



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

ELISAMA DE CAMPOS GUIMARÃES

**AVALIAÇÃO DE EFEITOS ADVERSOS DA
ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA NERVOSA
TRANSCUTÂNEA (TENS) EM RATAS GESTANTES E NA
SUA PROLE**

**SÃO CRISTÓVÃO
2019**

ELISAMA DE CAMPOS GUIMARÃES

**AVALIAÇÃO DE EFEITOS ADVERSOS DA
ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA NERVOSA
TRANSCUTÂNEA (TENS) EM RATAS GESTANTES E NA
SUA PROLE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Sergipe como requisito à obtenção do grau de Doutora em Ciências Fisiológicas.

Orientadora: Prof^a Dr^a Josimari Melo de Santana

**SÃO CRISTÓVÃO
2019**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

G963a Guimarães, Elisama de Campos
Avaliação de efeitos adversos da estimulação elétrica nervosa transcutânea (TENS) em ratas gestantes e na sua prole / Elisama de Campos Guimarães ; orientadora Josimari Melo de Santana. – São Cristóvão, SE, 2019.
58 f. : il.

Tese (doutorado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de Sergipe, 2019.

1. Estimulação elétrica transcutânea do nervo. 2. Gravidez. 3. Analgesia. I. Santana, Josimari Melo de. II. Título.

CDU 616.8-085.84:618.2

ELISAMA DE CAMPOS GUIMARÃES

**AVALIAÇÃO DE EFEITOS ADVERSOS DA
ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA NERVOSA
TRANSCUTÂNEA (TENS) EM RATAS GESTANTES E NA
SUA PROLE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Sergipe como requisito à obtenção do grau de Doutora em Ciências Fisiológicas.

Orientadora: Prof^a Dr^a Josimari Melo de Santana

1º Examinador: Prof^a Dr^a Mariana Tirolli Rett Bergamasco

2º Examinador: Prof^a Dr^a Karina Laurenti Sato

3º Examinador: Prof. Dr. Luis Felipe Souza da Silva

4º Examinador: Prof. Dr. José Ronaldo dos Santos

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por ser meu alicerce e força, por todas as bênçãos recebidas e por ter me proporcionado a capacidade para a realização desse trabalho.

Aos meus pais, Aloísio e Josefa, por toda ajuda e cuidados comigo e meus filhos. Não teria conseguido sem a ajuda de vocês e, por isso, serei sempre grata.

Ao meu marido, Felipe, por todo apoio e compreensão.

Aos meus filhos, Lucas e Arthur. Vocês são minha maior motivação.

Aos meus familiares, irmãos, tios, primos, sobrinhos, cunhados e sogros por todo cuidado, carinho e ajuda prestados.

A minha orientadora, Josimari Melo de Santana, um agradecimento especial, por todos ensinamentos e por ser exemplo de líder, professora e ser humano.

Aos colegas de laboratório (LAPENE), em especial, a Mayara Tavares, Paula Regina, Sara Suellen, Sílvio Sandes, Eliana, Wilza e Lucas Oliveira. Muito obrigada por todo apoio e comprometimento com o trabalho.

A Larissa, por todo apoio de sempre, seja acadêmico ou pessoal.

Ao PROCFIS, em especial a Renivan, por ser sempre prestativo e atento a tudo.

A Universidade Federal de Sergipe, por toda a estrutura física e a disponibilidade de recursos para realização do trabalho.

Aos animais, pela contribuição necessária na pesquisa básica.

A Capes, pelo apoio financeiro.

Muito obrigada!

RESUMO

Avaliação de efeitos adversos da estimulação elétrica nervosa transcutânea (TENS) em ratas gestantes e na sua prole. Elisama de Campos Guimarães, São Cristóvão, 2019.

Durante a gestação, algumas modificações fisiológicas e hormonais facilitam o aparecimento de disfunções musculoesqueléticas, como a lombalgia. Apesar dos sintomas dolorosos serem comuns durante a gestação, a prescrição de fármacos deve ser feita com cautela. Nesse contexto, a utilização de recursos não farmacológicos pode ser uma importante ferramenta, tal como a estimulação nervosa elétrica transcutânea (TENS). No entanto, os estudos sobre a aplicação da TENS no período gestacional são escassos. Assim, o presente estudo teve como objetivo investigar possíveis efeitos adversos da TENS em ratas prenhas e na sua prole. Para isso, um total de 30 ratas foi dividido em seis grupos (n=5, por grupo): TENS sensorial aplicada no abdome (TSA); TENS motora aplicada no abdome (TMA); TENS sensorial aplicada na região paravertebral (TSP); TENS motora aplicada na região paravertebral (TMP); controle com contensão (CCC); controle sem contensão (CSC). O ciclo estral das ratas foi acompanhado para acasalamento programado e a TENS aplicada em 10 dias consecutivos durante a segunda fase gestacional (11º ao 21º dia de gestação) no abdome ou região paravertebral da rata preta, que foi contida para aplicação da corrente. Dos filhotes, frutos do acasalamento programado, foram separados um número máximo de 3 machos e 3 fêmeas por rata. Desses, foram selecionados, de forma aleatória, 9 machos e 8 fêmeas por grupo ("n" delimitado pelo grupo que obteve menor número de filhotes), para a realização dos seguintes testes: massa corpórea, sensibilidade mecânica (filamentos de von Frey), sensibilidade térmica (placa quente) e desempenho motor (monitor de atividades). Outros parâmetros como massa corpórea das ratas durante a gestação, dias para o parto e número de filhotes também foram avaliados. Os resultados mostraram que as ratas prenhas dos grupos TSA e TMA apresentaram menor massa corpórea em relação ao CCC. Os grupos TMP (machos e fêmeas), TSP (machos) e TMA (machos) da prole apresentaram menor massa corpórea a partir de 60 dias de nascidos, quando comparados ao CCC. Além disso, os grupos TSP (machos) e TSA (fêmeas) apresentaram maior limiar mecânico basal no primeiro mês de vida em relação ao grupo CCC. No entanto, esses achados foram pontuais e não seguiram um padrão que pudesse garantir a ação da TENS sobre essas alterações. Os resultados relacionados ao número de filhotes, dias para o parto, sensibilidade térmica e desempenho motor não apresentaram diferenças entre os grupos TENS e CCC. Diante desse contexto, conclui-se que a TENS não promoveu alterações em parâmetros gestacionais e comportamentais que justifiquem a sua contraindicação durante o período gestacional.

Descritores: Estimulação elétrica nervosa transcutânea; gestação; analgesia.

ABSTRACT

Evaluation of adverse effects of transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) in pregnant rats and their offspring, Elisama de Campos Guimarães, São Cristóvão, 2018.

During pregnancy, some physiological and hormonal modifications facilitate the appearance of musculoskeletal disorders, especially low back pain. Although painful symptoms are common during pregnancy, prescription of drugs should be done with caution. In this context, the use of non-pharmacological resources has been an important tool, such as transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS). However, studies on the application of TENS in the gestational period are scarce. Thus, The present study aimed to investigate the possible adverse effects of TENS in pregnant rats and their offspring. For this, a total of 30 female rats were divided into 6 groups (n = 5, per group): sensory TENS applied to the abdomen; motor TENS applied to the abdomen; sensory TENS applied in the paravertebral region; motor TENS applied in the paravertebral region; control with containment (CCC); control without containment (CSC). The estrous cycle of the rats was accompanied for programmed mating and the TENS applied on 10 consecutive days during the second gestational phase (11th to the 21st day of gestation) in the abdomen or paravertebral region of the pregnant rat, which was contained for current application. Of the offspring, from the programmed mating, a maximum of 3 males and 3 females were separated per pregnant rat. Of these, 9 males and 8 females were randomly selected per group ("n" delimited by the group that obtained the least number of pups), in order to perform the following tests: body mass and behavioral tests of mechanical sensitivity (von Frey filaments), thermal sensitivity (hot plate) and motor performance (activity monitor). Other parameters such as weight of rats during gestation, days for parturition and number of pups were also evaluated. The results showed that the pregnant rats of the TSA and TMA groups presented lower body mass in relation to the CCC. The TMP (male and female), TSP (male) and TMA (male) groups of offspring had a lower body mass from 60 days of birth compared to CCC. In addition, the TSP (male) and TSA (female) groups had a higher baseline mechanical threshold in the first month of life in relation to the CCC group. However, these findings were punctual and did not follow a pattern that could guarantee the action of TENS on these changes. The results related to the number of pups, days for parturition, thermal sensitivity and motor performance did not show differences between TENS and CCC groups. In this context, it is concluded that TENS did not promote changes in gestational and behavioral parameters that justify its contraindication during the gestational period.

Descriptors: Transcutaneous electrical nerve stimulation; pregnancy; analgesia.

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Tabela 1. Ciclo estral das ratas.....	23
Figura 1. Acompanhamento das mães até o desmame.....	27
Figura 2. Acompanhamento da prole	28
Figura 3. Colocação dos eletrodos.....	30
Figura 4. Número de Filhotes.	32
Tabela 2. Massa corpórea das ratas prenhas	32
Figura 5. Dias para o parto.....	33
Tabela 3. Massa corpórea da prole (machos).....	34
Figura 6. Limiar mecânico de retirada da pata esquerda (machos).....	35
Tabela 4. Massa corpórea da prole (fêmeas).....	35
Figura 7. Limiar mecânico de retirada da pata direita (machos).	36
Figura 8. Limiar mecânico de retirada da pata esquerda (fêmeas).....	36
Figura 9. Limiar mecânico de retirada da pata direita (fêmeas).	37
Figura 10. Tempo de latência (machos).....	37
Figura 11. Tempo de latência (fêmeas).....	38
Figura 12. Distância Percorrida (machos)	38
Figura 13. Velocidade Média (machos)	39
Figura 14. Distância Percorrida (fêmeas).....	39
Figura 15. Velocidade Média (fêmeas).	40

LISTA DE ABREVIATURAS

TENS	Estimulação Elétrica Nervosa Transcutânea
SCP	Substância Cinzeta Periaquedutal
RVM	Porção Rostro Ventromedial do Bulbo
GABA	Ácido Gama Aminobutírico
DNIC	Controle Inibitório Nocivo Difuso
EVA	Escala Visual Analógica
RMDQ	Questionário de Incapacidade Rolland-Morris
CEPA	Comitê de Ética em Pesquisa Animal
COBEA	Comitê Brasileiro de Experimentação Animal
IASP	International Association of the Study of Pain
LAPENE	Laboratório de Pesquisa em Neurociências
HU	Hospital Universitário
UFS	Universidade Federal de Sergipe
TSA	TENS Sensorial aplicada no Abdome
TMA	TENS Motora aplicada no Abdome
TSP	TENS Sensorial aplicada na região Paravertebral
TMP	TENS Motora aplicada na região Paravertebral
CCC	Controle Com Contensão
CSC	Controle Sem Contensão
EPM	Erro Padrão da Média
BF	Baixa Frequência
AF	Alta Frequência
HPA	Hipotálamo Pituitária Adrenal
ACTH	Hormônio Adenocorticotrófico
AINEs	Antiinflamatórios Não Esteroidais
SAN	Síndrome da Abstinência Neonatal
ECRs	Ensaio Clínicos Randomizados

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	14
2.1 Alterações Biomecânicas durante a gestação	14
2.2 TENS	15
2.2.1 História	15
2.2.2 Parâmetros	15
2.2.3 Mecanismos de ação.....	16
2.2.4 Indicações e Contraindicações.....	19
2.3 TENS durante a gestação.....	19
2.4 Gestação de ratas Wistar.....	22
2.5 Programação Fetal	23
3 OBJETIVOS	25
3.1 Objetivos Gerais	25
3.2 Objetivos Específicos	25
4 MÉTODOS.....	26
4.1 Animais.....	27
4.2 Grupos	28
4.3 Acompanhamento das mães	28
4.4 Acompanhamento da prole.....	28
4.4.1 Testes comportamentais	28
4.5 Aplicação da TENS	29
4.6 Análise Estatística.....	30
5 RESULTADOS	32
5.1 Avaliação das ratas	32

5.1.1 Massa corpórea das ratas	32
5.1.2 Número de Filhotes	32
5.1.3 Dias para o parto.....	33
5.2 Avaliação da Prole.....	33
5.2.1 Massa corpórea da prole.....	33
5.2.2 Sensibilidade mecânica.....	35
5.2.3 Sensibilidade térmica.....	37
5.2.4 Desempenho motor.....	38
6 DISCUSSÃO	41
7 CONCLUSÃO.....	46
REFERÊNCIAS.....	47
ANEXO A.....	58

1 INTRODUÇÃO

A estimulação nervosa elétrica transcutânea (TENS) é uma técnica analgésica não invasiva que reduz a dor em uma variedade de condições clínicas, a saber, dor crônica (Johnson e Martinson, 2007; Oosterhof et al., 2012), lombalgia (Facci et al., 2011; Khadilkar et al., 2005), dismenorreia primária (Proctor et al., 2002; Tugay et al., 2007), osteoartrite de joelho (Osiri et al., 2000; Vance et al., 2012), dor pós-operatória (DeSantana, Sluka, e Lauretti, 2009) e dor durante o parto (Francis, 2012).

Durante a gestação, algumas alterações biomecânicas e hormonais, como o crescimento uterino, deslocamento do centro de gravidade, aumento da lordose lombar, juntamente com a ação dos hormônios relaxina, progesterona e estrógeno (Marques, Pinto e Silva, e Amaral, 2011; Martins e Pinto e Silva, 2005; Stuge, Hilde, e Vøllestad, 2003), facilitam o aparecimento de disfunções musculoesqueléticas, em especial a lombalgia, além de hérnia de disco, sacroileíte e sinfisite (Artal, Drinkwater, e Wiswell, 1999; Padua et al., 2002; Rodacki et al., 2003; Vleeming et al., 2002). Tais disfunções colaboram para queixas algícas, tanto de aspecto transitório (agudo), quanto permanente (crônico) (Ferreira, Issy, e Sakata, 2011; Marques, Pinto e Silva, e Amaral, 2011).

Cerca de 70% das mulheres grávidas têm algum tipo de dor lombar, e 20% permanecem com fatores residuais semanas após o parto (Foxcroft et al., 2011; Norén et al., 2002; Thorell e Kristiansson, 2012). Além disso, a gestante fica mais suscetível a quedas e, este trauma mecânico associado às disfunções musculoesqueléticas, tem a dor como seu principal sintoma (Norén et al., 2002). Apesar de sintomas dolorosos musculoesqueléticos serem comuns durante a gestação, a prescrição de fármacos analgésicos e/ou anti-inflamatórios, em especial no primeiro trimestre, deve ser feita com cautela e em casos selecionados (Ericson e Källén, 2001).

Alguns efeitos adversos já foram relatados na literatura, indicando que o uso de anti-inflamatórios na gestação está associado à criptorquídia congênita (Kristensen et al., 2011), pré-eclâmpsia e doenças tromboembolíticas (Rebordosa et al., 2010), mas há controvérsias do risco para parto prematuro e má formação fetal (Ericson e Källén, 2001). Embora o paracetamol possa ser considerado um analgésico de primeira escolha para gestantes quando tratamentos não farmacológicos são ineficazes, ainda confere risco de desenvolvimento de asma nos recém-nascidos (Eyers et al., 2011).

Frente à contraindicação e cautela do emprego de medicamentos para sintomas dolorosos durante o período gestacional, a utilização de recursos não farmacológicos,

como a TENS, pode ser uma importante ferramenta. A TENS atua através de mecanismos nervosos periféricos e centrais (DeSantana et al., 2008). Centralmente, demonstra-se efeito antinociceptivo pela ativação de regiões da medula espinhal e do bulbo mediados por atuação em receptores serotoninérgicos, opióides e muscarínicos (DeSantana et al., 2008; Kalra, Urban, e Sluka, 2001; Radhakrishnan et al., 2003; Sluka et al., 1999). Periféricamente, no local da aplicação, os receptores opióides e noradrenérgicos α -2 estão envolvidos na analgesia induzida pela TENS (King et al. 2005; Sabino, Souza e Resende, 2006).

Em obstetrícia, a TENS tem sido amplamente empregada com resultados satisfatórios durante o trabalho de parto (Marques et al. 2011). Contudo, até o presente momento, pouco se sabe se durante a gestação a TENS pode causar algum efeito adverso nos tecidos biológicos maternos e da prole.

De Oliveira Guimarães et al. (2013) sugerem que a TENS pode ser prejudicial ao desenvolvimento intrauterino, já que se trata de um processo complexo e dinâmico que se caracteriza pela interação de fatores maternos e fetais. O desenvolvimento fetal adequado depende de condições ideais para a manutenção dos altos índices de proliferação, crescimento e diferenciação celular, característicos desse processo (Warner e Ozanne 2010).

O ambiente uterino pode interferir na saúde da vida adulta (Barker, 2007), visto que a placenta é responsável por ofertar todos os nutrientes que o feto necessita. Qualquer alteração ou anormalidade no desenvolvimento placentário pode afetar o tamanho fetal e o desenvolvimento, bem como a saúde após o nascimento.

Estudos que criaram condições de estresse em ratas prenhas (Butkevich e Vershinina, 2003; Maccari et al., 2003), tem visto que o feto submetido ao ambiente placentário estressor tem maiores chances de ter restrição no crescimento intrauterino (Butkevich e Vershinina, 2003; Maccari et al., 2003; Mastorci et al., 2009). Esses achados apontam para a necessidade de dados substanciais para a indicação segura ou contra-indicação absoluta para o uso da eletroterapia em gestantes.

Uma vez que existe a contra-indicação da TENS quando aplicada na região do abdome de mulheres grávidas, devido à suspeita de favorecer ao trabalho de parto prematuro (Johnson e Tabasam, 2003; Low e Reed, 2001), faz-se necessário que estudos sejam realizados a fim de investigar a existência de possíveis efeitos adversos dessa corrente durante o período gestacional.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Alterações Biomecânicas na gestação

Durante a gestação alterações biomecânicas e hormonais são responsáveis por quadros algícos, muitas vezes limitantes, para a mulher grávida. Algumas dessas alterações são: aumento de peso materno progressivo, aumento do volume do abdome e das mamas e à ação de hormônios placentários (De Conti, Calderon e Rudge, 2003)

Devido ao aumento do abdome e das mamas, o centro de gravidade se desloca para frente, aumentando a lordose lombar e a base de sustentação (Aires, 2017). A ação do músculo íliopsoas fica então comprometida, o que auxilia o aumento da lordose lombar, já que seu torque de flexão não tem mais utilidade, pois o peso do feto realiza essa função (Carvalho e Caromano, 2001).

Esses ajustes posturais, aumento da lordose lombar e da base de sustentação são comuns na gravidez, uma vez que o útero ganha em torno de seis quilos até o final da gestação, culminando em aumento do volume abdominal, deslocamento superior do diafragma, mudanças compensatórias na mecânica da coluna vertebral e anteversão pélvica, maior pressão com o solo na região posterior do pé (Gazaneo e Oliveira, 1998; Kleinpaul et al., 2009; Mann et al., 2010; Novaes, Shimo e Lopes, 2006; Ribas e Guirro, 2007).

Todos esses fatores associados levam a um quadro de lombalgia, muito comum na gestação. Segundo Ferreira e Nakano (2000) a compressão dos grandes vasos pelo útero e a consequente diminuição do fluxo sanguíneo são os principais fatores que causam a dor lombar na gravidez, principalmente no último trimestre de gestação, no qual o ganho de peso e distensão abdominal são maiores.

A ação hormonal, principalmente da relaxina, também favorece a adaptações biomecânicas na grávida, pois o mesmo causa frouxidão ligamentar o que por sua vez leva a modificações estruturais estáticas e dinâmicas do esqueleto como o aumento de mobilidade da articulação sacroilíaca e da sínfise pubiana. A instabilidade articular, proveniente da frouxidão ligamentar da relaxina, favorece a uma anteversão pélvica e hiperlordose lombar, o que pode ocasionar dor (Gazaneo e Oliveira, 1998; Kleinpaul et al., 2009; Mann et al., 2010; Takito, Benício e Latorre, 2005).

Nos primeiros meses da gestação a ocorrência de lombalgia, antes do surgimento das alterações biomecânicas, pode ser devido ao hormônio relaxina, que torna as

articulações instáveis, inclusive da coluna lombar e do quadril, e mais susceptíveis ao estresse e à dor. Esse hormônio é secretado mais intensamente no início da gestação e age sobre as fibras colágenas diminuindo sua densidade, o que leva a uma maior extensibilidade das estruturas articulares, principalmente pelve e sínfise púbica. (Branco, Santos-Rocha, e Vieira, 2014; Carvalho et al., 2017; Ferreira e Nakano, 2000)

2.2 TENS

2.2.1 História

A estimulação elétrica nervosa transcutânea (TENS) é um recurso comumente utilizado para o tratamento da dor (DeSantana et al., 2008). Por definição, TENS é um método terapêutico que envolve a aplicação de corrente elétrica através de eletrodos colocados na superfície da pele (Hingne e Sluka, 2007).

Durante muitos séculos, a eletricidade tem sido usada para tratar uma variedade de patologias. Os efeitos terapêuticos de peixes elétricos (torpedos) foram utilizados na antiguidade. As descargas elétricas eram utilizadas para o alívio da dor e foi descrito por Scribonius Largus em pacientes com gota e dores de cabeça. Esta abordagem do controle da dor aparentemente persistiu por muito tempo (Slavin, 2011).

Uma abordagem mais moderna da estimulação elétrica periférica foi realizada no início do século 20, quando um dispositivo elétrico de consumo chamado Electreat foi introduzido para o tratamento da dor e outras condições. Esta tecnologia foi posteriormente descrita como estimulação elétrica nervosa transcutânea (TENS) que continua a ser amplamente disponível hoje (Slavin, 2011).

2.2.2 Parâmetros

Durante a aplicação da TENS, são geradas correntes pulsadas por um gerador de pulso portátil e essas são enviadas através da superfície da pele por meio de eletrodos.

Os parâmetros encontrados nos aparelhos mais comuns de TENS são duração de pulso, frequência, amplitude de pulso e tipos de *output* (constante, *burst* ou modulada). A duração de pulso é o comprimento de cada pulso (microsegundos ou milissegundos). A frequência é o número de pulsos entregues por segundo (hertz). A amplitude de pulso refere-se à força de *output* (miliamperes ou volts), dependendo se o dispositivo fornece uma corrente constante ou voltagem constante. A amplitude de pulso é utilizada como

parâmetro de intensidade da corrente. Os tipos de *output* referem-se ao padrão em que os pulsos são liberados (Sluka, 2009).

A TENS pode ser aplicada de baixa (< 10 Hz) a alta (> 50 Hz) frequência. A intensidade também pode ser variada de sensorial a motora. A intensidade sensorial ocorre quando o paciente sente uma forte, mas confortável sensação, sem contração muscular. A alta intensidade (motora) geralmente envolve contração muscular, mas não é dolorosa. (Gopalkrishnan e Sluka, 2000).

2.2.3 Mecanismos de ação da TENS

Os mecanismos de ação da TENS vem sendo estudados ao longo dos anos com modelos animais de dor, revelando vias fisiológicas e anatômicas que medeiam a analgesia promovida pela TENS. Esses dados sugerem que diferentes frequências de TENS produzem analgesia através de ações em diferentes neurotransmissores e receptores (DeSantana et al., 2009).

Durante anos, a teoria da comporta da dor foi a mais comumente utilizada para explicar a analgesia promovida pela TENS. De acordo com essa teoria, a estimulação de fibras aferentes de largo diâmetro pela TENS inibe as respostas das fibras nociceptivas no corno dorsal da medula espinhal (Melzack e Wall, 1965). No entanto, a TENS reduz a dor através de mecanismos centrais e periféricos (DeSantana et al., 2008).

A TENS ativa circuitos no sistema nervoso central (SNC) que envolvem receptores opióides, serotoninérgicos e muscarínicos (DeSantana et al., 2008; Kalra, Urban, e Sluka, 2001; Radhakrishnan et al., 2003; Sluka et al., 1999). Periféricamente, a TENS ativa circuitos que envolvem receptores opióides e α -2 adrenérgicos (King et al., 2005; Sabino et al., 2008).

Após aplicação da TENS, o impulso é enviando através do SNC para ativar o sistema inibitório descendente da dor. Estudos mostraram que o bloqueio com antagonista opioide na substância cinzenta periaquedutal ventrolateral (SCPvl) (DeSantana et al., 2009), porção rostral ventromedial do bulbo (RVM) (Kalra et al., 2001) e medula espinhal (Radhakrishnan et al., 2003) inibiu o efeito analgésico da TENS, revelando a ação da corrente nessas áreas.

Primeiramente, foi comprovado o envolvimento do RVM na analgesia produzida por essa eletroestimulação (Kalra et al., 2001). Anos depois, (DeSantana et al., 2009) relataram que a substância cinzenta periaquedutal (SCP) também contribui para este efeito analgésico, demonstrando que a redução tanto da hiperalgesia primária como

secundária pela TENS de alta e baixa frequência é impedida pelo bloqueio da região ventrolateral da SCP com cloreto de cobalto. Assim, a TENS ativa a SCP ventrolateral que, por sua vez, envia projeções através do RVM à medula espinal para produzir analgesia.

Em nível espinal, tem-se o envolvimento do neurotransmissor inibitório GABA, mas não da glicina, na analgesia promovida pela TENS. A TENS de alta frequência, mas não a baixa, aplicada na articulação do joelho inflamado, aumenta concentrações extracelulares de GABA no corno dorsal da medula espinal em animais com e sem inflamação articular. É interessante notar que o bloqueio de receptores GABAA com bicuculina (antagonista de receptor GABAA) preveniu a redução da hiperalgesia produzida por ambos, alta e baixa frequência de TENS (Hingne e Sluka, 2007; Maeda et al., 2007).

Em outro estudo, a concentração de serotonina na medula espinal foi aumentada durante e imediatamente após o tratamento com TENS de baixa frequência, mas não de alta frequência. Nem a TENS de baixa, nem a de alta frequência mudaram as concentrações de noradrenalina espinal (Sluka, Lisi, e Westlund, 2006)

TENS de alta frequência, mas não baixa, reduziu as concentrações de glutamato e aspartato no corno dorsal da medula espinal em um estudo cujos animais apresentavam inflamação articular no joelho, quando comparado com os níveis daqueles sem inflamação articular (Sluka, Vance, e Lisi, 2005).

Além disso, alguns relatos indicam a importância do sistema opióide nesse contexto. A administração espinal de antagonista opióide δ (naltrindole) impediu a redução da liberação de glutamato e aspartato pela TENS de alta frequência (Sluka, Vance, e Lisi, 2005). Assim, tem-se que a TENS reduz a liberação de glutamato e aspartato no animal com inflamação articular por ativação de receptores opióides. Também foi mostrado que a TENS de alta frequência reduz a liberação do neurotransmissor excitatório, substância P, periféricamente e no corno dorsal da medula (Rokugo, Takeuchi, e Ito, 2002).

Periféricamente, o efeito de ambas, TENS de alta e de baixa frequência, foi testado em camundongos mutantes sem o receptor $\alpha 2A$ -adrenérgico contra os seus respectivos tipos selvagens. A analgesia induzida pela TENS, em ambas as frequências de estimulação, alta e baixa, foi reduzida em camundongos mutantes $\alpha 2A$ em comparação com os controles. Além disso, quando um antagonista $\alpha 2$ adrenérgico seletivo (SK & F 86466) foi administrado intra-articularmente, a analgesia da TENS foi revertida, mas o

mesmo não ocorreu quando entregue por via intratecal ou intracerebroventricular. Assim, os receptores periféricos $\alpha 2A$ adrenérgicos contribuem parcialmente para analgesia mediada pela TENS. Os subtipos $\alpha 2A$ e $\alpha 2C$ medeiam a antinocicepção quando ativados pela noradrenalina. Estes receptores também produzem sinergia antinociceptiva quando ativados simultaneamente com os receptores opióides (King et al., 2005).

Receptores opióides periféricos também desempenham um papel importante na analgesia produzida pela TENS de baixa frequência. Sabino et al. (2008) demonstraram que o bloqueio de receptores opióides μ no local da aplicação impede a redução da hiperalgesia produzida pela baixa frequência de TENS, mas não de alta frequência.

O efeito da TENS pode variar, ainda, de acordo com a intensidade de estimulação. Um aumento na amplitude de pulso pode promover uma maior ativação de fibras aferentes $A\beta$ esse maior número de fibras ativadas pode resultar em uma maior quantidade de opióides liberados e mais efetiva redução da excitabilidade central. Intensidades mais altas também podem ativar fibras aferentes primárias do tipo $A\delta$. Essas fibras são ativadas em intensidades acima do limiar motor, podendo promover a ativação de um sistema analgésico adicional, o controle inibitório nocivo difuso (DNIC), que é primariamente ativado por estímulos nociceptivos (Radhakrishnan e Sluka, 2005; de Resende et al., 2011). O DNIC é responsável pelo fenômeno de “contra-estimulação” ou “Dor inibe Dor”, onde ocorre uma inibição mútua entre as vias que geram sensações provocadas concomitantemente por dois focos separados de estímulo doloroso. Além disso, o DNIC inibe os neurônios da lâmina I da medula, área chave para transmissão de estímulos nociceptivos ao sistema nervoso central (Villanueva, 2009).

Com relação à combinação entre frequência e intensidade, um estudo com estimulação do nervo mediano em humanos indicou que a TENS ativa fibras de largo diâmetro $A\beta$ quando utilizada em alta frequência com intensidade sensorial ou em baixa frequência a uma intensidade máxima tolerável. Mostrou também que o recrutamento de fibras $A\delta$ ocorre apenas acima da intensidade máxima tolerável

Da mesma maneira, em animais, alta ou baixa frequência de TENS a uma intensidade sensorial ou motora ativa apenas fibras $A\beta$. Já, aumentando a intensidade para duas vezes o limiar motor, com ambas frequências, ocorre o recrutamento de fibras $A\delta$ (Radhakrishnan e Sluka, 2005).

2.2.4 Indicações e Contraindicações

Estes mecanismos de ação da TENS oferecem a capacidade de reduzir a dor em uma variedade de condições clínicas, como fibromialgia (Dailey et al., 2013; Löfgren e Norrbrink, 2009), osteoartrite (Vance et al., 2012), dor lombar (Brosseau et al., 2002; Deyo et al., 1990), dor pós-operatória (Desantana, Sluka, e Lauretti, 2009; Sabino, Souza, e Resende, 2006) dor obstétrica (Mello, Nóbrega, e Lemos 2011; Orange, Amorim, e Lima 2003) e dor ginecológica (Milsom, Hedner, e Mannheimer, 1994; Queiroz de Oliveira et al., 2012). Além de ser usado também como recurso não analgésico para cicatrização de feridas, síndrome do intestino irritável (Xiao e Liu, 2004), incontinência urinária (Amarenco et al., 2003; Slovak, Chapple, e Barker, 2015), constipação (Veiga et al., 2013), distúrbios de memória (Luijpen et al., 2005; Scherder e Bouma, 1999; Scherder, Bouma, e Steen, 1995), espasticidade (Miller et al., 2007; Chung e Cheng, 2010) e transtornos cognitivos (Scherder et al., 2000).

Clinicamente, as contra-indicações para o uso de TENS são poucas e principalmente hipotéticas como dor não diagnosticada, marcapasso cardíaco, gravidez, tumores e epilepsia (Low e Reed, 2001), com poucos ou nenhum relatório de eventos adversos associados, como dermatite no local do eletrodo (Meuleman, Busschots, e Doooms-Goossens, 1996).

2.3 TENS durante a gestação

A aplicação da TENS durante a gestação poderia ser uma excelente estratégia terapêutica para mulheres que sofrem com diversas condições álgicas no período gestacional, uma vez que os medicamentos prescritos, especialmente no primeiro trimestre, são restritos e devem ser administrados com cautela (Ericson e Källén, 2001), pois podem gerar intercorrências no desenvolvimento fetal (Kristensen et al., 2011).

No entanto, existe uma contraindicação para o uso da TENS no útero gravídico, devido a suspeita de que a aplicação da mesma pode ocasionar parto prematuro. Também não é administrada em mulheres no primeiro trimestre de gestação, justificada pela insegurança de que a corrente venha promover má formações fetais ou até mesmo aborto (Johnson e Martinson, 2007; Low e Reed, 2001). Essas contraindicações, por sua vez, não são embasadas em relatos científicos, são suspeitas que alertam para necessidade de

que mais estudos sejam realizados afim de assegurar ao profissional de saúde o manejo correto dessa corrente.

A ausência de ensaios clínicos controlados e randomizados, como também estudos com experimentação animal, que justifiquem a contraindicação TENS ou comprovem seus possíveis efeitos deletérios biológicos durante a gravidez tornam essa técnica não amplamente utilizada para o controle da dor em tais casos.

Em uma revisão a cerca desse tema (dados ainda não publicados) foram identificados duzentos e vinte e seis ($n = 226$) estudos e 225 foram excluídos. Apenas um ($n = 1$) estudo foi selecionado no estágio completo de análise do manuscrito, sendo o único considerado relevante para a finalidade da revisão. Nenhum dos outros estudos preencheram os critérios de elegibilidade, pois estavam relacionados a tópicos como: acupuntura, eletroacupuntura, acupuntura auricular, TENS em trabalho de parto, pós-parto, entre outros. O único artigo elegível foi um ensaio clínico randomizado conduzido por Keskin et al. (2012).

Keskin et al. (2012) selecionaram 88 gestantes com queixa gestacional de dor lombar e foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos de estudo ($n = 22$, cada): controle, exercício, paracetamol (analgésico) e TENS. No grupo de exercício, as mulheres grávidas receberam um programa de exercícios domiciliar supervisionado por um fisioterapeuta, duas vezes por dia durante três semanas. Este programa consistiu principalmente em alongamentos, exercícios posturais e contração isométrica da musculatura abdominal. O paracetamol (500 mg, comprimido) foi administrado ao grupo correspondente duas vezes ao dia durante três semanas. No grupo TENS, a aplicação local de TENS foi realizada usando uma unidade portátil de dois canais (Intellect TENS; Chattanooga Medical Supply Inc., Taiwan) consistindo de quatro eletrodos, 5 cm² cada, colocados superficialmente sobre a região lombar dolorida. O protocolo consistiu na aplicação da TENS a uma frequência de 120 Hz, duração de pulso de 100 μ s e intensidade ajustada de acordo com a sensibilidade da paciente para 2 ou 3 vezes o limite sensorial. Foram realizadas um total de seis sessões de terapia, duas vezes por semana, durante três semanas.

A escala visual analógica (EVA) e o questionário de incapacidade Rolland-Morris (RMDQ) foram utilizados para avaliar a intensidade e incapacidade da dor antes e após a terceira semana de tratamento, respectivamente. A intensidade da dor antes do tratamento foi maior no grupo TENS do que nos demais grupos, controle e paracetamol, enquanto que o comprometimento físico foi semelhante entre os grupos. Após o período de

tratamento, o grupo controle mostrou aumento na intensidade da dor e na incapacidade funcional (intensidade da dor: 6 a 7 usando EVA e deficiência: 14 a 15 segundo o RMDQ). Em contraparte, todos os grupos de tratamento ativo (exercício, paracetamol e TENS) mostraram redução da intensidade da dor e da incapacidade funcional após o tratamento.

Os critérios de elegibilidade incluíram mulheres gestantes (idade gestacional maior ou igual a 32 semanas) que relataram sintomas de dor lombar durante a gravidez e que foram submetidas a cuidados de rotina pré-natal no Departamento de Obstetrícia e Ginecologia da Universidade de Fatih, Ancara-Turquia. Nenhuma participante do estudo poderia ter uma história de dor lombar ou doença na região lombar antes da gravidez e aquelas que tiveram história de doenças relacionadas a estruturas ósseas ou discos intervertebrais lombares e dor causada por fatores não musculoesqueléticos (infecção do trato urinário, complicações obstétricas) foram excluídas do estudo.

As participantes foram distribuídas aleatoriamente e secretamente, pois cada paciente foi alocada em um dos quatro grupos (controle, exercício, paracetamol ou TENS) através de envelopes opacos e selados, preparados por um dos autores. Esses envelopes foram abertos por outro investigador, que não tinha conhecimento do conteúdo dos envelopes. No entanto, as participantes, os terapeutas e os avaliadores não foram cegos. Todos estavam conscientes dos grupos nos quais as gestantes foram alocadas.

Os autores concluíram que a aplicação da TENS reduziu a intensidade da dor no terceiro trimestre da gravidez de forma mais eficaz do que o exercício e o paracetamol, e, portanto, a administração da TENS seria a modalidade de primeira escolha, por ser mais efetiva, fácil de aplicar e segura para este transtorno, já que as complicações maternas e fetais não foram identificadas durante o estudo (Keskin et al., 2012).

No entanto, o estudo selecionado apresenta um alto risco de viés. Tanto o sujeito quanto o investigador conheciam o tratamento designado (viés de desempenho). O investigador que avaliou os testes também estava ciente da atribuição dos sujeitos no grupo (viés de detecção). Esses fatores contribuem para uma fraqueza na precisão metodológica do estudo, por isso seus resultados devem ser interpretados com cautela.

Além disso, a afirmação de que a TENS não tem efeitos adversos sobre mães e recém-nascidos é insuficiente diante dos testes avaliados, uma vez que nenhuma medida indicativa de desenvolvimento materno-fetal, como atividade placentária, frequência cardíaca fetal, escore de Apgar, pH sanguíneo, presença ou ausência de malformações e angústia fetal foram investigadas, sugerindo apenas que não houve mudanças

significativas em relação ao peso da criança ao nascer (de Oliveira Guimarães et al., 2013; Ashworth et al., 2000; Mendoza et al., 2000).

Os estudos que envolvem a aplicação da TENS durante a gravidez são inconsistentes em relação à segurança, principalmente porque não há avaliação apropriada das medidas materno-fetais e a diferença de desempenho entre TENS, acupuntura e eletroacupuntura não foi considerada (de Jong et al., 1998).

Afim de favorecer o melhor manejo da TENS durante a gravidez, a Associação de Fisioterapeutas em Saúde da Mulher (AFSM) reuniu vários especialistas que fizeram um estudo relacionando a literatura científica e a experiência clínica. Este trabalho baseou-se em estudos sobre eletroacupuntura, pontos de acupuntura e TENS durante o trabalho de parto para afirmar que a TENS foi usada com segurança por mulheres grávidas sem causar efeitos colaterais, não considerando as diferenças entre as técnicas e os períodos gestacionais. No entanto, o estudo mostra considerações importantes em relação à contração uterina, que é intensificada pela aplicação de estimulação elétrica e, portanto, deve ser amplamente monitorada. Outra consideração importante refere-se ao equilíbrio entre os riscos potenciais de escolha entre TENS e o uso de medicamentos que podem atravessar a barreira placentária, sendo preferível a aplicação da TENS (Elden et al., 2005).

Logo, o estudo de revisão não foi conclusivo com relação a utilização segura da TENS durante a gestação, uma vez que a literatura atual não elucida os efeitos da TENS durante a gravidez, principalmente aqueles que são adversos. Em virtude disso, surge a necessidade de que mais estudos sejam realizados, principalmente os pré-clínicos, em um primeiro momento, a fim de basear a prática clínica em evidências comprovadas cientificamente.

2.4 Gestação das ratas Wistar

A linhagem de ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) é uma das mais utilizadas em laboratório para fins de pesquisa científica. São animais pequenos, portanto de fácil manuseio, ciclo biológico curto, reprodução e criação de baixo custo e alto grau de similaridade genética com seres humanos (Mattaraia e Moura, 2012).

O ciclo estral das ratas Wistar dura em torno de 4 a 5 dias e é dividido em 4 fases: proestro, estro, metaestro e diestro, que podem ser determinados de acordo com os tipos de células observadas no esfregaço vaginal (Marcondes, Bianchi e Tanno, 2002).

Ciclo	Esfregaço Vaginal	Observação
Proestro	Predominância de células epiteliais	Pequena tumefação da vulva e mucosa vaginal ressecada
Estro	Predominância de células cornificadas anucleadas	Tumefação máxima da vulva
Metaestro I	Mesma proporção entre células epiteliais de leucócitos, cornificadas e nucleadas	Tumefação da vulva diminui e aparece uma massa caseosa na vagina
Diestro	Predominância de leucócitos	Vulva normal e mucosa vaginal úmida

Tabela 1: Ciclo estral das ratas

A gestação das ratas dura entre 20 e 22 dias e a cada prenhez nascem 8 filhotes em média, no entanto, já foram observadas ninhadas de até 16 filhotes. O peso ao nascer varia de 4 a 6 gramas e as ratas amamentam os filhotes até 21º dia, quando então é realizado o desmame. Nessa fase os animais pesam de 45 a 60 gramas, mas quando adultos os machos podem chegar a pesar de 350 a 500 gramas e as fêmeas de 250 a 350 gramas. A maturidade sexual é desenvolvida dos 50 aos 60 dias, podendo assim serem colocados para o acasalamento dos 2 aos 9 meses de vida (Andrade, Pinto e Oliveira, 2002; Neves et al., 2013)

A produção dos animais é realizada de forma planejada a fim de atender a demanda dos laboratórios. O acasalamento programado é utilizado para sincronizar os nascimentos, os desmames e ofertar animais com peso e idade uniformes, produzindo o mínimo de animais excedentes (Neves et al., 2013).

2.5 Programação Fetal

O termo programação é um fenômeno biológico no qual um estímulo ou insulto, quando aplicado no período crítico do desenvolvimento, tem efeitos permanentes sobre a estrutura e as funções do organismo (Barker, 1995; Seco e Matias, 2009; Skogen e Overland, 2012).

A teoria da origem fetal das doenças do adulto, sugerida pelo grupo do Dr. Barker, relata que a deficiência nutricional e outros estímulos ambientais, durante períodos críticos do desenvolvimento, como o período intrauterino e a primeira infância, induzem mudanças no metabolismo aumentando o risco para doenças crônicas do adulto, como a hipertensão arterial sistêmica (Eriksson et al., 2007), doença coronariana (Eriksson et al., 2001), diabetes tipo 2 (Hales et al., 1991) e acidente vascular cerebral (Osmond et al.,

2007). Os principais mecanismos envolvidos na plasticidade da teoria da programação fetal estão relacionados com a nutrição fetal alterada, exposição aumentada a glicocorticóides e fatores genéticos e epigenéticos (Seco e Matias, 2009).

Segundo Gluckman e Hanson (2004) a carga genética associada com o ambiente onde o feto se desenvolve pode afetar o indivíduo ao longo de sua vida, levando a mudanças a nível genético, como alterações na metilação do DNA em situações de crescimento intrauterino restrito (Thompson et al., 2010); nível celular com mudanças na densidade de receptores (Alwasel e Ashton, 2009); nível orgânico através de alterações no volume dos órgãos, como menor número de néfrons (Thomas e Kaskel, 2009) e nível sistêmico mediante reprogramação de eixos hormonais, como o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), assim como alterações no metabolismo da insulina, o que levaria o indivíduo na fase adulta a desenvolver doenças como diabetes e obesidade (Morrison et al., 2010; Reynolds, 2010)

OBJETIVOS

Geral:

- Investigar os efeitos da aplicação da TENS sobre parâmetros gestacionais de ratas prenhas, assim como avaliar parâmetros comportamentais e massa corpórea da prole da infância até a fase adulta.

40200195

Específicos:

- Avaliar o efeito da aplicação repetida da TENS em ratas prenhas durante a segunda fase gestacional, quando aplicada em diferentes áreas corporais (região paravertebral e abdome) e diferentes intensidades de estimulação (sensorial e motora), em relação aos seguintes parâmetros gestacionais:

- massa corpórea das ratas;
- número de filhotes;
- dias para o parto.

- Avaliar as proles de ratas que foram submetidas a aplicação repetida da TENS durante a segunda fase gestacional, em diferentes áreas corporais (região paravertebral e abdome) e diferentes intensidades de estimulação (sensorial e motora), em relação aos seguintes parâmetros:

- massa corpórea;
- sensibilidades mecânica e térmica da prole, de curto e longo prazo;
- desempenho motor da prole, de curto e longo prazo.

4 MÉTODOS

4.1 Animais

Foram utilizados, após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal de Sergipe, CEPA 80/2012 (Anexo A), três categorias de ratos Wistar, obtidos do Biotério Central da Universidade Federal de Sergipe. São elas:

- **Categoria I:** 30 fêmeas adultas (200 a 250 g) acompanhadas para acasalamento programado.
- **Categoria II:** 15 machos adultos (250 a 300 g) selecionados para acasalamento com as fêmeas da categoria I;
- **Categoria III:** 102 ratos neonatos, produtos do acasalamento dos animais das categorias I e II, sendo 54 machos e 48 fêmeas.

Enquanto não estavam gestantes, as fêmeas foram mantidas em caixas de polycarbonato coletivas. Diariamente, seus ciclos estrais foram acompanhados por análise colpocitológica e, na fase do proestro, foram expostas ao rato Wistar adulto para acasalamento. A confirmação da cópula foi feita por meio da detecção microscópica de espermatozóide no lavado vaginal. Confirmada a cópula, cada fêmea foi acondicionada individualmente em caixa de polycarbonato, onde permaneceu por toda a gestação (19 a 22 dias), parto e lactação (21 dias). No dia do nascimento, os filhotes foram sexados e mantidos em amamentação em ninhadas com no máximo seis animais (3 machos e 3 fêmeas); os neonatos excedentes foram eutanasiados. No dia 21 após o nascimento, a ninhada foi desmamada e os filhotes transferidos para caixas coletivas com até seis animais do mesmo sexo por caixa (Figura 1).

Os procedimentos seguiram as recomendações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e da *International Association for the Study of Pain* (IASP). Durante todo o período, os animais tiveram livre acesso à água e comida (ração padrão para roedores). As salas de manutenção dos animais e experimentação, localizadas no Laboratório de Pesquisa em Neurociências (LAPENE/HU/UFS), tiveram luminosidade controlada com ciclo claro-escuro de 12/12 h (luz das 6 às 18 horas) e temperatura de $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

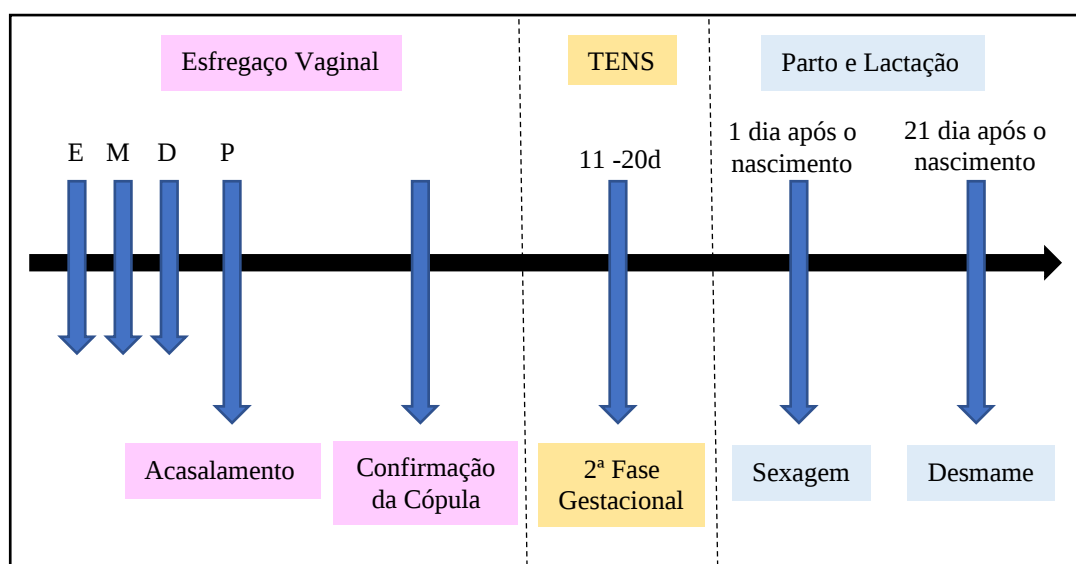


Figura 1. Acompanhamento das mães até o desmame. E: estro. M: metaestro. D: diestro. P: proestro. d: dias de gestação.

4.2 Grupos

Os grupos experimentais foram divididos de acordo com a intensidade e o local de aplicação (ratas prenhas, n=5; prole: machos, n=9; fêmeas, n=8):

1. Controle com contensão (CCC)
2. Controle sem contensão (CSC)
3. TENS sensorial aplicada na região paravertebral (TSP)
4. TENS motora aplicada na região paravertebral (TMP)
5. TENS sensorial aplicada no abdome (TSA)
6. TENS motora aplicada no abdome (TMA)

A partir das fêmeas dos seis grupos descritos anteriormente foram gerados 159 filhotes identificados conforme o tratamento recebido pelas suas respectivas mães. Para cada grupo, foram necessárias 5 fêmeas prenhas que produziram 17 a 30 filhotes por grupo (entre machos e fêmeas). Para realização dos testes comportamentais um total de 102 filhotes (9 machos e 8 fêmeas por grupo) foram escolhidos, de forma aleatória, afim de tornar os grupos homogêneos. Esses números foram estabelecidos pelo grupo que obteve menor número de filhotes (TSA).

4.3 Acompanhamento das mães

As ratas foram pesadas em dias alternados até o parto. Ademais, foram avaliados parâmetros como dias para o parto e número de filhotes.

Após o desmame as ratas foram eutanasiadas com uma dose excessiva de anestésico (Tiopental).

4.4 Acompanhamento da prole

Foi realizada a avaliação da massa corpórea semanalmente do 1º ao 30º dia pós-natal. A partir de então, o peso foi avaliado mensalmente até 120 dias pós-natais. Acrescido a isto, foram realizados testes comportamentais, descritos adiante.

4.4.1 Testes comportamentais

Os filhotes das mães que receberam eletroestimulação durante a gestação e dos grupos controles foram submetidos aos testes de sensibilidade mecânica e térmica nos dias 15, 21, 30, 60, 90 e 120 após o nascimento. O teste de desempenho motor foi realizado nos dias 30, 60, 90 e 120 de nascidos (Figura 2).

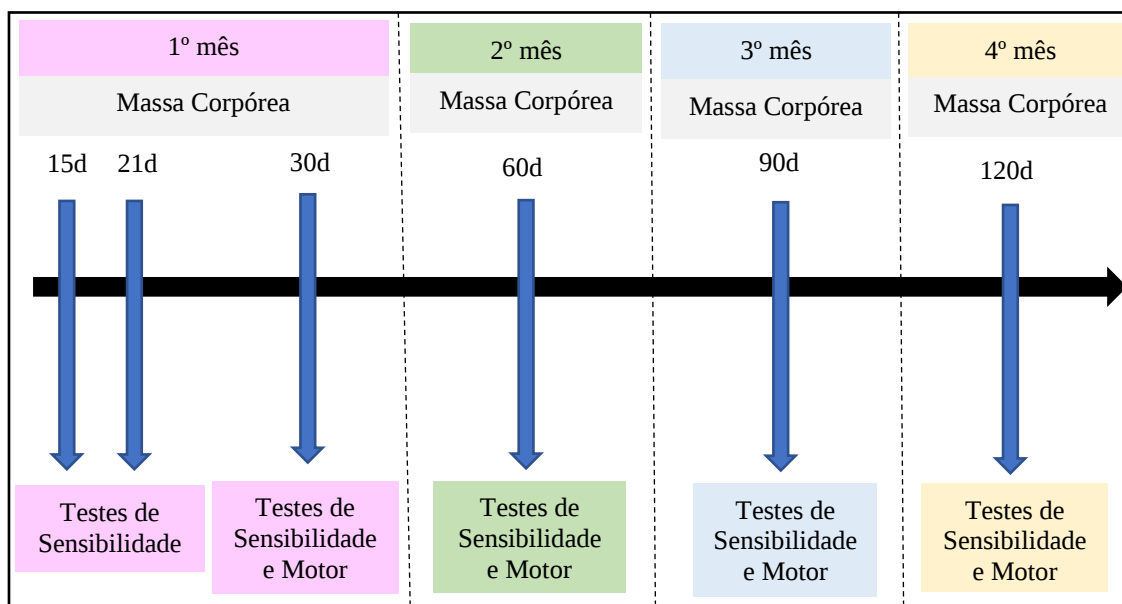


Figura 2. Acompanhamento da prole. d: dias de nascidos.

Sensibilidade mecânica

Para a avaliação do limiar mecânico de retirada da pata, foram utilizados os filamentos de von Frey aplicados diretamente à pata traseira. Inicialmente, os animais

foram aclimatados em suas caixas por 30 minutos na sala de comportamento. Na sequência, os animais foram colocados em cubículos transparentes sobre uma superfície de metal vasada e aclimatados novamente por 30 minutos. Séries de filamentos com resistência crescente (5,18 a 190,0 mN, calibrados em balança semi-automática de precisão) foram aplicados, em duplicata, na superfície plantar da pata traseira até que o animal manifestasse o comportamento de retirar a pata mediante o estímulo (Gopalkrishnan e Sluka 2000). A menor força na qual o animal retirou a pata de uma das duas aplicações foi registrada como limiar mecânico de retirada da pata, e interpretada como sensibilidade mecânica (cutânea). Esse método tem demonstrado extrema confiabilidade estatística (Sluka et al., 1999).

Sensibilidade térmica

A placa quente (*Insight®*) foi utilizada para avaliação da latência de resposta. Os animais foram colocados sobre uma chapa metálica aquecida ($55\pm 0,5$ °C) até reagirem ao estímulo térmico, caracterizado pelo comportamento de levantar ou lambe as patas, ou até completar o tempo máximo de 20 segundos. A latência de resposta foi então interpretada como limiar de sensibilidade térmica (Tita et al., 2001).

Avaliação do desempenho motor

Os possíveis efeitos motores na prole promovidos pela aplicação da TENS nas ratas prenhas foi testado através do Monitor de Atividades (*Insight®*, Ribeirão Preto, SP, Brasil), este equipamento possibilita a monitoração dos movimentos do animal alocado dentro de uma arena cúbica, por cinco minutos. Todos os movimentos dos animais são monitorados nos eixos X, Y, e Z (altura, largura e profundidade). O equipamento possui um programa capaz de reconhecer o deslocamento do animal sendo viável mensurar a velocidade e a distância percorrida (Teixeira et al., 2014).

4.5 Aplicação da TENS

Unidades portáteis de TENS (Select TENS; Empi Inc., St. Paul, MN) foram aplicadas nas ratas do 11º ao 20º dia de gestação (2ª fase gestacional) através de eletrodos de 0,5 polegadas de diâmetro que foram fixados à pele do animal com gel aquoso. Este dispositivo utiliza uma forma de onda simétrica e bifásica. A duração do pulso (0-400 µs) e amplitude (0-40 mA) estão interligados e definidos pelo controle de intensidade.

Para aplicação da TENS, a superfície da rata onde ficaria o eletrodo foi tricotomizada nas regiões específicas para cada grupo, abdome e paravertebral (figura 3). Um colete (5,0 x 5,0 x 0,3 cm) foi confeccionado com neoprene (parte interna) e courino (parte externa), no qual foram fixados dois eletrodos com esparadrapo. Em seguida, o colete foi amarrado sobre a região inferior do abdome ou paravertebral da rata prenha. Todos os animais dos grupos que receberam TENS foram submetidos a corrente de alta frequência (100 Hz), durante 20 minutos e com largura de pulso de 100 μ s. Os animais foram contidos com uma flanela no período de aplicação da corrente.

A intensidade foi definida pela quantidade de cliques (já que o painel do aparelho não mostra em miliamperes a intensidade determinada), estes foram aumentados até que o animal apresentasse contração muscular, determinando assim a intensidade motora. A intensidade sensorial foi determinada diminuindo a quantidade de cliques após o animal apresentar a contração muscular até que a mesma não fosse mais visível.

Nos grupos controles, os animais não receberam estimulação com corrente elétrica, no entanto, um grupo foi contido com a flanela por 20 minutos (CCC) e o outro não foi contido nem recebeu eletroestimulação (CSC).

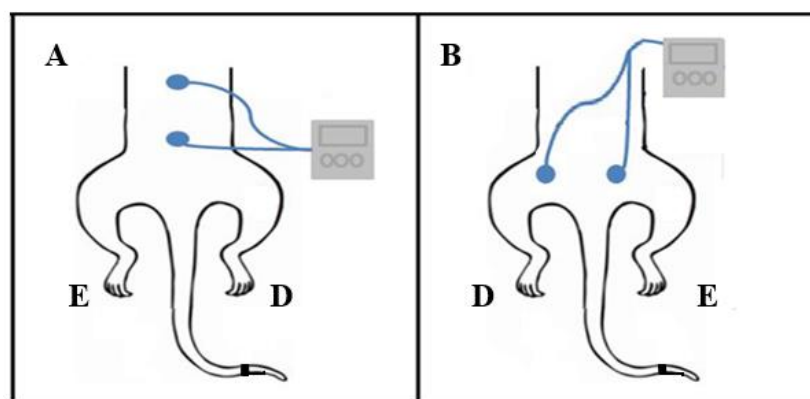


Figura 3. Colocação de eletrodos. A: Região paravertebral. B: Abdome. D e E significam pata direita e esquerda, respectivamente.

4.6 Análise Estatística

Primeiramente, foi realizado o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov. Os dados referentes aos testes de sensibilidade (von Frey e placa quente), desempenho motor (Monitor de Atividades) e massa corpórea estavam normalmente distribuídos e foram analisados por meio do teste estatístico ANOVA de duas vias para amostras repetidas, seguidos do pós teste de Tukey. Os dados referentes a duração da gestação e número de filhotes não estavam normalmente distribuídos e para analisá-los foi utilizado o teste de

Kruskal-Wallis. O nível crítico foi fixado em 5% para se admitir uma diferença de médias como estatisticamente significativa. Os resultados foram expressos em média $\pm$ erro padrão da média (EPM).

5 RESULTADOS

5.1 Avaliação das Ratas

5.1.1 Massa Corpórea

O teste de ANOVA para medidas repetidas revelou diferenças no tempo (dias de gestação) [$F(9,216) = 406,9$, $p < 0,0001$] e na interação tempo e grupos [$F(45,216) = 4,106$]. O pós teste de Tukey mostrou que as ratas do grupo TSA e TMA apresentaram menor massa corpórea quando comparadas as do grupo CCC, nos dias 18 e 20 (tabela 1).

Grupos	Basal	Dia 1	Dia 4	Dia 6	Dia 8	Dia 11	Dia 13	Dia 15	Dia 18	Dia 20
CCC	254,6 (±8,51)	255,8 (±8,93)	260,4 (±9,33)	268 (±9,79)	273,6 (±9,21)	285,2 (±9,2)	293 (±8,2)	302,4 (±9,04)	322,8 (±7,41)	344,4 (±9,03)
CSC	223,2 (±6,01)	224,4 (±5,48)	226,6 (±5,62)	234,8 (±4,57)	241 (±4,11)	251,8 (±4,23)	274,8 (±5,61)	289 (±5,04)	308,2 (±6,44)	315 (±7,9)
TSP	232,6 (±9)	235 (±8,58)	239 (±9,44)	244 (±11,08)	248,6 (±10,58)	256,6 (±11,1)	266,6 (±9,19)	285,6 (±8,05)	300,4 (±11,31)	321 (±9,19)
TMP	228,4 (±7,67)	231 (±7,95)	237,64 (±9,25)	238,8 (±9,47)	246,2 (±9,51)	254,2 (±10,56)	260,4 (±10,47)	267,4 (±11,69)	289 (±12,98)	310,2 (±14,23)
TSA	232,4 (±3,89)	233,6 (±5,57)	240 (±4,57)	245 (±4,39)	250,4 (±5,33)	255 (±5,16)	261,8 (±4,77)	267,8 (±7,14)	281 (±9,77)†	291,2 (±13,29)†
TMA	228,4 (±9,82)	232,8 (±9,13)	240,2 (±10,41)	245 (±10,45)	250,2 (±11,13)	255,6 (±12,45)	263,8 (±11,42)	270,4 (±11,66)	284,2 (±12,36)††	293,2 (±11,92)††

Tabela 2. Média da massa corpórea, em gramas, de ratas submetidas a aplicação repetida da TENS durante a segunda fase gestacional. †Menor massa corpórea do grupo TSA em relação ao CCC, nos dias 18 ($p=0,0156$) e 20 ($p=0,0006$). ††Menor massa corpórea do grupo TMA em relação ao CCC, nos dias 18 ($p=0,0334$) e 20 ($p=0,0012$). ANOVA de duas vias, com pós teste de Tukey.

5.1.2 Número de Filhotes

O teste Kruskal-Wallis revelou que as medianas variavam significativamente ($p=0,0392$), mas não houve diferenças significativas entre os grupos.

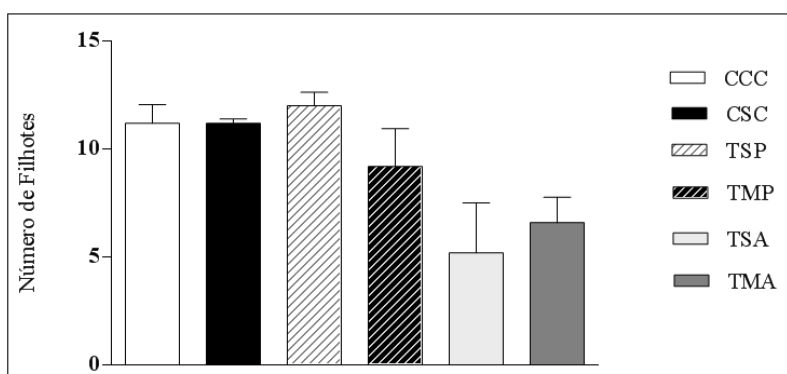


Figura 4. Número de filhotes de ratas submetidas à aplicação repetida da TENS durante a segunda fase gestacional. Teste de Kruskal-Wallis, com pós teste de Dunn.

5.1.3 Dias para o parto

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos no que se refere a quantidade de dias para o parto (figura 5).

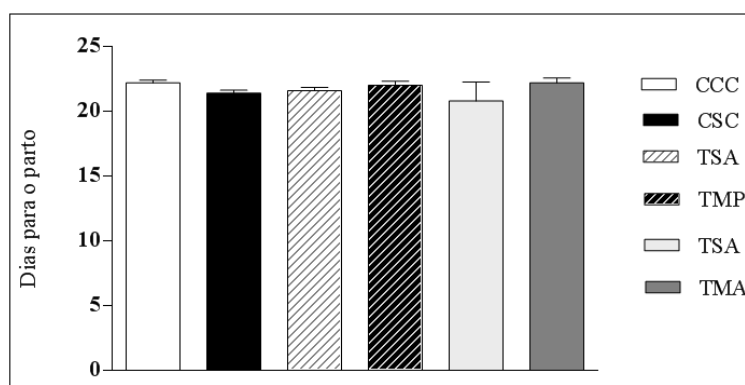


Figura 5. Dias para o parto de ratas submetidas à aplicação repetida da TENS durante a segunda fase gestacional. Teste de Kruskal-Wallis.

5.2 Avaliação da Prole

5.2.1 Massa corpórea

Com relação a massa corpórea da prole masculina (tabela 2), foram observadas diferenças no fator tempo [$F(7, 336) = 3941$, $p < 0,0001$], nos grupos [$F(48, 336) = 3473$, $p < 0,0001$] e na interação tempo e grupos [$F(35, 336) = 4,432$, $p < 0,0001$].

Com 60 dias, a prole masculina pertencente ao grupo TMP apresentou menor massa corpórea quando comparada aos grupos CCC, TSP, TSA e TMA.

A prole masculina do grupo TSP apresentou menor massa corpórea em relação as proles dos grupos CCC e TSA, com 90 dias. Similarmente, o grupo TMP apresentou menor massa corpórea quando comparado aos grupos CCC, CSC, TSA e TMA, também com 90 dias. Com 120 dias, pode ser observada menor massa corpórea da prole masculina do grupo TMA quando comparada as proles dos grupos CCC, CSC e TSP.

Grupos	Dia 1	Dia 7	Dia 15	Dia 21	Dia 30	Dia 60	Dia 90	Dia 120
CCC	7,79 (±0,21)	15,21 (±0,97)	31,16 (±1,09)	46,3 (±1,24)	90,48 (±0,98)	249,42 (±6,59)	328,31 (±6,22)	376,33 (±12,91)
CSC	6,78 (±0,24)	15,63 (±0,6)	28,36 (±1,12)	44,14 (±1,66)	79,64 (±1,8)	224,99 (±5,98)	319,93 (±7,56)	392,99 (±15,93)
TSP	7,21 (±0,2)	13,54 (±0,42)	29,44 (±0,79)	48,58 (±2,54)	90,44 (±1,66)	248,52 (±7,9)	301,42 (±14,96)*	381,76 (±10,43)
TMP	7,38 (±0,36)	16,47 (±1,55)	30,82 (±2,43)	45,75 (±2,52)	84,6 (±3,39)	209,1 (±10,64)‡	281,05 (±12,83)**	359,35 (±10,72)
TSA	7,46 (±0,33)	15,21 (±1,1)	34,95 (±2,54)	55,05 (±5,29)	101,84 (±5,04)	259,43 (±10,65)	334,4 (±7,73)	367,86 (±9,31)
TMA	6,9 (±0,34)	15,32 (±1,06)	30,4 (±2,01)	50,04 (±2,85)	93,2 (±4,33)	248,19 (±7,7)	317,79 (±9,19)	342,01 (±8,72)††

Tabela 3. Média da massa corpórea da prole (machos), em gramas, de ratas submetidas a aplicação repetida da TENS durante a segunda fase gestacional. ‡Menor massa corpórea do grupo TMP em relação aos grupos CCC ($p=0,0002$), TSP ($p=0,0003$), TSA ($p<0,0001$) e TMA ($p=0,0003$), com 60 dias. *Menor massa corpórea do grupo TSP em relação aos grupos CCC ($p=0,0404$) e TSA ($p=0,0047$), com 90 dias. **Menor massa corpórea do grupo TMP quando comparado aos grupos CCC ($p<0,0001$), CSC ($p=0,0004$), TSA ($p<0,0001$) e TMA ($p=0,0010$), com 90 dias. ††Menor massa corpórea do grupo TMA quando comparado aos grupos CCC ($p=0,0028$), CSC ($p<0,0001$) e TSP ($p=0,0003$), com 120 dias. ANOVA de duas vias, pós teste de Tukey

Com relação à massa corpórea da prole feminina (tabela 3), também foram observadas diferenças no fator tempo [$F(7, 294) = 3118$, $p<0,0001$], nos grupos [$F(42, 294) = 3,024$, $p<0,0001$] e na interação tempo e grupos [$F(35, 294) = 1,746$, $p=0,0075$].

Com 60 dias, o grupo TMP apresentou menor massa corpórea em relação aos demais grupos. Com 90 dias, o grupo TMP também apresentou menor massa corpórea quando comparado aos grupos TSP e TSA, não existindo diferenças em relação aos controles. Da mesma forma, com 120 dias, o grupo TMP apresentou menor massa corpórea quando comparado ao grupo TMA, também sem diferenças em relação aos controles.

Grupos	Dia 1	Dia 7	Dia 15	Dia 21	Dia 30	Dia 60	Dia 90	Dia 120
CCC	7,6 ($\pm 0,14$)	14,32 ($\pm 0,87$)	29,33 ($\pm 0,84$)	42,62 ($\pm 1,6$)	83,52 ($\pm 2,38$)	190,52 ($\pm 3,94$)	218,94 ($\pm 5,47$)	240,55 ($\pm 7,36$)
CSC	6,2 ($\pm 0,22$)	13,28 ($\pm 0,6$)	28,19 ($\pm 1,26$)	40,79 ($\pm 2,51$)	73,33 ($\pm 2,56$)	189,16 ($\pm 12,59$)	220,6 ($\pm 7,09$)	242,07 ($\pm 6,46$)
TSP	6,79 ($\pm 0,15$)	13,02 ($\pm 0,53$)	28,1 ($\pm 0,47$)	43,76 ($\pm 2,14$)	86,26 ($\pm 3,03$)	178,05 ($\pm 6,21$)	228,49 ($\pm 5,43$)	244,07 ($\pm 5,23$)
TMP	6,15 ($\pm 0,2$)	14,05 ($\pm 0,66$)	26,8 ($\pm 1,38$)	42,19 ($\pm 2,3$)	78,35 ($\pm 2,04$)	157,97 ($\pm 6,55$)*	207,47 ($\pm 6,52$)**	229,74 ($\pm 6,21$)††
TSA	8,3 ($\pm 0,43$)	15,36 ($\pm 0,92$)	35,7 ($\pm 1,44$)	55,39 ($\pm 4,48$)	98,02 ($\pm 3,16$)	194,75 ($\pm 4,23$)	234,36 (± 6)	247,32 ($\pm 6,32$)
TMA	6,85 ($\pm 0,47$)	15,99 ($\pm 1,25$)	33,95 ($\pm 1,58$)	54,18 ($\pm 3,16$)	95,34 ($\pm 1,87$)	185,55 ($\pm 4,93$)	223,66 ($\pm 3,66$)	249,88 ($\pm 12,76$)

Tabela 4. Média da massa corpórea, em gramas, da prole (fêmeas) de ratas submetidas a aplicação repetida da TENS durante a segunda fase gestacional. *Menor massa corpórea do grupo TMP em relação aos demais grupos ($p < 0,04$), com 60 dias. **Menor massa corpórea do grupo TMP quando comparado aos grupos TSP ($p = 0,0237$) e TSA ($p = 0,0007$), com 90 dias. ††Menor massa corpórea do grupo TMP em relação ao grupo TMA ($p = 0,0352$), com 120 dias. ANOVA de duas vias, com pós teste de Tukey.

5.2.2 Teste de sensibilidade mecânica (filamentos de Von Frey)

Na pata esquerda não foram encontradas diferenças significativas no limiar mecânico de retirada da pata da prole masculina (figura 6). Entretanto, na pata direita, foi observado um efeito no fator interação tempo e grupos [$F(25,240) = 2,180$, $p = 0,0014$]. O grupo TSA apresentou maior limiar em relação ao grupo CCC ($p = 0,0196$), com 15 dias. (figura 7).

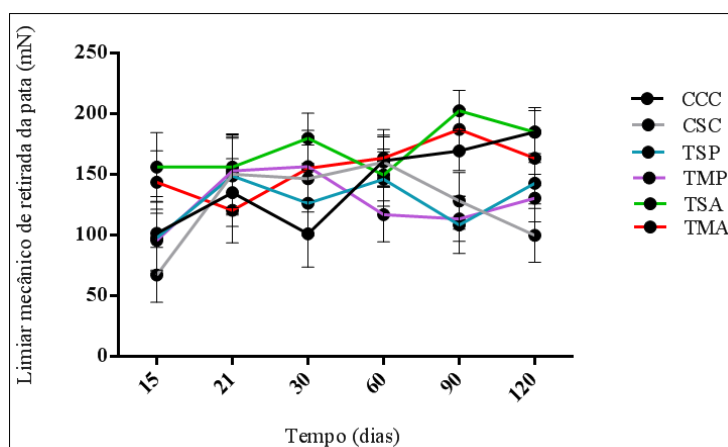


Figura 6. Limiar mecânico de retirada da pata, em mN, obtido através do teste com filamentos de Von Frey, realizado na pata trazeira esquerda da prole (machos) proveniente de ratas que foram submetidas a aplicação repetida da TENS durante a segunda fase gestacional. ANOVA de duas vias, com pós teste de Tukey.

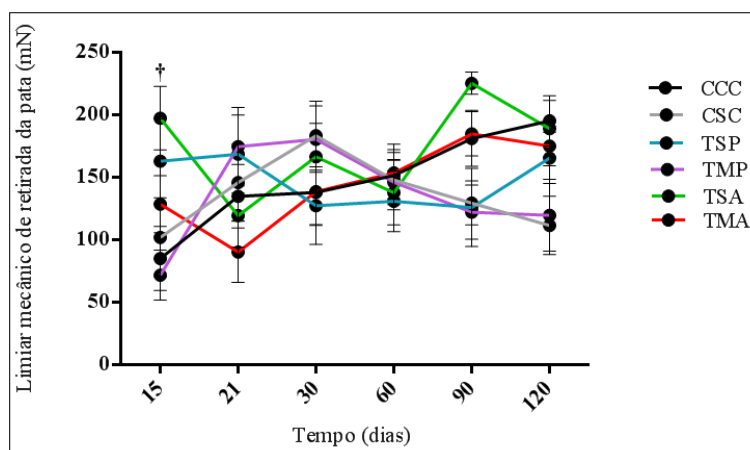


Figura 7. Limiar mecânico de retirada da pata, em mN, obtido através do teste com filamentos de Von Frey, realizado na pata trazeira direita da prole (machos) proveniente de ratas que foram submetidas a aplicação repetida da TENS durante a segunda fase gestacional. †Maior limiar do grupo TSA em relação ao grupo CCC ($p=0,0196$), com 15 dias. ANOVA de duas vias, com pós teste de Tukey.

Nas fêmeas, também não foram encontradas diferenças significativas na pata esquerda (figura 8). No entanto, na pata direita (figura 9) foram encontradas diferenças no tempo [$F(5, 210) = 5,850$, $p < 0,0001$], nos grupos [$F(42, 210) = 2,350$, $p < 0,0001$] e na interação tempo e grupos [$F(25, 210) = 2,493$, $p = 0,0002$]. A prole feminina do grupo TSP apresentou maior limiar quando comparada a dos grupos CCC, TMP e TSA, com 21 dias. O grupo TMA apresentou maior limiar em relação ao grupo CCC, com 30 dias.

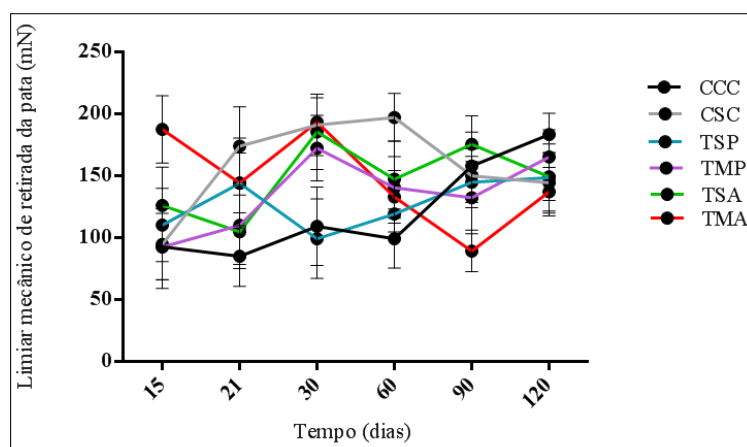


Figura 8. Limiar mecânico de retirada da pata, em mN, obtido através do teste dos filamentos de Von Frey, realizado na pata trazeira esquerda da prole (fêmeas) proveniente de ratas submetidas a aplicação repetida da TENS durante a segunda fase gestacional. ANOVA de duas vias, com pós teste de Tukey.

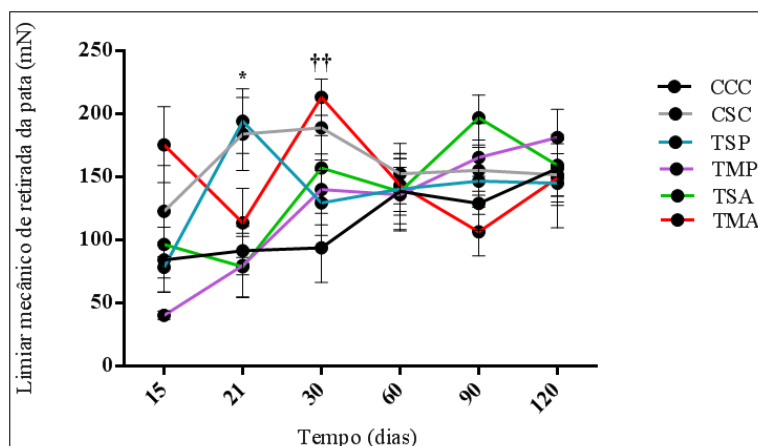


Figura 9. Limiar mecânico de retirada da pata, em mN, obtido através do teste dos filamentos de Von Frey, realizado na pata trazeira direita da prole (fêmeas) proveniente de ratas submetidas a aplicação repetida da TENS durante a segunda fase gestacional. *Maior limiar do grupo TSP quando comparado aos grupos CCC ($p=0,0434$), TMP ($p=0,0159$) e TSA ($p=0,0146$), com 21 dias. ††Maior limiar do grupo TMA em relação ao grupo CCC ($p=0,001$), com 30 dias. ANOVA de duas vias, com pós teste de Tukey.

5.2.3 Teste de sensibilidade térmica (placa quente)

Com relação ao tempo de latência da prole masculina foi encontrado diferença no fator tempo [$F(5, 240) = 25,20$, $p < 0,0001$]. Porém, não foram observadas diferenças nos grupos ou na interação tempo e grupos (figura 10).

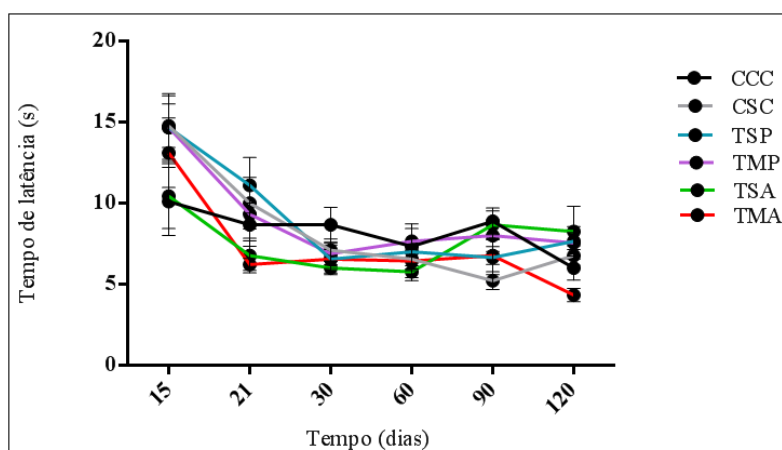


Figura 10. Tempo de latência, em segundos, obtido através do teste da placa quente, aplicado na prole (machos) de ratas submetidas a aplicação repetida da TENS durante a segunda fase gestacional. ANOVA de duas vias.

Na prole feminina (figura 11), foram encontradas diferenças no fator tempo [$F(5, 210) = 1,658$, $p < 0,0001$] e na interação tempo e grupos [$F(25, 210) = 1,658$, $p = 0,0303$]. O grupo CSC apresentou maior tempo de latência quando comparado aos grupos CCC, TSA e TMA, com 15 dias. O grupo CSC apresentou maior tempo de latência em relação ao TSP, com 30 dias.

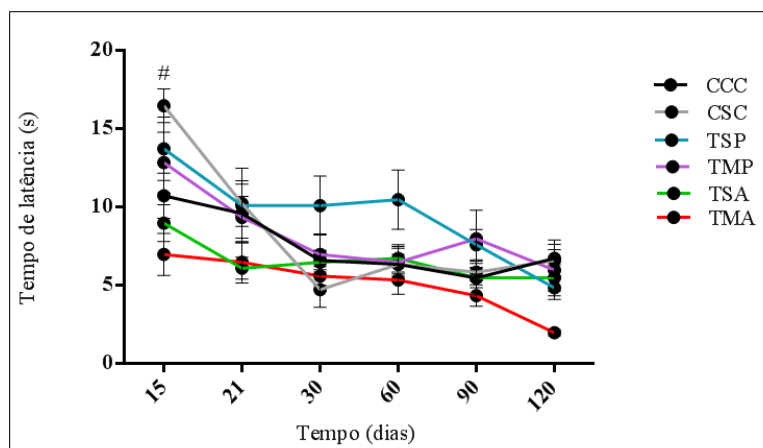


Figura 11. Tempo de latência, em segundos, obtido através do teste da placa quente, aplicado na prole (fêmeas) de ratas submetidas a aplicação repetida da TENS durante a segunda fase gestacional. #Maior tempo de latência do grupo CSC quando comparado aos grupos CCC ($p=0,018$), TSA ($p=0,0005$) e TMA ($p<0,0001$), com 15 dias. #Maior tempo de latência do grupo CSC em relação ao TSP ($p=0,0339$), com 30 dias. ANOVA de duas vias, com pós teste de Tukey.

5.2.4 Teste de desempenho motor (monitor de atividades)

Com relação a distância percorrida da prole masculina foi encontrado diferença no fator tempo [$F(3, 144) = 3,563$, $p=0,0158$]. Não foram encontradas diferenças no fator grupos ou interação tempo e grupos (figura 12). Com relação à velocidade foi encontrado diferença no fator tempo [$F(3, 144) = 12,75$, $p<0,0001$] e nos grupos [$F(48, 144) = 1,530$, $p=0,0288$]. O grupo TSA apresentou maior velocidade quando comparado ao CSC, apenas com 60 dias (figura 13).

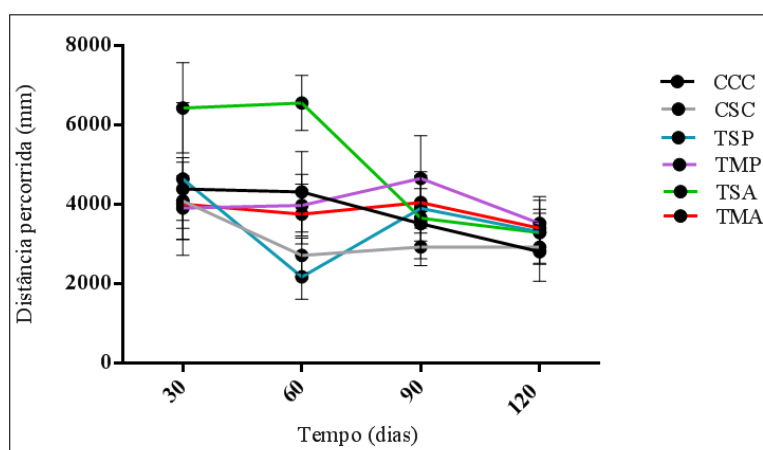


Figura 12. Distância percorrida, em milímetros, obtida no teste de desempenho motor (Monitor de Atividades) da prole (machos) de ratas submetidas a aplicação repetida da TENS durante a segunda fase gestacional. ANOVA de duas vias, com pós teste de Tukey.

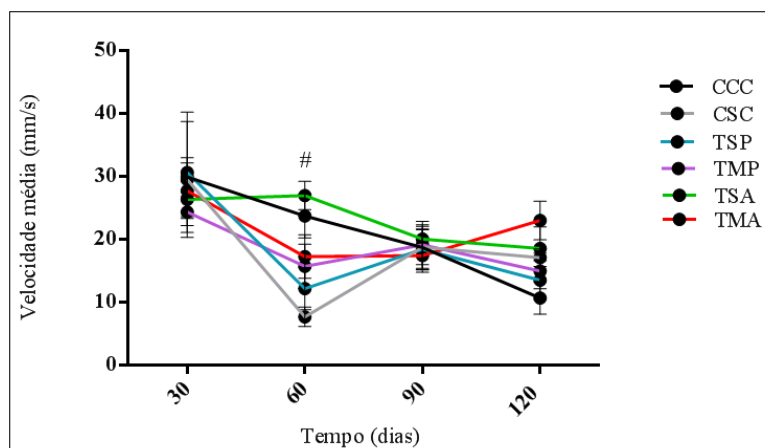


Figura 13. Velocidade média, em milímetros por segundo, obtidas no teste de desempenho motor (Monitor de Atividades) da prole (machos) de ratas submetidas a aplicação repetida da TENS durante a segunda fase gestacional. #Maior velocidade do grupo TSA quando comparado ao CSC, com 60 dias ($p=0,009$). ANOVA de duas vias, com pós teste de Tukey.

Com relação à distância percorrida da prole feminina, não foram encontradas diferenças no tempo, grupos ou interação tempo e grupos (figura 14). Com relação a velocidade foi encontrado diferença no fator tempo [$F(3, 126) = 3,435$, $p=0,019$] e nos grupos [$F(42,126) = 1,501$, $p=0,0446$]. (figura 15). O grupo TMA apresentou maior velocidade quando comparado ao grupo CSC, apenas com 60 dias.

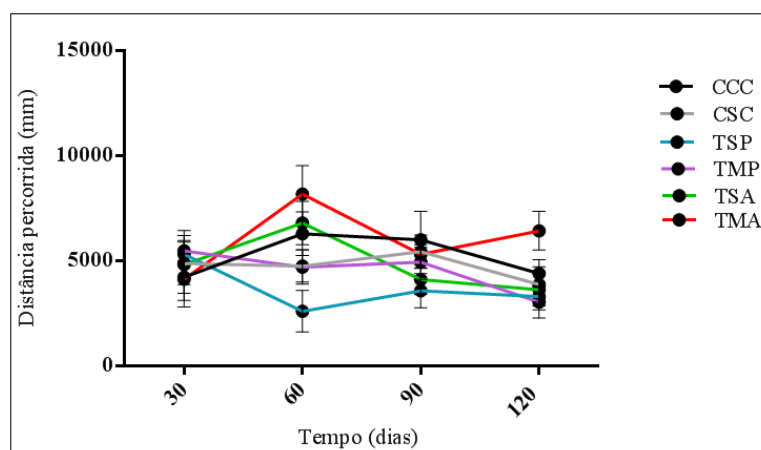


Figura 14. Distância percorrida, em milímetros, obtidas no teste de desempenho motor (Monitor de Atividades) da prole (fêmeas) de ratas submetidas a aplicação repetida da TENS durante a segunda fase gestacional. ANOVA de duas vias, com pós teste de Tukey.

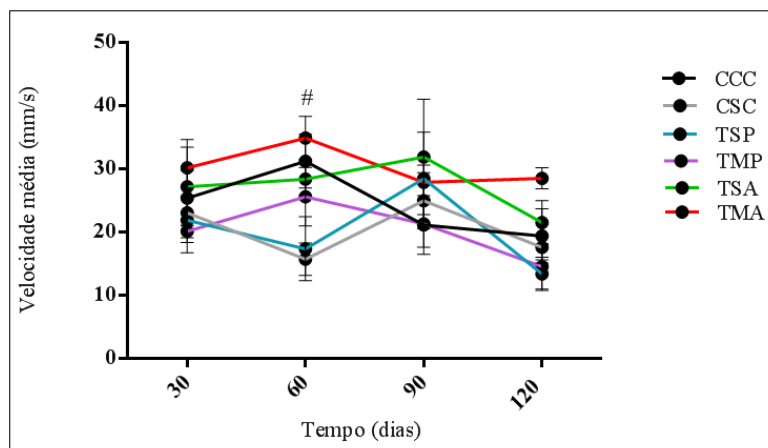


Figura 15. Velocidade média (B), em milímetros por segundo, obtidas no teste de desempenho motor (Monitor de Atividades) da prole (fêmeas) de ratas submetidas a aplicação repetida da TENS durante a segunda fase gestacional. #Maior velocidade do grupo TMA quando comparado ao grupo CSC ($p=0,0299$). ANOVA de duas vias, com pós teste de Tukey.

6 DISCUSSÃO

O presente estudo investigou possíveis alterações comportamentais de proles expostas a TENS no período intrauterino, assim como parâmetros relacionados à gestação das ratas. Foram encontradas alterações na massa corpórea das ratas prenhas, assim como na massa corpórea e sensibilidade mecânica da prole, no entanto, os dados relacionados ao número de filhotes, dias para o parto, sensibilidade térmica e desempenho motor não apresentaram diferenças entre os grupos que receberam TENS e o controle (CCC).

Os grupos das ratas que foram submetidas a aplicação da TENS no abdome pode ter apresentado menor massa corpórea por terem gerado menor número de filhotes. Estes dados não apresentaram diferenças significantes estatisticamente, contudo, podem ter influenciado para o menor ganho de peso das ratas dos grupos TSA e TMA no final da gestação, sugerindo que a TENS não teve relação com a massa corpórea das ratas.

Yokoyama et al. (2015) também avaliaram os efeitos da aplicação da TENS sobre parâmetros gestacionais. Foram utilizados 30 camundongos, divididos em três grupos ($n = 10$): controle (sem corrente elétrica), TENS de baixa frequência (grupo BF) e TENS de alta frequência (grupo AF). A TENS foi aplicada no abdome dos animais durante toda gestação.

No grupo BF, a frequência foi de 10 Hz, a duração do pulso foi de 200 μ s e a intensidade sensorial começou em 2 mA e foi aumentada 1 mA a cada 5 minutos. No grupo AF, a frequência foi de 150 Hz e os demais parâmetros foram iguais. Todos os protocolos de estimulação foram aplicados por 20 minutos, do dia 0 até o dia 20. Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos controle e TENS com relação ao peso das ratas, número de filhotes, peso da placenta, número de implantações e reabsorções fetais e malformações fetais externas, concluindo que a aplicação da TENS de baixa e alta frequência no abdome de camundongos prenhas não causou efeitos teratogênicos deletérios.

Em divergência com Yokoyama et al. (2015), que utilizou uma mesma intensidade (2 mA) para todos os animais, o presente estudo levou em consideração o limiar sensitivo de cada animal, mimetizando a prática clínica e, assim, diferenciando os grupos em estimulação sensorial e motora.

Intensidades muito baixas da TENS apresentam forte evidência de ineficácia terapêutica (Claydon et al., 2011), o que leva a hipótese de que também não seriam suficientes para promover efeitos deletérios. Em contrapartida, a intensidade utilizada no

presente estudo foi suficientemente alta para ativar fibras motoras (grupos motores – TMP e TMA) ou para atingir o máximo de estimulação a nível sensorial (grupos sensoriais – TSP e TSA) e mesmo assim, nenhuma alteração significativa em relação a parâmetros gestacionais foi encontrada no presente estudo.

A escassez na literatura sobre a utilização da TENS durante o período gestacional, dificulta sua indicação como recurso terapêutico analgésico em mulheres gestantes. Apenas Keskin et al., (2012) avaliaram o efeito terapêutico da TENS em mulheres no terceiro trimestre gestacional, com ótimos resultados para alívio da dor lombar, no entanto, não acompanharam a prole ao longo da vida.

Logo, sabendo que essa corrente pode promover analgesia em mulheres gestantes, os efeitos indesejados da TENS tanto para mãe como para prole precisam ser melhor estudados. Diante disso, além dos aspectos gestacionais avaliados, o presente estudo também avaliou massa corpórea e parâmetros comportamentais da prole desde a infância até a fase adulta.

Com relação à massa corpórea, assim como relatado por Yokohama et al. (2015), a TENS não promoveu efeitos adversos no peso do feto ao nascimento. No entanto, analisando ao longo do tempo, pode-se observar que a TENS promoveu alteração da massa corpórea da prole, a partir de 60 dias de nascidos, especificamente nos grupos TMP, TSP e TMA. Contudo, esses achados foram em momentos pontuais e não seguiram um padrão de continuidade que pudesse garantir a ação da TENS sobre essas alterações.

Na avaliação da sensibilidade mecânica, a pata direita dos filhotes cujas mães prenhas foram submetidas a aplicação da TENS, com intensidade sensorial na região do abdome e paravertebral, apresentou efeito antihiperálgico até o primeiro mês de vida. Esse efeito não foi verificado nos grupos que receberam TENS a nível motor.

O efeito antihiperálgico promovido pela TENS é esperado diante do tratamento de várias condições dolorosas (Oosterhof et al., 2012; Facci et al., 2011; Tugay et al., 2007; Vance et al., 2012; DeSantana et al., 2009; Francis, 2012). Ou seja, uma vez que o limiar esteja diminuído (hiperalgesia), devido a algum tipo de condição dolorosa, o aumento do limiar após a aplicação da corrente é um efeito desejado (antihiperálgico). Porém, este estudo mostrou maior limiar sensitivo basal de proles que não foram submetidas a nenhum protocolo de nocicepção. Além disso, esse maior limiar não foi observado na pata esquerda.

Limiar sensitivo basal aumentado pode não ser favorável a função protetora da dor. Em contrapartida, se não atingir níveis que comprometam a função protetora da dor, pode

ser benéfico, pois promoverá maior resistência diante de estímulos dolorosos (Bastos et al., 2007). Para resolver essa questão, novo estudo deve ser realizado a fim de avaliar a função protetora da dor em animais que receberam TENS na vida intrauterina e cujo limiar sensitivo basal esteja comprovadamente aumentado.

Na avaliação da sensibilidade térmica e desempenho motor, não houve alteração promovida pela TENS, sugerindo que, quando aplicada em ratas prenhas, essa corrente não apresenta repercussões positivas, nem negativas na sensibilidade térmica e desempenho motor da prole, e em virtude da condição basal, ou seja, sem lesão, a ausência de alterações é importante porque representa a manutenção da homeostase.

O presente estudo teve algumas limitações, a primeira delas é o fator contensão. O fato de conter a rata preta, para aplicação da corrente, pode favorecer o estresse materno e fetal. Guest et al., (2013) relata que a exposição a situações de estresse crônico induz a hiperatividade do eixo HPA, ou seja, ocorre aumento da secreção do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) pela pituitária, que, por sua vez, estimula a glândula adrenal a sintetizar glicocorticoides, o hormônio do estresse. Quando essa exposição ocorre no período gestacional, pode reprogramar esse eixo na prole (Guest et al., 2013).

No entanto, ao compararmos grupos TENS com o grupo controle que foi submetido a mesma condição de estresse da contensão, esse fator limitante é minimizado. Vale ressaltar que na prática clínica as mulheres não são contidas para aplicação da TENS, logo, este tipo de estresse não está presente clinicamente. Embora Bundsen e Ericson (1982) relatem que a TENS pode ser desconfortável para a mãe, dependendo da frequência e intensidade utilizada, porém, eles avaliaram a aplicação da TENS durante o trabalho de parto.

Outra limitação foi a falta de análise no número de sítios de implantações e reabsorções fetais, além do peso da placenta. Para realizar essas análises é necessário eutanasiar a prole e a mãe no dia do parto, o que inviabilizaria o acompanhamento da prole ao longo da vida. No entanto, esses dados foram realizados por Yokohama et al. (2015), que não encontraram diferenças entre os grupos TENS e controle. Com essas análises, pode-se obter cálculos de índices reprodutivos como: índice de perda pré-natal, porcentagem de perda após implantação, índice placentário e taxa de viabilidade fetal (Al-Hamood et al., 1998).

Diante desse contexto, almeja-se que a TENS seja uma boa alternativa ao uso de fármacos analgésicos em mulheres grávidas, uma vez que esses já possuem comprovados

efeitos deletérios nessa população (Eyers et al., 2011; Melo et al., 2017; Liew et al., 2014; Antonucci et al., 2012; McQueen e Murphy-Oikonen, 2016).

Os estudos sobre o uso de medicamentos durante a gestação só foram intensificados na década de 1950, após a descoberta da ligação entre a talidomida, fármaco utilizado para náusea e vômito no período gestacional, e o aparecimento de cerca de 10 mil casos de focomelia, um tipo de má-formação congênita. Antes, acreditava-se que a placenta protegia o feto da ação dos fármacos ingeridos pela mãe, hoje sabe-se que a maioria dos medicamentos utilizados na gestação atravessam a barreira placentária podendo causar prejuízos no desenvolvimento do feto (Moro e Invernizzi, 2017; Saldanha, 1994).

O acetaminofeno (paracetamol), por exemplo, atravessa a barreira placentária e com isso, quando administrado durante a gestação, pode levar a efeitos deletérios na criança, tais como a asma (Eyers et al., 2011), autismo (Melo et al., 2017) e transtorno do déficit de atenção e hiperatividade (Liew et al., 2014).

Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), quando administrados em mulheres grávidas, também podem atravessar a placenta e causar efeitos adversos na prole, dependendo do tipo de agente, da dose, da duração da terapia, do período de gestação e do tempo decorrido entre a administração do AINE materno e o parto. Quando utilizados no início da gravidez, estão associados ao aumento do risco de aborto espontâneo e malformações. Entretanto, após 30 semanas, aumenta o risco de fechamento prematuro do ducto arterioso fetal e oligoidrâmnio (Antonucci et al., 2012).

Já os opióides, quando utilizados durante a gravidez, podem levar a síndrome de abstinência neonatal (SAN). A SAN ocorre em 55% a 94% dos recém-nascidos cujas mães eram dependentes ou tratadas com opióides durante a gravidez. As manifestações clínicas mais comuns são tremores leves, irritabilidade, febre, perda excessiva de peso e convulsões. Os sinais clínicos geralmente se desenvolvem nos primeiros dias após o nascimento, embora o tempo de início, assim como a gravidade, possam variar. Essa variação é pouco compreendida e acredita-se ser multifatorial. Em particular, o tipo de opioide, a dose e o tempo de exposição podem alterar o risco de abstinência (McQueen e Murphy-Oikonen, 2016).

Atualmente, poucos estudos avaliaram os possíveis efeitos adversos da aplicação da TENS no útero gravídico e nenhum deles avaliou sensibilidade mecânica, térmica e desempenho motor da prole. (Kubista e Philipp, 1979; Kubista, Philipp, e Boschitsch, 1980), por exemplo, sugeriram que a TENS, utilizada em uma frequência de 60 a 80 Hz e com duração de pulso de 250 μ s, produz aumento da perfusão placentária em mulheres

com fluxo placentário diminuído. No entanto, um estudo mais recente mostrou que a TENS, quando aplicada a uma frequência de 80 Hz, duração de pulso de 200 μ s e intensidade de 4 a 6 mA, por 30 minutos, reduz a perfusão placentária, peso e comprimento fetal, peso e volume da placenta e número de vasos placentários, em um modelo animal de insuficiência placentária (De Oliveira et al., 2013). Esses resultados divergentes sobre o efeito da TENS no fluxo placentário só corroboram com a necessidade da realização de mais estudos acerca do tema.

Estudos pré-clínicos, como este, possuem um papel importante nesse contexto, pois a partir deles novos ensaios clínicos randomizados (ECRs) podem ser elaborados com mais segurança e embasamento científico. Para indicação segura dessa corrente, seu uso na gestação deve ser investigado de forma a esclarecer quais os parâmetros da TENS, incluindo frequência, intensidade, duração de pulso, local dos eletrodos e tempo de aplicação, oferecerão efeito terapêutico benéfico, sem prejuízos relacionados à mãe ou à prole.

Além disso, para assegurar a qualidade desses trabalhos, eles devem manter uma rigorosa análise do risco de viés, com geração aleatória da sequência dos participantes, ocultação de alocação, cegamento de participantes e profissionais, cegamento dos avaliadores de desfecho, dentre outros domínios de avaliação (Higgins e Green, 2011). Tanto os ensaios clínicos como os de experimentação animal devem padronizar: os parâmetros da TENS, doenças associadas e as medidas de avaliação. Todos esses aspectos em conjunto promoverão confiabilidade no emprego da corrente.

O presente estudo contribuiu para elucidar um pouco mais a respeito da aplicação da TENS durante a gestação, no entanto, sugerir essa corrente como uma alternativa segura à administração de fármacos analgésicos durante a gestação seria precipitado. Esse é um tema que precisa de mais estudos pré clínicos, e posteriormente clínicos, que garantam a utilização segura da TENS em gestantes. Além disso, outros parâmetros precisam ser melhor avaliados, como os índices reprodutivos, acompanhar a prole frente a uma condição dolorosa e realizar análise histomorfológica do útero e da placenta.

É preciso ressaltar a necessidade de se utilizar recursos eletroterapêuticos, como a TENS, com base em evidências científicas. Isso vai proporcionar ao profissional de saúde segurança na indicação ou contraindicação da TENS, nas diversas patologias e condições clínicas.

7 CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo mostraram que a TENS não promoveu alterações em parâmetros gestacionais, como número de filhotes e dias para o parto. Assim como em parâmetros comportamentais da prole, como sensibilidade térmica e desempenho motor, desde a infância a fase adulta.

As alterações encontradas na massa corpórea das ratas prenhas e da prole, assim como na sensibilidade mecânica da prole, foram pontuais e não seguiram um padrão que pudesse garantir a ação da TENS sobre essas alterações.

Diante desse contexto, conclui-se que a TENS não promoveu alterações em parâmetros gestacionais e comportamentais que justifiquem a sua contraindicação absoluta no período gestacional, no entanto, mais estudos são necessários para garantir a utilização segura da TENS em gestantes.

REFERÊNCIAS

- Aires, Margarida de Mello. 2017. *Fisiologia*. 4º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Al-Hamood, M. H., A. Elbetieha, A. Alkofahi, e H. Bataineh. 1998. “Reproductive Toxicity Potentials of *Salvia Fruticosa* (Labiatae) in Rats”. *Journal of Ethnopharmacology* 61(1):67–74.
- Alwasel, Saleh H. e Nick Ashton. 2009. “Prenatal Programming of Renal Sodium Handling in the Rat”. *Clinical Science (London, England: 1979)* 117(2):75–84.
- Amarenco, G., S. Sheikh Ismael, A. Even-Schneider, P. Raibaut, S. Demaille-Wlodyka, B. Parratte, e J. Kerdraon. 2003. “Urodynamic Effect of Acute Transcutaneous Posterior Tibial Nerve Stimulation in Overactive Bladder”. *The Journal of Urology* 169(6):2210–15.
- Andrade, Antenor, Sergio Correia Pinto, e Rosilene Santos de Oliveira. 2002. *Animais de laboratório: criação e experimentação*. Rio de Janeiro (RJ): Ed. FIOCRUZ.
- Antonucci, Roberto, Marco Zaffanello, Elisabetta Puxeddu, Annalisa Porcella, Laura Cuzzolin, Maria Dolores Pilloni, e Vassilios Fanos. 2012. “Use of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs in Pregnancy: Impact on the Fetus and Newborn”. *Current Drug Metabolism* 13(4):474–90.
- Artal, R., BL Drinkwater, e RA Wiswell. 1999. *O exercício na gravidez*. Editora Manole.
- Ashworth, C. J., N. Hoggard, L. Thomas, J. G. Mercer, J. M. Wallace, e R. G. Lea. 2000. “Placental Leptin”. *Reviews of Reproduction* 5(1):18–24.
- Barker, D. J. 1995. “Fetal Origins of Coronary Heart Disease”. *BMJ (Clinical Research Ed.)* 311(6998):171–74.
- Bastos, Daniela Freitas, Glaucete Cerqueira Corrêa da Silva, Isabela Duque Bastos, Luciane Alves Teixeira, Maria Alice Lustosa, Maria Cristina da Silva Borda, Sílvia César Ribeiro Couto, e Therezinha Alves Vicente. 2007. “Dor”. *Revista da SBPH* 10(1):85–96.
- Branco, Marco, Rita Santos-Rocha, e Filomena Vieira. 2014. “Biomechanics of Gait during Pregnancy”. *TheScientificWorldJournal* 2014:527940.
- Brosseau, Lucie, Sarah Milne, Vivian Robinson, Serge Marchand, Beverley Shea, George Wells, e Peter Tugwell. 2002. “Efficacy of the Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation for the Treatment of Chronic Low Back Pain: A Meta-Analysis”. *Spine* 27(6):596–603.
- Bundsen, P. e K. Ericson. 1982. “Pain Relief in Labor by Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation. Safety Aspects”. *Acta Obstetricia Et Gynecologica Scandinavica* 61(1):1–5.

- Butkevich, Irina Pavlovna e Elena Andreevna Vershinina. 2003. "Maternal Stress Differently Alters Nociceptive Behaviors in the Formalin Test in Adult Female and Male Rats". *Brain Research* 961(1):159–65.
- Carvalho, Maria Emília Coelho Costa, Luciana Cavalcanti Lima, Cristovam Alves de Lira Terceiro, Deyvid Ravy Lacerda Pinto, Marcelo Neves Silva, Gustavo Araújo Cozer, e Tania Cursino de Menezes Couceiro. 2017. "Low Back Pain during Pregnancy". *Brazilian Journal of Anesthesiology (English Edition)* 67(3):266–70.
- Carvalho, Yara Barros Ribeiro De e Fátima Aparecida Caromano. 2001. "Alterações Morfofisiológicas Relacionadas Com Lombalgia Gestacional". *Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR* 5(3).
- Claydon, Leica S., Linda S. Chesterton, Panos Barlas, e Julius Sim. 2011. "Dose-Specific Effects of Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation (TENS) on Experimental Pain: A Systematic Review". *The Clinical Journal of Pain* 27(7):635–47.
- Dailey, Dana L., Barbara A. Rakel, Carol G. T. Vance, Richard E. Liebano, Anand S. Amrit, Heather M. Bush, Kyoung S. Lee, Jennifer E. Lee, e Kathleen A. Sluka. 2013. "Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation Reduces Pain, Fatigue and Hyperalgesia While Restoring Central Inhibition in Primary Fibromyalgia". *Pain* 154(11):2554–62.
- De Conti, Marta Helena Souza, Iracema de Mattos Paranhos Calderon, e Marilza Vieira Cunha Rudge. 2003. "Desconfortos músculo-esqueléticos na gestação: uma visão obstétrica e fisioterápica". *Femina* 31(6):531–35.
- DeSantana, J. M., L. F. S. Da Silva, M. A. De Resende, e K. A. Sluka. 2009. "Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation at Both High and Low Frequencies Activates Ventrolateral Periaqueductal Grey to Decrease Mechanical Hyperalgesia in Arthritic Rats". *Neuroscience* 163(4):1233–41.
- Desantana, Josimari M., Kathleen A. Sluka, e Gabriela Rocha Lauretti. 2009. "High and Low Frequency TENS Reduce Postoperative Pain Intensity after Laparoscopic Tubal Ligation: A Randomized Controlled Trial". *The Clinical Journal of Pain* 25(1):12–19.
- DeSantana, Josimari M., Deirdre M. Walsh, Carol Vance, Barbara A. Rakel, e Kathleen A. Sluka. 2008. "Effectiveness of Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation for Treatment of Hyperalgesia and Pain". *Current rheumatology reports* 10(6):492–99.
- Deyo, R. A., N. E. Walsh, D. C. Martin, L. S. Schoenfeld, e S. Ramamurthy. 1990. "A Controlled Trial of Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation (TENS) and Exercise for Chronic Low Back Pain". *The New England Journal of Medicine* 322(23):1627–34.
- Elden, Helen, Lars Ladfors, Monika Fagevik Olsen, Hans-Christian Ostgaard, e Henrik Hagberg. 2005. "Effects of Acupuncture and Stabilising Exercises as Adjunct to Standard Treatment in Pregnant Women with Pelvic Girdle Pain: Randomised Single Blind Controlled Trial". *BMJ (Clinical Research Ed.)* 330(7494):761.

- Ericson, A. e B. A. Källén. 2001. “Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs in Early Pregnancy”. *Reproductive Toxicology (Elmsford, N.Y.)* 15(4):371–75.
- Eriksson, J. G., T. Forsén, J. Tuomilehto, C. Osmond, e D. J. P. Barker. 2001. “Early growth and coronary heart disease in later life: longitudinal study”. *BMJ: British Medical Journal* 322(7292):949–53.
- Eriksson, Johan G., Tom J. Forsén, Eero Kajantie, Clive Osmond, e David J. P. Barker. 2007. “Childhood Growth and Hypertension in Later Life”. *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)* 49(6):1415–21.
- Eyers, S., M. Weatherall, S. Jefferies, e R. Beasley. 2011. “Paracetamol in Pregnancy and the Risk of Wheezing in Offspring: A Systematic Review and Meta-Analysis”. *Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology* 41(4):482–89.
- Facci, Ligia Maria, Jean Paulus Nowotny, Fabio Tormem, e Virgínia Fernandes Moça Trevisani. 2011. “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* 129(4):206–16.
- Ferreira, Cristine Homsy Jorge e Ana Márcia Spanó Nakano. 2000. “Lombalgia na gestação: etiologia, fatores de risco e prevenção”. *Femina* 28(8):435–38.
- Ferreira, Fabiana Cristina, Adriana Machado Issy, e Rioko Kimiko Sakata. 2011. “Avaliação do efeito da estimulação nervosa elétrica transcutânea (TENS) para analgesia após toracotomia”. *Revista Brasileira de Anestesiologia* 61(5):564–67.
- Foxcroft, Katie F., Ingrid J. Rowlands, Nuala M. Byrne, H. David McIntyre, Leonie K. Callaway, e BAMBINO group. 2011. “Exercise in Obese Pregnant Women: The Role of Social Factors, Lifestyle and Pregnancy Symptoms”. *BMC Pregnancy and Childbirth* 11:4.
- Francis, Richard. 2012. “TENS (Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation) for Labour Pain”. *The Practising Midwife* 15(5):20–23.
- Gazaneo, Marta Madeira e Liliam Fernandes de Oliveira. 1998. “Alterações posturais durante a gestação”. *Revista Brasileira de Atividade Física & Saúde* 3(2):13–21.
- Gluckman, Peter D. e Mark A. Hanson. 2004. “Developmental Origins of Disease Paradigm: A Mechanistic and Evolutionary Perspective”. *Pediatric Research* 56(3):311–17.
- Gopalkrishnan, P. e K. A. Sluka. 2000. “Effect of Varying Frequency, Intensity, and Pulse Duration of Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation on Primary Hyperalgesia in Inflamed Rats”. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation* 81(7):984–90.
- Guest, Francesca L., Daniel Martins-de-Souza, Hassan Rahmoune, Sabine Bahn, e Paul C. Guest. 2013. “The effects of stress on hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA)

- axis function in subjects with schizophrenia". *Archives of Clinical Psychiatry (São Paulo)* 40(1):20–27.
- Hales, C. N., D. J. Barker, P. M. Clark, L. J. Cox, C. Fall, C. Osmond, e P. D. Winter. 1991. "Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64." *BMJ: British Medical Journal* 303(6809):1019–22.
- Hingne, Priyanka M. e Kathleen A. Sluka. 2007. "Differences in Waveform Characteristics Have No Effect on the Anti-Hyperalgesia Produced by Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation (TENS) in Rats with Joint Inflammation". *The Journal of Pain: Official Journal of the American Pain Society* 8(3):251–55.
- Johnson, Mark I. e Ghazala Tabasam. 2003. "An Investigation into the Analgesic Effects of Interferential Currents and Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation on Experimentally Induced Ischemic Pain in Otherwise Pain-Free Volunteers." *Phys Ther* 83.
- Johnson, Michael e Melissa Martinson. 2007. "Efficacy of Electrical Nerve Stimulation for Chronic Musculoskeletal Pain: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials". *Pain* 130(1–2):157–65.
- de Jong, C. L., J. Gardosi, C. Baldwin, A. Francis, G. A. Dekker, e H. P. van Geijn. 1998. "Fetal Weight Gain in a Serially Scanned High-Risk Population". *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology: The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 11(1):39–43.
- Kalra, A., M. O. Urban, e K. A. Sluka. 2001. "Blockade of Opioid Receptors in Rostral Ventral Medulla Prevents Antihyperalgesia Produced by Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation (TENS)". *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 298(1):257–63.
- Keskin, E. A., O. Onur, H. L. Keskin, I. I. Gumus, H. Kafali, e N. Turhan. 2012. "Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation Improves Low Back Pain during Pregnancy". *Gynecologic and Obstetric Investigation* 74(1):76–83.
- Khadilkar, Amole, Sarah Milne, Lucie Brosseau, George Wells, Peter Tugwell, Vivian Robinson, Beverley Shea, e Michael Saginur. 2005. "Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation for the Treatment of Chronic Low Back Pain: A Systematic Review". *Spine* 30(23):2657–66.
- King, Ellen W., Katherine Audette, Gwendolyn A. Athman, H. Oanh X. Nguyen, Kathleen A. Sluka, e Carolyn A. Fairbanks. 2005. "Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation Activates Peripherally Located Alpha-2A Adrenergic Receptors". *Pain* 115(3):364–73.
- Kleinpaul, Julio Francisco, Luana Mann, Clarissa Stefani Teixeira, Luis Felipe Dias Lopes, Cristine Kolling Konopka, e Carlos Bolli Mota. 2009. "Gestação: equilíbrio corporal, dor lombar e quedas". *Brazilian Journal of Biomechanics = Revista Brasileira de Biomecânica* 10(18):14–21–21.

- Kristensen, David Møbjerg, Ulla Hass, Laurianne Lesné, Grete Lottrup, Pernille Rosenskjold Jacobsen, Christele Desdoits-Lethimonier, Julie Boberg, Jørgen Holm Petersen, Jorma Toppari, Tina Kold Jensen, Søren Brunak, Niels E. Skakkebaek, Christine Nellesmann, Katharina M. Main, Bernard Jégou, e Henrik Leffers. 2011. "Intrauterine Exposure to Mild Analgesics Is a Risk Factor for Development of Male Reproductive Disorders in Human and Rat". *Human Reproduction (Oxford, England)* 26(1):235–44.
- Kubista, E. e K. Philipp. 1979. "[The influence of TNS (transcutaneous nerve stimulation) on placental flow (author's transl)]". *Zeitschrift Fur Geburtshilfe Und Perinatologie* 183(1):30–34.
- Kubista, E., K. Philipp, e E. Boschitsch. 1980. "[Improvement of utero-placental perfusion by transcutaneous nerve stimulation (author's transl)]". *Wiener Medizinische Wochenschrift (1946)* 130(18):595–97.
- Liew, Zeyan, Beate Ritz, Cristina Rebordosa, Pei-Chen Lee, e Jørn Olsen. 2014. "Acetaminophen Use during Pregnancy, Behavioral Problems, and Hyperkinetic Disorders". *JAMA Pediatrics* 168(4):313–20.
- Löfgren, Monika e Cecilia Norrbrink. 2009. "Pain Relief in Women with Fibromyalgia: A Cross-over Study of Superficial Warmth Stimulation and Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation". *Journal of Rehabilitation Medicine* 41(7):557–62.
- Low, J. e A. Reed. 2001. *Eletroterapia Explicada: Princípios e Prática*. São Paulo: Manole.
- Luijpen, Marijn W., Dick F. Swaab, Joseph A. Sergeant, Koene R. A. van Dijk, e Erik J. A. Scherder. 2005. "Effects of Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation (TENS) on Memory in Elderly with Mild Cognitive Impairment". *Behavioural Brain Research* 158(2):349–57.
- Maccari, S., M. Darnaudery, S. Morley-Fletcher, A. R. Zuena, C. Cinque, e O. Van Reeth. 2003. "Prenatal Stress and Long-Term Consequences: Implications of Glucocorticoid Hormones". *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 27(1–2):119–27.
- Maeda, Y., T. L. Lisi, C. G. T. Vance, e K. A. Sluka. 2007. "Release of GABA and Activation of GABA(A) in the Spinal Cord Mediates the Effects of TENS in Rats". *Brain Research* 1136(1):43–50.
- Mann, Luana, Julio Francisco Kleinpaul, Carlos Bolli Mota, e Saray Giovana dos Santos. 2010. "Alterações biomecânicas durante o período gestacional: uma revisão". *Motriz. Revista de Educação Física. UNESP* 16(3).
- Marcondes, F. K., F. J. Bianchi, e A. P. Tanno. 2002. "Determination of the Estrous Cycle Phases of Rats: Some Helpful Considerations". *Brazilian Journal of Biology* 62(4A):609–14.
- Marques, AA, MP Pinto e Silva, e MTP Amaral. 2011. *Fisioterapia em Obstetrícia – Intercorrências musculoesqueléticas na gravidez*. In: Martins RF. *Tratado de Fisioterapia na Saúde da Mulher*. 1ª. Roca, São Paulo.

- Martins, Roseny Flávia e João Luiz Pinto e Silva. 2005. “Tratamento da lombalgia e dor pélvica posterior na gestação por um método de exercícios”. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia* 27(5):275–82.
- Mastorci, Francesca, Massimo Vicentini, Odile Viltart, Massimo Manghi, Gallia Graiani, Federico Quaini, Peter Meerlo, Eugene Nalivaiko, Stefania Maccari, e Andrea Sgoifo. 2009. “Long-Term Effects of Prenatal Stress: Changes in Adult Cardiovascular Regulation and Sensitivity to Stress”. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 33(2):191–203.
- Mattaraia, Vania Gomes de Moura e Ana Silvia Alves Meira Tavares Moura. 2012. “Produtividade de ratos Wistar em diferentes sistemas de acasalamento”. *Ciência Rural* 42(8):1490–96.
- McQueen, Karen e Jodie Murphy-Oikonen. 2016. “Neonatal Abstinence Syndrome”. *The New England Journal of Medicine* 375(25):2468–79.
- Mello, Larissa F. D., Luciana F. Nóbrega, e Andrea Lemos. 2011. “Estimulação elétrica transcutânea no alívio da dor do trabalho de parto: revisão sistemática e meta-análise”. *Brazilian Journal of Physical Therapy* 15(3):175–84.
- Melo, Joyce Macedo, Jéssika Lucena Leite, Nadine de Moraes Bezerra, Patrícia Ferreira de Araújo, e Milena Sousa. 2017. “Acetaminofeno na gravidez e o risco de transtorno do espectro autista em crianças”. *Journal of Medicine and Health Promotion* 2:481–92.
- Melzack, R. e P. D. Wall. 1965. “Pain Mechanisms: A New Theory”. *Science (New York, N.Y.)* 150(3699):971–79.
- Mendoza, Ma Patricia, César A. Villaverde P, Francisco Butrón López, Sergio Tenopala Villegas, e Edgar Reyes C. 2000. “The electrical transcutaneous stimulation (TENS) in the management of labor pain”. *Revista Mexicana de Anestesiología* 23(2):60–65.
- Meuleman, V., A. M. Busschots, e A. Dooms-Goossens. 1996. “Contact Allergy to a Device for Transcutaneous Electrical Neural Stimulation (TENS)”. *Contact Dermatitis* 35(1):53–54.
- Miller, L., P. Mattison, L. Paul, e L. Wood. 2007. “The Effects of Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation (TENS) on Spasticity in Multiple Sclerosis”. *Multiple Sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 13(4):527–33.
- Milsom, I., N. Hedner, e C. Mannheimer. 1994. “A Comparative Study of the Effect of High-Intensity Transcutaneous Nerve Stimulation and Oral Naproxen on Intrauterine Pressure and Menstrual Pain in Patients with Primary Dysmenorrhea”. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 170(1 Pt 1):123–29.
- Moro, Adriana e Noela Invernizzi. 2017. “A tragédia da talidomida: a luta pelos direitos das vítimas e por melhor regulação de medicamentos”. *História, Ciências, Saúde-Manguinhos* 24(3):603–22.

- Morrison, Janna L., Jaime A. Duffield, Beverly S. Muhlhausler, Sheridan Gentili, e Isabella C. McMillen. 2010. "Fetal Growth Restriction, Catch-up Growth and the Early Origins of Insulin Resistance and Visceral Obesity". *Pediatric Nephrology (Berlin, Germany)* 25(4):669–77.
- Neves, Silvânia M. P., Flavia de Moura Prates Ong, Livia Duarte Rodrigues, Renata Alves dos Santos, Renata Spalutto Fontes, e Roseni de Oliveira Santana. 2013. "Manual de cuidados e procedimentos com animais de laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP". 216.
- Norén, Lotta, Solveig Ostgaard, Gun Johansson, e Hans C. Ostgaard. 2002. "Lumbar Back and Posterior Pelvic Pain during Pregnancy: A 3-Year Follow-Up". *European Spine Journal: Official Publication of the European Spine Society, the European Spinal Deformity Society, and the European Section of the Cervical Spine Research Society* 11(3):267–71.
- Novaes, Flavia Silva, Antonieta Keiko Kakuda Shimo, e Maria Helena Baena de Moraes Lopes. 2006. "Low back pain during gestation". *Revista Latino-Americana de Enfermagem* 14(4):620–24.
- de Oliveira Guimarães, Camila Souze, Fabíola Cristina Santos Tavares, Marília Neves Santos, Gregório Corrêa Guimarães, Janaína Grazielle Pacheco Olegário, Laura Penna Rocha, Luiz Carlos Reis, Marlene Antônia Dos Reis, Eumenia Costa da Cunha Castro, e Rosana Rosa Miranda Corrêa. 2013. "Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation and Placental Vascularization in Cases of Uterine Blood Flow Restriction". *Fetal and Pediatric Pathology* 32(2):88–96.
- Oosterhof, Jan, Oliver H. Wilder-Smith, Theo de Boo, Rob A. B. Oostendorp, e Ben J. P. Crul. 2012. "The Long-Term Outcome of Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation in the Treatment for Patients with Chronic Pain: A Randomized, Placebo-Controlled Trial". *Pain Practice: The Official Journal of World Institute of Pain* 12(7):513–22.
- Orange, Flávia Augusta de, Melania Maria Ramos de Amorim, e Luciana Lima. 2003. "Uso da eletroestimulação transcutânea para alívio da dor durante o trabalho de parto em uma maternidade-escola: ensaio clínico controlado". *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia* 25(1):45–52.
- Osiri, M., V. Welch, L. Brosseau, B. Shea, J. McGowan, P. Tugwell, e G. Wells. 2000. "Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation for Knee Osteoarthritis". *The Cochrane Database of Systematic Reviews* (4):CD002823.
- Osmond, Clive, Eero Kajantie, Tom J. Forsén, Johan G. Eriksson, e David J. P. Barker. 2007. "Infant Growth and Stroke in Adult Life: The Helsinki Birth Cohort Study". *Stroke* 38(2):264–70.
- Padua, L., R. Padua, R. Bondi, E. Ceccarelli, P. Caliendo, P. D'Amico, O. Mazza, e P. Tonali. 2002. "Patient-Oriented Assessment of Back Pain in Pregnancy". *European Spine Journal: Official Publication of the European Spine Society, the European Spinal Deformity Society, and the European Section of the Cervical Spine Research Society* 11(3):272–75.

- Ping Ho Chung, Bryan e Benson Kam Kwan Cheng. 2010. "Immediate Effect of Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation on Spasticity in Patients with Spinal Cord Injury". *Clinical Rehabilitation* 24(3):202–10.
- Proctor, M. L., C. A. Smith, C. M. Farquhar, e R. W. Stones. 2002. "Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation and Acupuncture for Primary Dysmenorrhoea". *The Cochrane Database of Systematic Reviews* (1):CD002123.
- Queiroz de Oliveira, Ranulfa Gabriela Cândida, Juliane Cabral Silva, Adriana Ferreira de Almeida, Rodrigo Cappato de Araújo, e Ana Carolina Rodarti Pitangui. 2012. "TENS de alta e baixa frequência para dismenorreia primária: estudo preliminar". *ConScientiae Saúde* 11(1).
- Radhakrishnan, Rajan, Ellen W. King, Janelle K. Dickman, Carli A. Herold, Natalie F. Johnston, Megan L. Spurgin, e Kathleen A. Sluka. 2003. "Spinal 5-HT₂ and 5-HT₃ receptors mediate low, but not high, frequency TENS-induced antihyperalgesia in rats". *Pain* 105(1–2):205–13.
- Radhakrishnan, Rajan e Kathleen A. Sluka. 2005. "Deep Tissue Afferents, but Not Cutaneous Afferents, Mediate Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation-Induced Antihyperalgesia". *The Journal of Pain: Official Journal of the American Pain Society* 6(10):673–80.
- Rebordosa, Cristina, Carolyn M. Zelop, Manolis Kogevinas, Henrik T. Sørensen, e Jørn Olsen. 2010. "Use of Acetaminophen during Pregnancy and Risk of Preeclampsia, Hypertensive and Vascular Disorders: A Birth Cohort Study". *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine: The Official Journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians* 23(5):371–78.
- de Resende, Marcos A., Luis Felipe S. Silva, Karina Sato, Lars Arendt-Nielsen, e Kathleen A. Sluka. 2011. "Blockade of Opioid Receptors in the Medullary Reticularis Nucleus Dorsalis, but Not the Rostral Ventromedial Medulla, Prevents Analgesia Produced by Diffuse Noxious Inhibitory Control in Rats with Muscle Inflammation". *The Journal of Pain: Official Journal of the American Pain Society* 12(6):687–97.
- Reynolds, Rebecca M. 2010. "Corticosteroid-Mediated Programming and the Pathogenesis of Obesity and Diabetes". *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 122(1–3):3–9.
- Ribas, Si e Eco Guirro. 2007. "Análise da pressão plantar e do equilíbrio postural em diferentes fases da gestação". *Revista Brasileira de Fisioterapia* 11(5):391–96.
- Rodacki, Cintia L., Neil E. Fowler, Andre L. Rodacki, e Karen Birch. 2003. "Stature Loss and Recovery in Pregnant Women with and without Low Back Pain". *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation* 84(4):507–12.
- Rokugo, Tomoyuki, Toshitsugu Takeuchi, e Hiromoto Ito. 2002. "A Histochemical Study of Substance P in the Rat Spinal Cord: Effect of Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation". *Journal of Nippon Medical School = Nippon Ika Daigaku Zasshi* 69(5):428–33.

- Sabino, George S., Cristiane M. F. Santos, Janetti N. Francischi, e Marcos Antônio de Resende. 2008. "Release of Endogenous Opioids Following Transcutaneous Electric Nerve Stimulation in an Experimental Model of Acute Inflammatory Pain". *The Journal of Pain: Official Journal of the American Pain Society* 9(2):157–63.
- Sabino, George Schayer, Marcelo Von Sperling de Souza, e Marcos Antônio de Resende. 2006. "Estimulação elétrica nervosa transcutânea no pós operatório de cirurgia torácica ou abdominal". *Fisioterapia em Movimento*. Recuperado 20 de dezembro de 2018 (<https://periodicos.pucpr.br/index.php/fisio/article/view/18675>).
- Saldanha, P. H. 1994. "A tragédia da talidomida e o advento da teratologia experimental". *Rev. bras. genét* 17(4):449–64.
- Scherder, E. J. e A. Bouma. 1999. "Effects of Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation on Memory and Behavior in Alzheimer's Disease May Be Stage-Dependent". *Biological Psychiatry* 45(6):743–49.
- Scherder, E. J., A. Bouma, e A. M. Steen. 1995. "Effects of Short-Term Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation on Memory and Affective Behaviour in Patients with Probable Alzheimer's Disease". *Behavioural Brain Research* 67(2):211–19.
- Scherder, E. J., E. J. Van Someren, A. Bouma, e M. v d Berg. 2000. "Effects of Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation (TENS) on Cognition and Behaviour in Aging". *Behavioural Brain Research* 111(1–2):223–25.
- Seco, Sandra e Alexandra Matias. 2009. "Origem fetal das doenças do adulto: revisitando a teoria de Barker Fetal origins of adult disease: revisiting Barker's theory". 11.
- Skogen, Jens Christoffer e Simon Øverland. 2012. "The fetal origins of adult disease: a narrative review of the epidemiological literature". *JRSM Short Reports* 3(8).
- Slavin, Konstantin. 2011. "History of Peripheral Nerve Stimulation". *Progress in Neurological Surgery*, 1–15.
- Slovak, Martin, Christopher R. Chapple, e Anthony T. Barker. 2015. "Non-invasive transcutaneous electrical stimulation in the treatment of overactive bladder". *Asian Journal of Urology* 2(2):92–101.
- Sluka, K. A., M. R. Christy, W. L. Peterson, S. L. Rudd, e S. M. Troy. 1999. "Reduction of Pain-Related Behaviors with Either Cold or Heat Treatment in an Animal Model of Acute Arthritis". *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation* 80(3):313–17.
- Sluka, K. A., C. G. T. Vance, e T. L. Lisi. 2005. "High-Frequency, but Not Low-Frequency, Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation Reduces Aspartate and Glutamate Release in the Spinal Cord Dorsal Horn". *Journal of Neurochemistry* 95(6):1794–1801.
- Sluka, Kathleen A. 2009. *Mechanisms and Management of Pain for the Physical Therapist*. 1 edition. Seattle: IASP.

- Sluka, Kathleen A., Tammy L. Lisi, e Karin N. Westlund. 2006. "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* 87(8):1137–40.
- Stuge, Britt, Gunvor Hilde, e Nina Vøllestad. 2003. "Physical Therapy for Pregnancy-Related Low Back and Pelvic Pain: A Systematic Review". *Acta Obstetrica Et Gynecologica Scandinavica* 82(11):983–90.
- Takito, Monica Yuri, Maria Helena D'Aquino Benício, e Maria do Rosário Dias de Oliveira Latorre. 2005. "Postura materna durante a gestação e sua influência sobre o peso ao nascer". *Revista de Saúde Pública* 39(3):325–32.
- Teixeira, Vivian de Oliveira Nunes, Paulo Vinicius Gil Alabarse, Laura de Lima Xavier, Ricardo Machado Xavier, e Lidianne Isabel Filippin. 2014. "Efeito do exercício aeróbico em modelo experimental de artrite [Effect of aerobic exercise on an experimental model of arthritis]". *Clinical & Biomedical Research* 34(1).
- Thomas, Rosemary e Frederick J. Kaskel. 2009. "It's Not over till the Last Glomerulus Forms". *Kidney International* 76(4):361–63.
- Thompson, Reid F., Melissa J. Fazzari, Hongshun Niu, Nir Barzilai, Rebecca A. Simmons, e John M. Grealley. 2010. "Experimental Intrauterine Growth Restriction Induces Alterations in DNA Methylation and Gene Expression in Pancreatic Islets of Rats". *The Journal of Biological Chemistry* 285(20):15111–18.
- Thorell, Eva e Per Kristiansson. 2012. "Pregnancy Related Back Pain, Is It Related to Aerobic Fitness? A Longitudinal Cohort Study". *BMC Pregnancy and Childbirth* 12:30.
- Tita, B., H. Abdel-Haq, A. Vitalone, G. Mazzanti, e L. Saso. 2001. "Analgesic Properties of *Epilobium Angustifolium*, Evaluated by the Hot Plate Test and the Writhing Test". *Farmaco (Societa Chimica Italiana: 1989)* 56(5–7):341–43.
- Tugay, Nazan, Türkan Akbayrak, Funda Demirtürk, Ilkim Citak Karakaya, Ozge Kocaacar, Umut Tugay, Mehmet Gürhan Karakaya, e Fazli Demirtürk. 2007. "Effectiveness of Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation and Interferential Current in Primary Dysmenorrhea". *Pain Medicine (Malden, Mass.)* 8(4):295–300.
- Vance, Carol Grace T., Barbara A. Rakel, Nicole P. Blodgett, Josimari Melo DeSantana, Annunziato Amendola, Miriam Bridget Zimmerman, Deirdre M. Walsh, e Kathleen A. Sluka. 2012. "Effects of Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation on Pain, Pain Sensitivity, and Function in People with Knee Osteoarthritis: A Randomized Controlled Trial". *Physical Therapy* 92(7):898–910.
- Veiga, Maria Luiza, Patrícia Lordêlo, Tiago Farias, e Ubirajara Barroso. 2013. "Evaluation of Constipation after Parasacral Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation in Children with Lower Urinary Tract Dysfunction--a Pilot Study". *Journal of Pediatric Urology* 9(5):622–26.

- Villanueva, Luis. 2009. "Diffuse Noxious Inhibitory Control (DNIC) as a Tool for Exploring Dysfunction of Endogenous Pain Modulatory Systems". *Pain* 143(3):161–62.
- Vleeming, Andry, Haitze J. de Vries, Jan M. A. Mens, e Jan-Paul van Wingerden. 2002. "Possible Role of the Long Dorsal Sacroiliac Ligament in Women with Peripartum Pelvic Pain". *Acta Obstetricia Et Gynecologica Scandinavica* 81(5):430–36.
- Warner, Matthew J. e Susan E. Ozanne. 2010. "Mechanisms Involved in the Developmental Programming of Adulthood Disease". *The Biochemical Journal* 427(3):333–47.
- Yokoyama, L. M., L. A. Pires, E. A. Gonçalves Ferreira, e R. A. Casarotto. 2015. "Low- and High-Frequency Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation Have No Deleterious or Teratogenic Effects on Pregnant Mice". *Physiotherapy* 101(2):214–18.

ANEXO A

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

DECLARAÇÃO

Declaro, para os devidos fins, que o Projeto de Pesquisa intitulado "EFEITO DA ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA NERVOSA TRANSCUTÂNEA (TENS) EM RATA GESTANTE E NA SUA PROLE." sob coordenação da Prof.^a Dr.^a JOSIMARI MELO DE SANTANA (protocolo CEPA 80/2012) foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da Universidade Federal de Sergipe, em reunião realizada dia 14/12/2012.

São Cristóvão, 21 de janeiro de 2013.

Prof.^a Dr.^a FLÁVIA TEIXEIRA SILVA
Presidente do CEPA/UFS

Cidade Universitária "Prof. Aloísio de Campos"
Jardim Rosa Elze - São Cristóvão - SE
49100-000
Fones: 3212 6661/6606