*, v. 145, n. 1–2, p. 204–210, set. 2009.
- GENEEN, L. J. *et al.* Physical activity and exercise for chronic pain in adults: an overview of Cochrane Reviews. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, v. 1, p. CD011279, 14 2017.
- GERSHON, M. D. *et al.* 5-HT receptor subtypes outside the central nervous system. Roles in the physiology of the gut. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, v. 3, n. 5–6, p. 385–395, dez. 1990.
- GJERSTAD, J.; TJØLSEN, A.; HOLE, K. A dual effect of 5-HT_{1B} receptor stimulation on nociceptive dorsal horn neurones in rats. *European Journal of Pharmacology*, v. 335, n. 2–3, p. 127–132, 24 set. 1997.
- GLAZER, E. J.; BASBAUM, A. I. Immunohistochemical localization of leucine-enkephalin in the spinal cord of the cat: enkephalin-containing marginal neurons and pain modulation. *The Journal of Comparative Neurology*, v. 196, n. 3, p. 377–389, 1 mar. 1981.
- GORGEY, A. S. *et al.* Effects of electrical stimulation parameters on fatigue in skeletal muscle. *The Journal of Orthopaedic and Sports Physical Therapy*, v. 39, n. 9, p. 684–692, set. 2009.
- GUNDOG, M. *et al.* Interferential current therapy in patients with knee osteoarthritis: comparison of the effectiveness of different amplitude-modulated frequencies. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*, v. 91, n. 2, p. 107–113, fev. 2012.
- HAGIWARA, S. *et al.* Mechanisms of analgesic action of pulsed radiofrequency on adjuvant-induced pain in the rat: roles of descending adrenergic and serotonergic systems. *European Journal of Pain (London, England)*, v. 13, n. 3, p. 249–252, mar. 2009.
- HAINS, B. C.; WILLIS, W. D.; HULSEBOSCH, C. E. Serotonin receptors 5-HT_{1A} and 5-HT₃ reduce hyperexcitability of dorsal horn neurons after chronic spinal cord hemisection injury in rat. *Experimental Brain Research*, v. 149, n. 2, p. 174–186, mar. 2003.
- HEDLUND, P. B.; SUTCLIFFE, J. G. Functional, molecular and pharmacological advances in 5-HT₇ receptor research. *Trends in Pharmacological Sciences*, v. 25, n. 9, p. 481–486, set. 2004.
- HEIDLAND, A. *et al.* Neuromuscular electrostimulation techniques: historical aspects and current possibilities in treatment of pain and muscle wasting. *Clinical Nephrology*, v. 79 Suppl 1, p. S12–23, jan. 2013.
- HEINRICHER, M. M. *et al.* Descending control of nociception: Specificity, recruitment and plasticity. *Brain Research Reviews*, v. 60, n. 1, p. 214–225, abr. 2009.
- HENSCHKE, N.; KAMPER, S. J.; MAHER, C. G. The epidemiology and economic consequences of pain. *Mayo Clinic Proceedings*, v. 90, n. 1, p. 139–147, jan. 2015.

HILTON, L. *et al.* Mindfulness Meditation for Chronic Pain: Systematic Review and Meta-analysis. *Annals of Behavioral Medicine: A Publication of the Society of Behavioral Medicine*, v. 51, n. 2, p. 199–213, abr. 2017.

HINGNE, P. M.; SLUKA, K. A. Blockade of NMDA receptors prevents analgesic tolerance to repeated transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) in rats. *The Journal of Pain: Official Journal of the American Pain Society*, v. 9, n. 3, p. 217–225, mar. 2008.

HOLDEN, J. E.; SCHWARTZ, E. J.; PROUDFIT, H. K. Microinjection of morphine in the A7 catecholamine cell group produces opposing effects on nociception that are mediated by alpha1- and alpha2-adrenoceptors. *Neuroscience*, v. 91, n. 3, p. 979–990, 1999.

HORIUCHI, H. *et al.* Serotonergic signaling inhibits hyperalgesia induced by spinal cord damage. *Brain Research*, v. 963, n. 1, p. 312–320, 14 fev. 2003.

HYLDEN, J. L.; WILCOX, G. L. Intrathecal morphine in mice: a new technique. *European Journal of Pharmacology*, v. 67, n. 2–3, p. 313–316, 17 out. 1980.

JANN, M. W.; SLADE, J. H. Antidepressant agents for the treatment of chronic pain and depression. *Pharmacotherapy*, v. 27, n. 11, p. 1571–1587, nov. 2007.

JARIT, G. J. *et al.* The effects of home interferential therapy on post-operative pain, edema, and range of motion of the knee. *Clinical Journal of Sport Medicine: Official Journal of the Canadian Academy of Sport Medicine*, v. 13, n. 1, p. 16–20, jan. 2003a.

JARIT, G. J. *et al.* The effects of home interferential therapy on post-operative pain, edema, and range of motion of the knee. *Clinical Journal of Sport Medicine: Official Journal of the Canadian Academy of Sport Medicine*, v. 13, n. 1, p. 16–20, jan. 2003b.

JEONG, H.-J.; MITCHELL, V. A.; VAUGHAN, C. W. Role of 5-HT₁ receptor subtypes in the modulation of pain and synaptic transmission in rat spinal superficial dorsal horn. *British Journal of Pharmacology*, v. 165, n. 6, p. 1956–1965, mar. 2012.

JOHANNES, C. B. *et al.* The prevalence of chronic pain in United States adults: results of an Internet-based survey. *The Journal of Pain: Official Journal of the American Pain Society*, v. 11, n. 11, p. 1230–1239, nov. 2010.

JOHNSON, M. I.; TABASAM, G. An investigation into the analgesic effects of interferential currents and transcutaneous electrical nerve stimulation on experimentally induced ischemic pain in otherwise pain-free volunteers. *Physical Therapy*, v. 83, n. 3, p. 208–223, mar. 2003.

JORGE, S. *et al.* Interferential therapy produces antinociception during application in various models of inflammatory pain. *Physical Therapy*, v. 86, n. 6, p. 800–808, jun. 2006.

JUNIOR, N. F. Universidade do Vale do Paraíba Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento. p. 100, [S.d.].

KALLERGIS, E. M. *et al.* Mechanisms, risk factors, and management of acquired long QT syndrome: a comprehensive review. *TheScientificWorldJournal*, v. 2012, p. 212178, 2012.

KALRA, A.; URBAN, M. O.; SLUKA, K. A. Blockade of opioid receptors in rostral ventral medulla prevents antihyperalgesia produced by transcutaneous electrical nerve stimulation

(TENS). *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 298, n. 1, p. 257–263, jul. 2001.

KHOUZAM, H. R. Psychopharmacology of chronic pain: a focus on antidepressants and atypical antipsychotics. *Postgraduate Medicine*, v. 128, n. 3, p. 323–330, 2016.

KING, E. W. *et al.* Transcutaneous electrical nerve stimulation activates peripherally located alpha-2A adrenergic receptors. *Pain*, v. 115, n. 3, p. 364–373, jun. 2005a.

KING, E. W. *et al.* Transcutaneous electrical nerve stimulation activates peripherally located alpha-2A adrenergic receptors. *Pain*, v. 115, n. 3, p. 364–373, jun. 2005b.

KNOERL, R.; LAVOIE SMITH, E. M.; WEISBERG, J. Chronic Pain and Cognitive Behavioral Therapy: An Integrative Review. *Western Journal of Nursing Research*, v. 38, n. 5, p. 596–628, maio 2016.

KUKKONEN, J. P.; JANSSON, C. C.; ÅKERMAN, K. E. O. Agonist trafficking of Gi/o-mediated α 2A-adrenoceptor responses in HEL 92.1.7 cells. *British Journal of Pharmacology*, v. 132, n. 7, p. 1477–1484, abr. 2001.

KUMAR, K.; RIZVI, S. Historical and present state of neuromodulation in chronic pain. *Current Pain and Headache Reports*, v. 18, n. 1, p. 387, jan. 2014.

KUNER, R. Central mechanisms of pathological pain. *Nature Medicine*, v. 16, n. 11, p. 1258–1266, nov. 2010.

KWON, M. *et al.* The role of descending inhibitory pathways on chronic pain modulation and clinical implications. *Pain Practice: The Official Journal of World Institute of Pain*, v. 14, n. 7, p. 656–667, set. 2014.

LAPORTE, A. M. *et al.* Effects of dorsal rhizotomy and selective lesion of serotonergic and noradrenergic systems on 5-HT1A, 5-HT1B, and 5-HT3 receptors in the rat spinal cord. *Journal of Neural Transmission. General Section*, v. 100, n. 3, p. 207–223, 1995.

LEE, J.-H. *et al.* Serotonergic mechanism of the relieving effect of bee venom acupuncture on oxaliplatin-induced neuropathic cold allodynia in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, v. 14, 6 dez. 2014. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4295325/>>. Acesso em: 22 maio 2019.

LI, P.; ZHUO, M. Cholinergic, noradrenergic, and serotonergic inhibition of fast synaptic transmission in spinal lumbar dorsal horn of rat. *Brain Research Bulletin*, v. 54, n. 6, p. 639–647, abr. 2001.

MA, Q. P. Co-localization of 5-HT(1B/1D/1F) receptors and glutamate in trigeminal ganglia in rats. *Neuroreport*, v. 12, n. 8, p. 1589–1591, 13 jun. 2001.

MA, Q. P.; HILL, R.; SIRINATHSINGHI, D. Colocalization of CGRP with 5-HT1B/1D receptors and substance P in trigeminal ganglion neurons in rats. *The European Journal of Neuroscience*, v. 13, n. 11, p. 2099–2104, jun. 2001.

MACDONALD, A. J. R. A brief review of the history of electrotherapy and its union with acupuncture. *Acupuncture in Medicine*, v. 11, n. 2, p. 66–75, 1 nov. 1993.

MAEDA, K.; KOGA, T.; AKAGI, J. Interferential current sensory stimulation, through the neck skin, improves airway defense and oral nutrition intake in patients with dysphagia: a double-blind randomized controlled trial. *Clinical Interventions in Aging*, v. 12, p. 1879–1886, 7 nov. 2017.

MARLIER, L. *et al.* Autoradiographic mapping of 5-HT₁, 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} and 5-HT₂ receptors in the rat spinal cord. *Brain Research*, v. 550, n. 1, p. 15–23, 31 maio 1991.

MAUROY, B. *et al.* [Long-term results of interferential current stimulation in the treatment of bladder instability]. *Progres En Urologie: Journal De l'Association Francaise D'urologie Et De La Societe Francaise D'urologie*, v. 11, n. 1, p. 34–39, fev. 2001.

MCCORVY, J. D.; ROTH, B. L. Structure and function of serotonin G protein-coupled receptors. *Pharmacology & Therapeutics*, v. 150, p. 129–142, jun. 2015.

MELZACK, R.; WALL, P. D. Pain Mechanisms: A New Theory. *Science*, v. 150, n. 3699, p. 971–979, 19 nov. 1965.

MICO, J. A. *et al.* The role of 5-HT_{1A} receptors in research strategy for extensive pain treatment. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, v. 6, n. 18, p. 1997–2003, 2006.

MILLAN, M. J. The induction of pain: an integrative review. *Progress in Neurobiology*, v. 57, n. 1, p. 1–164, jan. 1999.

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

MINDER, P. M. *et al.* Interferential therapy: lack of effect upon experimentally induced delayed onset muscle soreness. *Clinical Physiology and Functional Imaging*, v. 22, n. 5, p. 339–347, set. 2002.

MITSIKOSTAS, D. D.; SANCHEZ DEL RIO, M. Receptor systems mediating c-fos expression within trigeminal nucleus caudalis in animal models of migraine. *Brain Research. Brain Research Reviews*, v. 35, n. 1, p. 20–35, mar. 2001.

MOORE, J. S.; GIBSON, P. R.; BURGELL, R. E. Neuromodulation via Interferential Electrical Stimulation as a Novel Therapy in Gastrointestinal Motility Disorders. *Journal of Neurogastroenterology and Motility*, v. 24, n. 1, p. 19–29, jan. 2018.

MORALES, M. *et al.* Cellular and subcellular immunolocalization of the type 3 serotonin receptor in the rat central nervous system. *Molecular Brain Research*, v. 36, n. 2, p. 251–260, 1 mar. 1996.

MORETTI, F. A. *et al.* Combined therapy (ultrasound and interferential current) in patients with fibromyalgia: once or twice in a week? *Physiotherapy Research International: The Journal for Researchers and Clinicians in Physical Therapy*, v. 17, n. 3, p. 142–149, set. 2012.

NAEGEL, S. *et al.* Polarity-specific modulation of pain processing by transcranial direct current stimulation - a blinded longitudinal fMRI study. *The Journal of Headache and Pain*, v. 19, n. 1, p. 99, 24 out. 2018.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. *Recognition and Alleviation of Pain in Laboratory Animals*. Washington, DC: The National Academies Press, 2009. Disponível em: <<https://www.nap.edu/catalog/12526/recognition-and-alleviation-of-pain-in-laboratory-animals>>.

NEIL, M. J. Clonidine: clinical pharmacology and therapeutic use in pain management. *Current Clinical Pharmacology*, v. 6, n. 4, p. 280–287, nov. 2011.

NEUGEBAUER, V.; SCHAIBLE, H. G. Peripheral and spinal components of the sensitization of spinal neurons during an acute experimental arthritis. *Agents and Actions*, v. 25, n. 3–4, p. 234–236, dez. 1988.

NICHOLS, D. E.; NICHOLS, C. D. Serotonin receptors. *Chemical Reviews*, v. 108, n. 5, p. 1614–1641, maio 2008.

OBATA, H. *et al.* Antiallodynic effects of intrathecally administered 5-HT(2C) receptor agonists in rats with nerve injury. *Pain*, v. 108, n. 1–2, p. 163–169, mar. 2004.

ODEH, F.; ANTAL, M. The projections of the midbrain periaqueductal grey to the pons and medulla oblongata in rats. *The European Journal of Neuroscience*, v. 14, n. 8, p. 1275–1286, out. 2001.

OKAMOTO, K. *et al.* The role of peripheral 5HT2A and 5HT1A receptors on the orofacial formalin test in rats with persistent temporomandibular joint inflammation. *Neuroscience*, v. 130, n. 2, p. 465–474, 2005.

OSSIPOV, M. H.; MORIMURA, K.; PORRECA, F. Descending pain modulation and chronification of pain. *Current opinion in supportive and palliative care*, v. 8, n. 2, p. 143–151, jun. 2014.

OZCAN, J.; WARD, A. R.; ROBERTSON, V. J. A comparison of true and premodulated interferential currents. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, v. 85, n. 3, p. 409–415, mar. 2004.

PARK, S.-H. *et al.* Antinociceptive profiles and mechanisms of centrally administered oxyntomodulin in various mouse pain models. *Neuropeptides*, v. 68, p. 7–14, abr. 2018.

PERTOVAARA, A. Noradrenergic pain modulation. *Progress in Neurobiology*, v. 80, n. 2, p. 53–83, out. 2006.

PIASCIK, M. T.; PEREZ, D. M. Alpha1-adrenergic receptors: new insights and directions. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 298, n. 2, p. 403–410, ago. 2001.

POSADZKI, P.; ERNST, E. Spinal manipulations for the treatment of migraine: a systematic review of randomized clinical trials. *Cephalgia: An International Journal of Headache*, v. 31, n. 8, p. 964–970, jun. 2011.

RADHAKRISHNAN *et al.* Spinal 5-HT2 and 5-HT3 receptors mediate low, but not high, frequency TENS-induced antihyperalgesia in rats. *Pain*, v. 105, n. 1–2, p. 205–213, set. 2003.

- RADHAKRISHNAN, R.; SLUKA, K. A. Spinal muscarinic receptors are activated during low or high frequency TENS-induced antihyperalgesia in rats. *Neuropharmacology*, v. 45, n. 8, p. 1111–1119, dez. 2003.
- RADHAKRISHNAN, RAJAN *et al.* Spinal 5-HT₂ and 5-HT₃ receptors mediate low, but not high, frequency TENS-induced antihyperalgesia in rats. *Pain*, v. 105, n. 1–2, p. 205–213, set. 2003.
- RAHMAN, W. *et al.* Descending serotonergic facilitation mediated through rat spinal 5HT₃ receptors is unaltered following carrageenan inflammation. *Neuroscience Letters*, v. 361, n. 1–3, p. 229–231, 6 maio 2004.
- RAJFUR, J. *et al.* Efficacy of Selected Electrical Therapies on Chronic Low Back Pain: A Comparative Clinical Pilot Study. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, v. 23, p. 85–100, 7 jan. 2017.
- RAY, R. S. *et al.* Impaired respiratory and body temperature control upon acute serotonergic neuron inhibition. *Science (New York, N.Y.)*, v. 333, n. 6042, p. 637–642, 29 jul. 2011.
- ROCHA, C. S. *et al.* Interferential therapy effect on mechanical pain threshold and isometric torque after delayed onset muscle soreness induction in human hamstrings. *Journal of Sports Sciences*, v. 30, n. 8, p. 733–742, 2012.
- ROSENBERG, M.; CARROLL, F.; NEGUS, S. Effects of Monoamine Reuptake Inhibitors in Assays of Acute Pain-Stimulated and Pain-Depressed Behavior in Rats. *The journal of pain : official journal of the American Pain Society*, v. 14, n. 3, p. 246–259, mar. 2013.
- ROSENTHAL, J. A. Qualitative Descriptors of Strength of Association and Effect Size. *Journal of Social Service Research*, v. 21, n. 4, p. 37–59, 11 out. 1996.
- RUFFOLO, R. R. *et al.* Pharmacologic and therapeutic applications of alpha 2-adrenoceptor subtypes. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, v. 33, p. 243–279, 1993.
- RUSSELL, I. J.; LARSON, A. A. Neurophysiopathogenesis of fibromyalgia syndrome: a unified hypothesis. *Rheumatic Diseases Clinics of North America*, v. 35, n. 2, p. 421–435, maio 2009.
- SASAKI, M. *et al.* Effects of 5-HT₂ and 5-HT₃ receptors on the modulation of nociceptive transmission in rat spinal cord according to the formalin test. *European Journal of Pharmacology*, v. 424, n. 1, p. 45–52, 13 jul. 2001.
- SASAKI, MASAYUKI *et al.* Peripheral 5-HT_{2A} receptor antagonism attenuates primary thermal hyperalgesia and secondary mechanical allodynia after thermal injury in rats. *Pain*, v. 122, n. 1–2, p. 130–136, maio 2006.
- SCHAIBLE, H. G.; SCHMIDT, R. F. Time course of mechanosensitivity changes in articular afferents during a developing experimental arthritis. *Journal of Neurophysiology*, v. 60, n. 6, p. 2180–2195, dez. 1988.
- SHANAHAN, C.; WARD, A. R.; ROBERTSON, V. J. Comparison of the analgesic efficacy of interferential therapy and transcutaneous electrical nerve stimulation. *Physiotherapy*, v. 92, n. 4, p. 247–253, 1 dez. 2006.

SILVA-FILHO, E. *et al.* Neuromodulation treats Chikungunya arthralgia: a randomized controlled trial. *Scientific Reports*, v. 8, n. 1, p. 16010, 30 out. 2018.

SIQUEIRA-LIMA, P. S. *et al.* Anti-hyperalgesic effect of Lippia grata leaf essential oil complexed with β -cyclodextrin in a chronic musculoskeletal pain animal model: Complemented with a molecular docking and antioxidant screening. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie*, v. 91, p. 739–747, jul. 2017.

SKYBA, D. A. *et al.* Joint manipulation reduces hyperalgesia by activation of monoamine receptors but not opioid or GABA receptors in the spinal cord. *Pain*, v. 106, n. 1–2, p. 159–168, nov. 2003.

SLAVIN, K. V. History of peripheral nerve stimulation. *Progress in Neurological Surgery*, v. 24, p. 1–15, 2011.

SLUKA, K. A. *et al.* Spinal blockade of opioid receptors prevents the analgesia produced by TENS in arthritic rats. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 289, n. 2, p. 840–846, maio 1999.

SLUKA, K. A. Systemic morphine in combination with TENS produces an increased antihyperalgesia in rats with acute inflammation. *The Journal of Pain: Official Journal of the American Pain Society*, v. 1, n. 3, p. 204–211, 2000.

SLUKA, K. A. *et al.* Treatment with either high or low frequency TENS reduces the secondary hyperalgesia observed after injection of kaolin and carrageenan into the knee joint. *Pain*, v. 77, n. 1, p. 97–102, jul. 1998.

SLUKA, K. A.; VANCE, C. G. T.; LISI, T. L. High-frequency, but not low-frequency, transcutaneous electrical nerve stimulation reduces aspartate and glutamate release in the spinal cord dorsal horn. *Journal of Neurochemistry*, v. 95, n. 6, p. 1794–1801, dez. 2005.

SLUKA, K. A.; WESTLUND, K. N. Behavioral and immunohistochemical changes in an experimental arthritis model in rats. *Pain*, PMID: 7510059, v. 55, n. 3, p. 367–377, dez. 1993.

SLUKA, KATHLEEN A.; CLAUW, D. J. Neurobiology of fibromyalgia and chronic widespread pain. *Neuroscience*, v. 338, p. 114–129, 3 dez. 2016.

SLUKA, KATHLEEN A.; LISI, T. L.; WESTLUND, K. N. Increased Release of Serotonin in the Spinal Cord During Low, But Not High, Frequency Transcutaneous Electric Nerve Stimulation in Rats With Joint Inflammation. *Archives of physical medicine and rehabilitation*, v. 87, n. 8, p. 1137–1140, ago. 2006.

SLUKA, KATHLEEN A.; WALSH, D. Transcutaneous electrical nerve stimulation: Basic science mechanisms and clinical effectiveness. *The Journal of Pain*, v. 4, n. 3, p. 109–121, 1 abr. 2003.

SONTAG, W. Modulation of cytokine production by interferential current in differentiated HL-60 cells. *Bioelectromagnetics*, v. 21, n. 3, p. 238–244, abr. 2000a.

SONTAG, W. Modulation of cytokine production by interferential current in differentiated HL-60 cells. *Bioelectromagnetics*, v. 21, n. 3, p. 238–244, abr. 2000b.

SONTAG, W. Release of mediators by DMSO-differentiated HL-60 cells exposed to electric interferential current and the requirement of biochemical prestimulation. *International Journal of Radiation Biology*, v. 77, n. 6, p. 723–734, jun. 2001.

SONTAG, W. Response of cyclic AMP by DMSO differentiated HL-60 cells exposed to electric interferential current after prestimulation. *Bioelectromagnetics*, v. 25, n. 3, p. 176–184, 19 mar. 2004.

SONTAG, W.; DERTINGER, H. Response of cytosolic calcium, cyclic AMP, and cyclic GMP in dimethylsulfoxide-differentiated HL-60 cells to modulated low frequency electric currents. *Bioelectromagnetics*, v. 19, n. 8, p. 452–458, 1998.

STEPANOVIĆ-PETROVIĆ, R. M. *et al.* The local peripheral antihyperalgesic effect of levetiracetam and its mechanism of action in an inflammatory pain model. *Anesthesia and Analgesia*, v. 115, n. 6, p. 1457–1466, dez. 2012.

STILLINGS, D. *A survey of the history of electrical stimulation for pain to 1900*. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1102872>>. Acesso em: 13 dez. 2018.

SUH, H. R.; HAN, H. C.; CHO, H. Immediate therapeutic effect of interferential current therapy on spasticity, balance, and gait function in chronic stroke patients: a randomized control trial. *Clinical Rehabilitation*, v. 28, n. 9, p. 885–891, 1 set. 2014.

TATEM, K. S. *et al.* Behavioral and locomotor measurements using an open field activity monitoring system for skeletal muscle diseases. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, n. 91, p. 51785, 29 set. 2014.

TUGAY, N. *et al.* Effectiveness of transcutaneous electrical nerve stimulation and interferential current in primary dysmenorrhea. *Pain Medicine (Malden, Mass.)*, v. 8, n. 4, p. 295–300, jun. 2007.

TURRELL, W. The landmarks of electrotherapy. *Archives of physical medicine and rehabilitation*, v. 50, n. 3, p. 157–160, mar. 1969.

VANCE, C. G. T. *et al.* Effects of transcutaneous electrical nerve stimulation on pain, pain sensitivity, and function in people with knee osteoarthritis: a randomized controlled trial. *Physical Therapy*, v. 92, n. 7, p. 898–910, jul. 2012.

VITTON, V. *et al.* Clinical practice guidelines from the French National Society of Coloproctology in treating chronic constipation. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, v. 30, n. 4, p. 357–363, 2018.

VIVANCOS, G. G. *et al.* An electronic pressure-meter nociception paw test for rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research = Revista Brasileira De Pesquisas Medicas E Biologicas*, v. 37, n. 3, p. 391–399, mar. 2004.

VOON, P.; KARAMOUZIAN, M.; KERR, T. Chronic pain and opioid misuse: a review of reviews. *Substance Abuse Treatment, Prevention, and Policy*, v. 12, n. 1, p. 36, 15 2017.

WALKER, U. A. *et al.* Analgesic and disease modifying effects of interferential current in psoriatic arthritis. *Rheumatology International*, v. 26, n. 10, p. 904–907, ago. 2006.

- WALL, P. D.; SWEET, W. H. Temporary abolition of pain in man. *Science (New York, N.Y.)*, v. 155, n. 3758, p. 108–109, 6 jan. 1967.
- WARD, A. R. Electrical stimulation using kilohertz-frequency alternating current. *Physical Therapy*, v. 89, n. 2, p. 181–190, fev. 2009.
- WATKINS, L. R.; MILLIGAN, E. D.; MAIER, S. F. Glial activation: a driving force for pathological pain. *Trends in Neurosciences*, v. 24, n. 8, p. 450–455, ago. 2001.
- WATSON, T. The role of electrotherapy in contemporary physiotherapy practice. *Manual Therapy*, v. 5, n. 3, p. 132–141, ago. 2000.
- WEI, H.; PERTOVAARA, A. 5-HT(1A) receptors in endogenous regulation of neuropathic hypersensitivity in the rat. *European Journal of Pharmacology*, v. 535, n. 1–3, p. 157–165, 27 mar. 2006.
- XIE, H. *et al.* Involvement of serotonin 2A receptors in the analgesic effect of tramadol in mono-arthritic rats. *Brain Research*, v. 1210, p. 76–83, 19 maio 2008.
- YEO, J.-H. *et al.* Clonidine, an alpha-2 adrenoceptor agonist relieves mechanical allodynia in oxaliplatin-induced neuropathic mice; potentiation by spinal p38 MAPK inhibition without motor dysfunction and hypotension. *International Journal of Cancer*, v. 138, n. 10, p. 2466–2476, 15 maio 2016.
- YOON, S.-Y. *et al.* Clonidine Reduces Nociceptive Responses in Mouse Orofacial Formalin Model: Potentiation by Sigma-1 Receptor Antagonist BD1047 without Impaired Motor Coordination. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, v. 38, n. 9, p. 1320–1327, 2015.
- ZEMLAN, F. P.; BEHBEHANI, M. M.; MURPHY, R. M. Serotonin receptor subtypes and the modulation of pain transmission. *Progress in Brain Research*, v. 77, p. 349–355, 1988.
- ZENG, C. *et al.* Electrical stimulation for pain relief in knee osteoarthritis: systematic review and network meta-analysis. *Osteoarthritis and Cartilage*, v. 23, n. 2, p. 189–202, fev. 2015.
- ZGIERSKA, A. E. *et al.* Mindfulness Meditation and Cognitive Behavioral Therapy Intervention Reduces Pain Severity and Sensitivity in Opioid-Treated Chronic Low Back Pain: Pilot Findings from a Randomized Controlled Trial. *Pain Medicine (Malden, Mass.)*, v. 17, n. 10, p. 1865–1881, 2016.
- ZHANG, H. *et al.* Contralateral Electroacupuncture Relieves Chronic Neuropathic Pain in Rats with Spared Nerve Injury. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, v. 24, p. 2970–2974, 8 maio 2018.
- ZHANG, R. *et al.* Mechanisms of acupuncture-electroacupuncture on persistent pain. *Anesthesiology*, v. 120, n. 2, p. 482–503, fev. 2014.
- ZHANG, Y. *et al.* The role of 5-hydroxytryptamine1A and 5-hydroxytryptamine1B receptors in modulating spinal nociceptive transmission in normal and carrageenan-injected rats. *Pain*, v. 92, n. 1–2, p. 201–211, maio 2001.

ZIVKOVIC, V. D. *et al.* Are Interferential Electrical Stimulation and Diaphragmatic Breathing Exercises Beneficial in Children With Bladder and Bowel Dysfunction? *Urology*, v. 102, p. 207–212, abr. 2017.

APÊNDICES

APÊNDICE A – LIMIAR MECÂNICO DE RETIRADA DA PATA

Grupos n: 6/grupo	Limiar mecânico de retirada da pata					
	Pata esquerda			Pata direita		
	Basal	Pré-tratamento	Pós-tratamento	Basal	Pré-tratamento	Pós-tratamento
CI inativa + salina	588,13±15,36	250,68±18,06	263,48±17,17	556,01±29,16	589,23±20,32	588,93±25,14
CI inativa + DMSO 20%	555,15±29,5	277,47±17,78	266,05±15,43	595,4±52,08	577,62±22,05	586,4±24,29
CI + salina	567,03±18,8	242,2±20,45	371,9±26,94	606,35±64,13	618,28±51,19	596,13±39,4
CI + DMSO 20%	621,96±28,26	294,61±25,49	395,3±18,17	641,68±30,32	649,51±30,11	633,03±32,30
CI + metisergida	640,85±47,75	269,93±12,44	266,53±22,43	557,45±40,46	545,48±32,69	541,4±26,81
CI + tropanil diclorobenzoato	572,86±30,11	222,28±18,61	283,63±24,06	586,93±40,74	561,96±17,1	551,81±15,24
CI + ioimbina	589,93±28,54	246,31±29,19	336,4±39,24	554,08±42,97	537,93±22,09	591,41±13,11
Cloridrato de serotonina	613,85±28,05	288,3±24,05	379,9±22,1	598,65±30,14	589,73±42,15	589,51±51,73
Cloridrato de clonidina	637,11±25,14	342,73±18,29	447,01±12,34	583,15±17,77	600,41±21,25	590,63±17,27

Valores numéricos (mN) do limiar mecânico de retirada das patas esquerda e direita de animais distribuídos nos grupos CI inativa + salina, CI inativa + DMSO 20%, CI + salina, CI + DMSO 20%, CI + metisergida, CI + tropanil diclorobenzoato, CI + ioimbina, cloridrato de serotonina e cloridrato de clonidina, nos momentos antes da inflamação (basal), 24 h após a indução da inflamação (pré-tratamento) e após a administração de fármacos, seguido ou não de tratamento com a corrente (pós-tratamento). n: número. CI: corrente interferencial. DMSO: dimetilsulfóxido. Dados apresentados como média ± erro padrão da média.

APÊNDICE B – DISTÂNCIA PERCORRIDA

Grupos n: 6/grupo	Distância percorrida		
	Basal	Pré-tratamento	Pós-tratamento
CI inativa + salina	8144,83±440,35	4502,23±1083,87	2964,11±1001,75
CI inativa + DMSO 20%	7241,6±1381,42	3787,97±924,64	1886,46±592,03
CI + salina	6697,64±777,36	3799,63±1142,97	1718,21±735,37
CI + DMSO 20%	6542,9±1433,61	2677,89±779,37	1945,47±767,32
CI + metisergida	8509,84±336,19	3378,89±758,76	1612,27±698,01
CI + tropanil diclorobenzoato	6923,63±1016,59	4391,527±908,13	1375,85±423,53
CI + ioimbina	7263,13±1313,26	4723,5±427,86	2154,85±584,62
Cloridrato de serotonina	8038,73±959,21	3903,9±1049,53	2833,39±903,29
Cloridrato de clonidina	7199,88±810,57	2500,45±644,73	927,54±260,78

Valores numéricos (mm) da distância percorrida pelos animais distribuídos nos grupos CI inativa + salina, CI inativa + DMSO 20%, CI + salina, CI + DMSO 20%, CI + metisergida, CI + tropanil diclorobenzoato, CI + ioimbina, cloridrato de serotonina e cloridrato de clonidina, nos momentos antes da inflamação (basal), 24 h após a indução da inflamação (pré-tratamento) e após a administração de fármacos, seguido ou não de tratamento com a corrente (pós-tratamento). n: número. CI: corrente interferencial. DMSO: dimetilsulfóxido. Dados apresentados como média ± erro padrão da média.

APÊNDICE C – INTENSIDADE DE ESTIMULAÇÃO COM A CORRENTE

Grupos n: 6/grupo	Intensidade			
	Inicial	5 min	10 min	15 min
CI + salina	18,83±6,27	19±6,04	19,16±5,99	19±5,85
CI + DMSO 20%	41,5±17,49	43,5±17,22	44±17,31	45,33±17,45
CI + metisergida	14,83±2,92	15,83±3,11	16,16±3,23	17,33±3,7
CI + tropanil diclorobenzoato	19,16±5,07	20,5±5,22	20,5±5,22	20,16±5,46
CI + ioimbina	18,33±3,92	19,5±4,24	19,5±4,08	20,83±4,48

Valores numéricos (mA) da intensidade de estimulação com a corrente interferencial utilizada no tratamento de animais distribuídos nos grupos CI + salina, CI + DMSO 20%, CI + metisergida, CI + tropanil diclorobenzoato e CI + ioimbina, logo após o posicionamento dos eletrodos (inicial) e a cada 5 min até o término do tratamento (5 min, 10 min, 15 min). n: número. CI: corrente interferencial. DMSO: dimetilsulfóxido. Min: minuto. Dados apresentados como média ± erro padrão da média.

ANEXOS

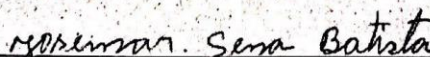
ANEXO A – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM
PESQUISA ANIMAL

**UNIVERSIDADE DE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COORDENAÇÃO DE PESQUISA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM ANIMAIS (CEPA)**

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada “Mecanismo de ação espinal da via monoaminérgica na antinocicepção da corrente interferencial em ratos artríticos”, registrada com o nº 60/2018, sob a responsabilidade da Prof. Dr. Josimar Melo de Santana que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica 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 aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade Federal de Sergipe, em reunião de 12/03/2019.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	Início: 15/03/2019, Término: 15/06/2019
Espécie/linhagem/raca	Rato heterogênico
Nº de animais	54
Peso/Idade	250 a 350g / 3 meses
Sexo	M
Origem	Biotério Setorial do Departamento de Fisiologia da UFS.


 Prof. Dr. JOSEMAR SENA BATISTA
 Coordenador do CEPA/UFS