



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

KAMILLA MAYARA LUCAS DA CRUZ REIS

**EFEITO ANTINOCICEPTIVO E MECANISMOS DE AÇÃO
DA CORRENTE INTERFERENCIAL NA ANTINOCICEPÇÃO
EM MODELO EXPERIMENTAL DE INFLAMAÇÃO
ARTICULAR**

SÃO CRISTÓVÃO

2019

KAMILLA MAYARA LUCAS DA CRUZ REIS

**EFEITO ANTINOCICEPTIVO E MECANISMOS DE AÇÃO DA
CORRENTE INTERFERENCIAL NA ANTINOCICEPÇÃO
EM MODELO EXPERIMENTAL DE INFLAMAÇÃO
ARTICULAR**

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**

Reis, Kamilla Mayara Lucas da Cruz
R375e Efeito antinociceptivo e mecanismos de ação da corrente
interferencial na antinocicepção em modelo experimental de
inflamação articular / Kamilla Mayara Lucas da Cruz Reis ;
orientadora Josimari Melo de Santana. – São Cristóvão, SE, 2019.
62 f. : il.

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

1. Eletroterapia. 2. Medição da dor. 3. Acetilcolina - Receptores.
4. Adrenalina – Receptores. 5. Dopamina – Receptores. 6. Óxido
nítrico. I. Santana, Josimari Melo de. II. Título.

CDU 612:616.8-085.84

KAMILLA MAYARA LUCAS DA CRUZ REIS

**EFEITO ANTINOCICEPTIVO E MECANISMOS DE AÇÃO DA
CORRENTE INTERFERENCIAL NA ANTINOCICEPÇÃO EM
MODELO EXPERIMENTAL DE INFLAMAÇÃO ARTICULAR**

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.

Presidente da banca: Prof^a. Dr^a. Josimari Melo de Santana

1º Examinador: Prof. Dr. Richard Eloin Liebano

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

3º Examinador: Prof^a. Dr^a. Simone de Souza Nascimento

4º Examinador: Prof. Dr. Ricardo Guimarães Amaral

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a Deus pela oportunidade de me qualificar por meio dos estudos, por me proporcionar a paz nos momentos de luta e por me fazer perseverante quando a vontade era desistir. Que tudo em mim seja Dele, por Ele, para Ele!

Deixo minha gratidão e amor ao meu esposo Paulo e meu filho Davi que compreenderam minha ausência em muitos momentos, entenderam a necessidade dos meus estudos por longas madrugadas, me acompanharam à UFS em diversos fins de semana, vocês me dão forças para querer ser sempre melhor.

Não tenho como expressar tamanho amor e gratidão pela minha família, meu pai Enivaldo, minha mãe Natália, minhas irmãs Thamyres e Marynna, meu cunhado Danilo pela rede de apoio que me proporcionou concluir essa etapa da minha vida, ninguém se não vocês cuidariam tão bem do meu filho amado enquanto eu precisava me ausentar. Não bastasse todo esse apoio ainda me amam e me proporcionam o maior bem que uma pessoa pode ter, uma família que vive em comunhão! Os cafés regados a conversas à mesa da cozinha foram importantes momentos de descontração e fôlego para prosseguir em dias difíceis.

Ainda fazendo parte da minha grande rede de apoio deixo o meu imenso obrigado aos meus sogros Ailton e Lina, cunhados Lucas e Bárbara com seu esposo Fausto. De igual forma sempre se dispuseram a me ajudar com meu filho, pegando-o na escola para que eu tivesse mais uma hora de estudo, nos almoços em família e principalmente na comunhão da fé que me mantém de pé todos os dias. Fazer parte dessa família e tê-los como família de Cristo me faz cada dia mais forte e confiante em um Deus que tudo pode!

Agradeço a minha família, tias, tios, primos e primas que me veem com tanto orgulho, expressam admiração e felicidade com as minhas conquistas. De modo especial agradeço a minha madrinha Nil pelo exemplo de dedicação e força e pelo amor ao longo de toda a minha existência, à Salete que sempre carinhosa dedicou muitos momentos a brincar com Davi para que eu cumprisse minhas obrigações.

Toda essa trajetória teve como motor a dedicação da minha orientadora Prof. Dr^a. Josimari que ao longo de 10 anos me ensinou, me aconselhou e me orientou como aluna de iniciação científica, aluna de TCC, como mestranda e doutoranda. Grandes foram os seus ensinamentos para que eu chegasse até aqui! Ao longo de todo esse tempo no laboratório de pesquisa em neurociência (LAPENE) fiz grandes amizades, aprendemos e compartilhamos os

aprendizados ao longo de uma década e mantemos a união com o objetivo de promover a ciência de forma responsável, com qualidade e leveza. Agradeço de modo específico à Larissa, Silvio, Mayara Tavares, Felipe, Maiara Simões e Ivana que trabalharam junto comigo nesse estudo, muito obrigada! Agradeço ao Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas representado pela pessoa do prestativo secretário Renivan e aos Prof. Enilton e Prof^a Patrícia que desde a idealização do projeto se colocaram à disposição para tirar minhas dúvidas, à Prof^a Sara que além do auxílio intelectual, contribuiu com materiais fundamentais para o experimento nesse difícil período de recessão no cenário da pesquisa nacional.

Por fim, deixo o meu agradecimento aos animais que tem essa grande missão de contribuir para o desenvolvimento da ciência visando um bem maior, ajudar a nós, seres humanos. À CAPES pelo auxílio financeiro a concessão da minha bolsa de estudos ao longo do doutorado e a todos que direta ou indiretamente contribuíram, incentivaram e me apoiaram neste projeto.

Muito obrigada!

Pois o Senhor é quem dá sabedoria;
de sua boca procedem
o conhecimento e o discernimento.
Provérbios 2:6

RESUMO

Efeito antinociceptivo e mecanismos de ação da corrente interferencial na antinocicepção em modelo experimental de inflamação articular, Kamilla Mayara Lucas da Cruz Reis, São Cristóvão, 2019.

Introdução: A corrente interferencial (CI) tem sido atualmente utilizada para diferentes condições clínicas, principalmente com a finalidade de analgesia. Entretanto, pouco se sabe sobre o mecanismo de ação neurobiológica dessa corrente. O objetivo deste estudo foi investigar o efeito da CI em intensidade sensorial e motora na hipernocicepção causada após indução de inflamação articular e se, sistemicamente, os receptores colinérgicos, monoaminérgicos e a via do óxido nítrico estão envolvidos no mecanismo de ação antinociceptiva desta corrente. **Materiais e métodos:** Foram utilizados 96 ratos Wistar, divididos em série experimental comportamental (Controle, Motora e Sensorial) e série de bloqueios farmacológicos (Controle, CI + Salina, CI + DMSO, CI + Reserpina, CI + Prazosina, CI + Ioimbina, CI + Atropina, CI + Haloperidol, CI + L-NNA, CI + ODQ, CI + Glibenclamida). A estimulação elétrica foi aplicada 24 horas após a indução da inflamação e no grupo reserpina com 48h devido ao seu mecanismo de ação. Os testes comportamentais para sensibilidade e desempenho motor foram realizados antes da indução, 24 horas após a indução da inflamação e após aplicação da CI. O bloqueio farmacológico foi realizado por meio de injeção intraperitoneal aplicada antes do tratamento de acordo com o tempo de ação e dose de cada fármaco. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. **Resultados:** Na série comportamental houve aumento do limiar sensitivo cutâneo ($p = 0,03$) no grupo tratado com intensidade motora, e aumento da latência térmica nos grupos tratados com intensidades sensorial e motora ($p < 0,009$) comparados com o momento pré-tratamento, o grupo motor apresentou maior tamanho de efeito na sensibilidade mecânica ($d = 1,42$). Em contrapartida a alta intensidade promoveu diminuição do desempenho motor ($p = 0,03$) em comparação com pré tratamento. Na série que avaliou os possíveis mecanismos de ação na série da reserpina, foi identificado que a depleção das aminas impediu o aumento do limiar sensitivo cutâneo no grupo CI + Reserpina diferentemente do grupo CI + Salina em que houve antinocicepção ($p = 0,01$). Das monoaminas investigadas houve impedimento no efeito da corrente no limiar sensitivo nos grupos CI + Ioimbina e CI + Atropina pois não houve diferença entre o pré e pós tratamento diferentemente do grupo CI + Salina, CI + Prazosina e CI + Haloperidol ($p < 0,05$). Em relação a via do óxido nítrico, a inibição da enzima óxido nítrico sintase (NOS) no grupo CI + L-NNA impediu a antinocicepção promovida pela CI e na cascata intracelular dessa via foi verificado que tanto a guanilato ciclase como os canais de K dependentes de ATP também participam do seu mecanismo anti-hiperalgésico por não aumentarem o limiar mecânico após o tratamento com CI. Todos os grupos tratados com CI mais veículo ou antagonistas tiveram redução da distância percorrida ($p < 0,03$) menos os grupos controle e CI + Ioimbina. **Conclusão:** A partir do presente estudo pode-se concluir que a corrente interferencial em intensidade motora é mais efetiva para redução da antinocicepção e que esse efeito envolve mecanismos de ação dos receptores alfa-2 adrenérgico, colinérgicos muscarínicos e está relacionado a via do óxido nítrico.

Descritores: Eletroterapia, Corrente Interferencial, Nocicepção, Receptores Colinérgicos, Receptores Adrenérgicos, Receptores Dopaminérgicos, Óxido Nítrico

ABSTRACT

Antinociceptive effect and mechanisms of action of interferential current on the antinociception in experimental model of articular inflammation, Kamilla Mayara Lucas da Cruz Reis, São Cristóvão, 2019.

Introduction: Interferential current (IC) has been currently used for different clinical conditions, mainly for the purpose of analgesia. However, little is known about the mechanism of neurobiological action of this current. The objective of this study was to investigate the effect of IC on sensory and motor intensity in the hypernociception caused after induction of joint inflammation and if, systemically, the cholinergic, monoaminergic and nitric oxide receptors are involved in the mechanism of antinociceptive action of this current. **Material and methods:** A total of 96 Wistar rats were divided into experimental series (Control, Motor and Sensory) and pharmacological block series (Control, CI + Saline, CI + DMSO, CI + Reserpine, CI + CI + Atropine, CI + Haloperidol, CI + L-NNA, CI + ODQ, CI + Glibenclamide). Electrical stimulation was applied 24 hours after the induction of inflammation and in the reserpine group with 48h due to its mechanism of action. Behavioral tests for sensitivity and motor performance were performed before induction, 24 hours after induction of inflammation and after IC application. Pharmacological blockade was achieved by intraperitoneal injection applied prior to treatment according to the time of action and dose of each drug. Values of $p < 0.05$ were considered significant. **Results:** In the behavioral series, there was an increase in the cutaneous sensory threshold ($p = 0.03$) in the group treated with motor intensity, and an increase in the thermal latency in the groups treated with sensory and motor intensities ($p < 0.009$), the motor group presented greater effect size in the mechanical sensitivity ($d = 1.42$). In contrast, high intensity promoted a decrease in motor performance ($p = 0.03$) compared to pre-treatment. In the series that evaluated the possible mechanisms of action in the reserpine series, it was identified that amine depletion prevented the increase of the cutaneous sensory threshold in the IC + Reserpine group differently from the IC + Saline group in which there was antinociception ($p = 0.01$). Of the monoamines investigated, there was an impediment in the effect of the current on the sensory threshold in the CI + Yohimbine and CI + Atropine groups, since there was no difference between the pre and post treatment groups differently from CI + Salina, CI + Prazosin and CI + Haloperidol ($p < 0.05$). Inhibition of nitric oxide synthase (NOS) in the CI + L-NNA group prevented IC-promoted antinociception and in the intracellular cascade of this pathway both guanylate cyclase and dependent K-channels were found of ATP also participate in their antihyperalgesic mechanism because they do not increase the mechanical threshold after IC treatment. All groups treated with IC plus vehicle or antagonists had a reduction of the distance covered ($p < 0.03$) less control and CI + yohimbine groups. **Conclusion:** Based on the present study, we can conclude that the interferential current in motor intensity is more effective for the reduction of antinociception and that this effect involves mechanisms of action of the α -2 receptors, muscarinic cholinergic and is related to the nitric oxide pathway.

Key-words: Interferential Current, Nociception, Analgesia, Cholinergic Receptors, Adrenergic Receptors, Nitric Oxide.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. A: Injeção de carragenina (seta vermelha); B. Local de inflamação e edema (em vermelho); C. Eletrodos e local de aplicação da corrente interferencial (CI).	18
Figura 2. Delineamento experimental da série comportamental.	21
Figura 3. Delineamento experimental da série para bloqueio farmacológico	23
Figura 4. Delineamento experimental da série para bloqueio farmacológico em relação à categoria da depleção das aminas biogênicas.....	24
Figura 5. Limiar sensitivo cutâneo (série comportamental).....	25
Figura 6. Latência térmica (série comportamental).....	26
Figura 7. Distância percorrida (série comportamental).....	27
Figura 8. Tempo em pé (rearing - série comportamental).....	27
Figura 9. Tempo de descanso (freezing - série comportamental).....	28
Figura 10. Intensidade da CI (série comportamental)	28
Figura 11. Limiar sensitivo cutâneo(série para bloqueio farmacológico - reserpina).....	29
Figura 12. Distância percorrida (série para bloqueio farmacológico - reserpina).....	30
Figura 13. Limiar sensitivo cutâneo (série para bloqueio farmacológico - aminas)	31
Figura 14. Distância percorrida (série para bloqueio farmacológico - aminas)	31
Figura 15. Limiar sensitivo cutâneo (série para bloqueio farmacológico - NO sintase).....	32
Figura 16. Distância percorrida (série para bloqueio farmacológico - NO sintase).....	33
Figura 17. Limiar sensitivo cutâneo (série para bloqueio farmacológico - via do NO).....	34
Figura 18. Distância percorrida (série para bloqueio farmacológico - via do NO).....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Lista de fármacos com suas doses, tempo para bloqueio dos receptores, veículo de diluição bem como a referência utilizada.	22
Tabela 2. Grupos de animais da série para bloqueio farmacológico.	22
Tabela 3. Tamanho do efeito (d de Cohen)	24

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADC – Adenilato Ciclase
AMPc – Adenosina Monofosfato Cíclico
ANOVA – Análise de Variância
ATP – Trifosfato de Adenosina
AVC – Acidente Vascular Cerebral
CEPA – Comitê de Ética em Pesquisa Animal
CFMA – Correntes de Frequência Média Alternada
CI – Corrente Interferencial
DAG – Diacilglicerol
DMSO – Dimetilsulfóxido
DNIC – Controle Inibitório Nocivo Difuso
DP – Doença de Parkinson
eNOS – Óxido Nítrico Sintase endotelial
FAM – Frequência de Amplitude Modulada
GABA – Ácido Gama Aminobutírico
GMPc – Guanosina Monofosfato Cíclico
GRD – Gânglio da Raiz Dorsal
i.p. – Intraperitoneal
IL-1 – Interleucina 1
IL-8 – Interleucina 8
iNOS – Óxido Nítrico Sintase indutível
IP₃ – Inositol Trifosfato
K⁺/ATP – Canais de potássio sensíveis a ATP
L-DOPA – L-3,4-di-hidroxifenilalanina
L-NA – N^ω-nitro-L-arginina
NMR – Núcleo Magno da Rafe
nNOS – Óxido Nítrico Sintase neuronal
NO – Óxido Nítrico
NOS – Óxido Nítrico Sintase
OA – Osteoartrite

ODQ – 1- H - [1,2,4] oxadiazolo [4, 3-a] quinoxalin-1-ona

p – nível de significância

pH – Potencial Hidrogeniônico

PKA – Proteína Quinase A

PKC – Proteína Quinase C

RVM – Parte rostroventromedial do bulbo

SCP – Substância Cinzenta Periaquedutal

sGC – Guanilato Ciclase Solúvel

TENS – Estimulação Elétrica Nervosa Transcutânea

TNF-alfa – Fator de Necrose Tumoral Alfa

UFS – Universidade Federal de Sergipe

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	4
2.1. Corrente interferencial	4
2.2. Corrente interferencial baseado em evidências	6
2.3. Conceitos em dor	6
2.4. Dor e o nociceptor	8
2.5. Receptores envolvidos no controle da dor	10
2.5.1. Grupo das aminas biogênicas	10
2.5.2. Via do óxido nítrico	13
2.6. Justificativa	15
3. OBJETIVOS	16
3.1. Objetivo geral	16
3.2. Objetivos específicos	16
4. MATERIAL E MÉTODOS	17
4.1. Animais	17
4.2. Indução da inflamação articular	17
4.3. Aplicação da corrente interferencial	17
4.4. Testes comportamentais.....	18
4.4.1. Sensibilidade mecânica cutânea.....	18
4.4.2. Sensibilidade térmica	19
4.4.3. Monitor de atividades	20
4.5. Série comportamental	20
4.5.1. Grupos - Série comportamental	20
4.5.2. Delineamento experimental - Série comportamental	20
4.6. Série para bloqueio farmacológico	21
4.6.1. Grupos e fármacos	21
4.6.2. Grupos (Série para bloqueio farmacológico)	22
4.6.3. Delineamento experimental - Série para bloqueio farmacológico	23
4.7. Análise estatística	24
5. RESULTADOS	25
5.1. Série experimental comportamental	25
5.2. Série para bloqueio farmacológico	29

5.2.1. Depleção das aminas biogênicas	29
5.2.2. Bloqueio farmacológico das aminas biogênicas	30
5.2.3. Participação da via do óxido nítrico	32
6. DISCUSSÃO	35
6.1. Efeito comportamental da CI	35
6.2. Mecanismos de ação da CI	38
7. CONCLUSÃO	43
8. REFERÊNCIAS	44
ANEXO - A	62

1. INTRODUÇÃO

A corrente interferencial (CI) é uma modalidade eletroterapêutica bastante utilizada na prática clínica em diferentes condições patológicas, embora apresente significativo efeito terapêutico, tem recebido pouca atenção no âmbito da pesquisa (Robertson et al. 2006). A CI é utilizada para tratamento de dor em pacientes com osteoartrite (Adedoyin, Olaogun, e Oyeyemi 2005; Adedoyin, Olaogun, e Fagbeja 2002; Gundog et al. 2012), fibromialgia, dor lombar (Correa et al. 2013; Hurley et al. 2004) e dismenorreia primária (Tugay et al. 2007) além dos efeitos não-analgésicos como constipação (Clarke et al. 2009; Coban et al. 2012), síndrome do intestino irritável (Coban et al. 2012), incontinência urinária (Demirtürk et al. 2008; Lee e Park 2013) e para aumento do fluxo sanguíneo (Noble et al., 2000).

Como características eletrofísicas, a CI é produzida pelo cruzamento de duas ondas senóides diferentes, de média frequência, geralmente entre 4.000 e 4.100 Hz, resultando em uma corrente de média frequência com amplitude modulada (FAM) em baixa frequência, no valor de 100 Hz (Ali e Sabbahi, 2000; Low et al., 1994; Ozcan et al., 2004; Palmer et al., 1999). Como a CI tem frequência resultante de 100 Hz, há comparação com a estimulação elétrica nervosa transcutânea (TENS) de alta frequência (Shanahan, Ward, e Robertson 2006) que é um tratamento não-farmacológico em que a corrente elétrica é aplicada por meio de eletrodos na superfície da pele com frequência variada entre alta (> 50 Hz) e baixa frequência (< 10 Hz) (DeSantana et al. 2008).

Sugere-se que a frequência de amplitude modulada em 100 Hz produz analgesia superior em relação à estimulação elétrica nervosa transcutânea (TENS) e, embora exista ampla comparação entre elas, não há consenso na literatura (Shanahan, Ward, e Robertson 2006; Atamaz et al. 2012). Os diversos mecanismos de ação da TENS para promover analgesia são frequentemente estudados e já estão bem elucidados na literatura, mostrando sua interação com as vias descendente adrenérgicas, serotoninérgicas, opioidérgicas e colinérgica muscarínica (DeSantana, Santana-Filho, e Sluka 2008; Hingne e Sluka 2008; Kalra, Urban, e Sluka 2001; Radhakrishnan e Sluka 2003; K. A. Sluka, Vance, e Lisi 2005; Kathleen A. Sluka et al. 1999) mas não há estudos que suportem o mecanismo de ação pela qual a CI tem efeito terapêutico.

Alguns estudos *in vitro* avaliaram o efeito da CI em células sanguíneas imaturas (pró-melanócitos humanos) (Sontag 2004, 2000, 2000, 1998; Sontag e Dertinger 1998),

verificando-se liberação de citocinas inflamatórias como fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa), interleucina 1 (IL-1) e interleucina 8 (IL-8) (Sontag, 2000) e aumento ou diminuição do AMPc intracelular dependendo da frequência da corrente estudada de 0 a 125 Hz (Sontag e Dertinger 1998). Foram realizados poucos estudos pré-clínicos em que a corrente interferencial promoveu redução da hiperalgesia mecânica em modelos de dor experimental (Jorge et al. 2006; DeSantana et al. 2011; Cruz 2014).

Revisões de literatura concluíram que há escassez de ensaios clínicos randomizados de qualidade para investigar o efeito da CI e que estes não fornecem evidências suficientes para a utilização dessa terapêutica (Almeida et al. 2018; Silva et al. 2018). Em revisão sistemática com metanálise sobre o efeito da TENS e CI na redução da dor aguda e crônica concluiu-se que ambas são igualmente efetivas para redução da dor (Beatti et al. 2010), em contrapartida os estudos foram classificados com qualidade metodológica moderada e indica a necessidade de estudos, principalmente, para elucidar seus mecanismos de ação (Almeida et al. 2018).

Para avaliação de mecanismos de ação são fundamentais a utilização de estudos *in vitro* e com modelos pré-clínicos para controle da extensão da lesão, medidas comportamentais objetivas e remoção do componente afetivo motivacional de dor com o intuito de contribuir para determinar a eficácia de uma terapia (Sluka et al., 1998). Em experimentação animal com modelo de osteoartrite (OA) foi identificado que na TENS há participação dos sistemas descendente inibitórios para reduzir hiperalgesia através da ativação de receptores opioides mu e delta espinais, serotoninérgicos e colinérgicos (Sluka et al. 1999; Kalra et al., 2001; Radhakrishnan et al. 2003)

A inibição de vias descendentes resulta em antinocicepção através da ativação de receptores serotoninérgicos, adrenérgicos, receptores colinérgicos e opioidérgicos (Li and Zhuo 2001; Basbaum and Fields 1984). Além disso, receptores colinérgicos espinais são uma importante ligação interneuronal no sistema efector analgésico espinal (Radhakrishnan e Sluka 2003). Os receptores dopaminérgicos presentes na substância cinzenta periaquedutal tem papel importante na antinocicepção promovida pela eletroterapia associada ao ponto de acupuntura (Murotani et al. 2010) e agem em conjunto com as outras vias do sistema descendente inibitório. As respostas dolorosas também podem ser diminuídas por meio da ativação via l-arginina/óxido nítrico pelo aumento dos níveis de óxido nítrico (NO) e do monofosfato cíclico de guanosina (GMPc) promovendo vasodilatação, aumento do fluxo sanguíneo local, analgesia e diminuição de mediadores inflamatórios tanto com uso da TENS (Ma et al. 2015) como da eletroacupuntura (Ma et al. 2015; Jou e Ma 2009).

Dessa forma, foi realizado no presente estudo a indução de inflamação articular,

modelo experimental de carragenina e caolina como um agente inflamatório que mimetiza dor inflamatória em seres humanos (Jorge et al., 2006), com o objetivo de avaliar o efeito antinociceptivo da CI em diferentes intensidades e seu possível mecanismo de ação pela administração sistêmica de antagonistas das vias adrenérgicas, colinérgicas, dopaminérgica, da óxido nítrico sintase, da guanilato ciclase, dos canais de K^+ /ATP e relacionado com a depleção das aminas bioativas.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Corrente interferencial

A energia elétrica tem sido usada para analgesia desde a antiguidade até os dias atuais, sendo que, no século XX, houve diminuição dos investimentos em pesquisas nesse tipo de intervenção devido à descoberta de fármacos analgésicos potentes (Heidland et al., 2012). A eletroterapia interfere na eletricidade celular, promovendo hiperpolarização ou despolarização da membrana que, a depender da intensidade da corrente, promove estimulação tecidual em nível sensorial ou motor (Low et al., 1994).

A corrente interferencial é um tipo de eletroestimulação classificada com uma corrente de frequência média alternada (CFMA) consistem em trens de pulso (sequência de pulsos) de corrente alternada (CA) com uma frequência típica de 1-10 kHz que pode ser emitida em trens de pulso retangulares (corrente Russa e Aussie) ou senoidal modulada (CI premodulada) (Ward 2009; Ward, Lucas-Toumbourou, e McCarthy 2009).

A CI que possui resultante com formato senóide, é formada a partir de duas ondas de média frequência, geralmente entre 4.000 e 4.100 Hz, denominada frequência portadora. Essas duas ondas portadoras geram uma interferência resultando em uma corrente com baixa frequência, a frequência de batida ou frequência de amplitude modulada (FAM) (Ali e Sabbahi, 2000; Low et al., 1994; Ozcan et al., 2004; Palmer et al., 1999). A FAM é igual à diferença de frequência entre as duas correntes individuais, no exemplo acima de 4.000 Hz e 4.100 Hz, a frequência resultante é de 100 Hz (Low et al., 1994) e, geralmente, está entre 1 e 150 Hz nos estudos publicados (Robertson e Spurrirt, 1998; Robertson, 2006).

Na experimentação animal, há poucas pesquisas com objetivo de avaliar o efeito antinociceptivo dessa terapia e concluiu-se que a CI promove antinocicepção no modelo de dor inflamatória da carragenina e caolina (Jorge et al. 2006; Cruz 2014; DeSantana et al. 2011). Investigando possíveis mecanismos analgésicos, verificou-se que não há aumento da liberação de beta-endorfinas após o uso da CI em ratos com inflamação na pata com adjuvante completo de Freund (Beatti et al. 2010), nem há participação dos receptores mu e delta opioides centralmente na antinocicepção da CI em ratos artríticos (Cruz 2014).

Em estudos com modelos pré-clínicos em que há controle da extensão da lesão, a avaliação de variáveis comportamentais objetivas e minimizar o componente afetivo motivacional pode contribuir para determinar a eficácia de uma terapia (Sluka et al., 1998). Alguns estudos *in vitro* evidenciam que a CI pode modular a liberação de mediadores inflamatórios como fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa), interleucinas 1 beta, 6 e 8 (IL-1 beta, IL-6 e IL-8) (Sontag 2000) e mecanismo complexo de liberação de AMP cíclico e GMP cíclico (Sontag 2004; Sontag e Dertinger 1998).

Há uma carência na literatura de estudos que evidenciem os mecanismos pelo qual a corrente interferencial promove analgesia, diferentemente da TENS que é um tratamento não-farmacológico, aplicada por meio de eletrodos na superfície da pele, frequência variada entre alta (> 50 Hz) e baixa frequência (< 10 Hz) e intensidade classificada entre sensorial e motora (DeSantana et al. 2008). O mecanismo analgésico da TENS foi elucidado em diversos estudos experimentais que confirmaram a ativação de vias opióides endógenas (King et al., 2005). O bloqueio de receptores opióides comprovou que a TENS de alta e baixa frequência ativa receptores delta e mu espinais ou supraespinais (bulbo), respectivamente (Kalra, Urban, e Sluka 2001; Sluka et al. 1999). Verificou-se que a estimulação com frequência de 100 Hz reduz a liberação espinal de neurotransmissores excitatórios, glutamato e aspartato, através da ativação de receptores opióides delta (Sluka et al. 2005).

Revisões de literatura concluíram que há escassez de ensaios clínicos randomizados para investigar o efeito da CI e que estes não fornecem evidências suficientes para a utilização dessa terapêutica (Beatti et al., 2010; Fuentes et al., 2011), embora Almeida et al. (2018) tenham identificado efeito analgésico similar da CI e da TENS tanto em dor aguda como crônica em recente revisão sistemática com metanálise.

Alguns autores sugerem que a CI pode ser mais eficaz que a TENS (Cheing e Hui-Chan 2003; Goats 1990; Hansjuergens 1986; Noble et al. 2000; V. Robertson 2006; Watson 2002), entretanto, outros autores têm refutado esta ideia (Alon 1987; Johnson e Tabasam 2003; Johnson 1999; Robertson 2006; Shanahan, Ward, e Robertson 2006). Sugere-se o uso da CI para tratar diferentes condições clínicas e que frequências com amplitude modulada de 100 Hz produzem analgesia mais eficiente (Shanahan, Ward, e Robertson 2006; Goats 1990). Há dificuldade em estabelecer os melhores parâmetros da CI visto que essa intervenção tem recebido pouca atenção no âmbito da pesquisa (Johnson, 1999; Robertson et al., 2006; Ward et al., 2009).

2.2. Corrente interferencial baseado em evidências

A CI é uma modalidade eletroterapêutica bastante utilizada na prática clínica, a qual consiste em um método não-farmacológico e não-invasivo com diferentes aplicabilidades tais como relaxamento muscular (Acedo et al. 2015; Youn, Lee, e Lee 2016), constipação (Chase et al. 2005; Clarke et al. 2009; Ismail et al. 2009; Coban et al. 2012; Southwell 2012; Yik et al. 2016), síndrome do intestino irritável (Coban et al. 2012), incontinência urinária (Mauroy et al. 2001; Demirtürk et al. 2008; Kajbafzadeh et al. 2009; Lee e Park 2013), fraturas ósseas (May et al. 1985), úlceras de pressão (Shahrokhi, Ghorbani, e Aminianfar 2014).

Embora tenha muitas aplicabilidades clínicas, sua maior indicação é relacionada à analgesia (Almeida et al. 2018; Correa et al. 2013; Walker et al. 2006) em diferentes condições dolorosas como lombalgia (Correa et al. 2013; Werners, Pynsent, e Bulstrode 1999; Hurley et al. 2001; Hurley et al. 2004), artrite (Walker et al., 2006), osteoartrite (Gundog et al., 2012), dismenorreia primária (Tugay et al., 2007), dor pós-operatória (Jarit et al., 2003), dor em ombro hemiplégico (Suriya-Amarit et al. 2014), fibromialgia (Moretti et al. 2012; Almeida et al. 2003) e dor neuropática (Lindblad, Bergkvist, e Johansson 2015). Seu uso tem promovido alívio de dores agudas e crônicas, podendo ser articular, neuropática, musculoesquelética ou visceral, o que exige um conhecimento sobre seu mecanismo para a melhor indicação.

2.3. Conceitos em dor

A dor é conceitualmente definida pela Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP) como uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a dano tecidual real ou potencial ou descrita em termos de tal dano (Loeser e Treede 2008). Esse conceito sempre é discutido e, recentemente, Williams e Craig (2016) propuseram que a dor tem componentes sensoriais, emocionais, cognitivos e sociais, mas apesar desses componentes, sendo essas características complementares ao conceito clássico da IASP (Alcock 2017; Tesarz e Eich 2017; Wright e Aydede 2017).

A nociceção é um termo fisiológico utilizado para descrever os processos neurais de codificação e processamento de estímulos nocivos (Loeser e Treede 2008; Basbaum et al.

2009). O termo nocicepção difere de dor, como exemplo, há nocicepção no local de uma cirurgia mas que não resulta em dor devido a uma anestesia local (Loeser e Treede 2008). Os nociceptores estão localizados nos ramos periféricos dos neurônios nociceptivos periféricos (seus ramos centrais são terminais pré-sinápticos na medula espinal), os corpos celulares dos neurônios estão principalmente localizados nos gânglios da raiz dorsal (GRD). Existem três classes principais de neurônios nociceptivos, as fibras A δ , A β e C. As fibras A δ e A β são mielinizadas de diâmetro médio que são estimuladas na dor aguda ou à estimulação mecânica inócua (toque leve), respectivamente (Basbaum et al. 2009; Chakour et al. 1996; Todd 2010). As fibras C são amielinizadas e sensíveis a estímulos térmicos e mecânicos, consideradas fibras polimodais (Basbaum et al. 2009; Todd 2010).

As informações sensoriais dos aferentes primários que inervam os tecidos respondem a diferentes tipos de estímulos e terminam no corno dorsal da medula espinal (Todd 2010), esses neurônios sensoriais têm uma apresentação morfológica pseudo-unipolar para permitir a passagem de proteínas sintetizadas no GRD, tanto para os terminais centrais como periféricos, promovendo uma comunicação bidirecional tanto para a periferia como para a medula espinal (Basbaum et al. 2009).

Os neurônios da medula dentro da lâmina I geralmente respondem à estimulação nociva (via fibras A δ e C); os neurônios nas lâminas III e IV são primariamente responsivos à estimulação inócua (via A β); neurônios da lâmina V recebem uma entrada convergente não nociva e nociva através de entradas A δ e A β diretas (monossinápticas) e entradas de fibra C indiretas (polissinápticas) (Basbaum et al. 2009; Todd 2010). Nesse local, as informações são processadas por circuitos complexos que envolvem interneurônios excitatórios e inibitórios, além de neurônios de projeção para transmitir o sinal a diferentes áreas cerebrais (Todd 2010).

De maneira simplificada, os neurônios de projeção constituem as vias ascendentes, incluindo os tratos espinotalâmico e espinorreticulotalâmico, que transmitem mensagens de dor ao tálamo e tronco cerebral, respectivamente. O primeiro é particularmente relevante para os aspectos relacionados à experiência da dor (localização e intensidade), enquanto o segundo pode ser mais relevante para as dores mal localizadas (Basbaum et al. 2009).

Não se define uma única área cerebral que seja fundamental para o processamento da dor, ela resulta de um conjunto de estruturas sendo ativadas. Essas regiões podem estar associadas ao caráter sensório-discriminativo, como o córtex somatossensorial, ou seus aspectos emocionais por meio do giro cingulado anterior e do córtex insular (Basbaum et al. 2009; Perl 2011; Todd 2010; Urban e Gebhart 1999). Assim como há grandes esforços para a compreensão das regiões e vias relacionadas com o processamento da dor, também é

encontrada uma vasta literatura sobre mecanismos descendentes inibitórios e facilitatórios (Todd 2010; Heinricher et al. 2009; Mason 2005; Millan 2002; Vanegas e Schaible 2004; Urban e Gebhart 1999).

Tanto o sistema descendente inibitório como o facilitatório derivam do parte rostroventromedial da medula (RVM) (Vanegas e Schaible 2004). A facilitação permite o retorno da excitação cortical por meio do corno dorsal da medula espinal, região onde ocorre a entrada de informações dolorosas (Min e Zhuo 2017). A facilitação descendente está envolvida na hiperalgesia secundária e nos processos de dor persistente como a dor crônica (Vanegas e Schaible 2004).

O sistema descendente inibitório tem importante papel no sistema endógeno para inibição da dor, tendo a substância cinzenta periaquedutal (SCP) como uma região com altos níveis de concentração dos peptídeos endógenos responsáveis pela analgesia. A SCP projeta suas eferências para o RVM, onde se localizam os núcleos magno da rafe (NMR) e os gigantocelularis que, subsequentemente, enviam projeções descendentes bilaterais para o corno dorsal da medula espinal (Vanegas e Schaible 2004; Gebhart 2004).

Entendendo o que ocorre no processamento da nocicepção, tanto na periferia como no sistema nervoso central, as respostas podem ser moduladas pelos sistemas descendentes facilitatórios ou inibitórios. Com isso há necessidade de entender a ativação de cascatas intracelulares dos nociceptores e como essas células podem ser fundamentais na elucidação do mecanismo de tratamentos como a corrente interferencial.

2.4. Dor e o nociceptor

Uma revisão de literatura recente nos instiga a pensar na célula como sendo a unidade funcional da dor, assim, o nociceptor responde a uma grande variedade de estímulos e essa resposta pode ser modulada pelas moléculas sinalizadoras presentes em sua matriz extracelular ou no interior da própria célula (Reichling, Green, e Levine 2013). Além disso, a fibra nociceptiva é classificado como um conjunto de neurônios pseudo-unipolares, o que significa que ele pode enviar e receber mensagens de ambas as extremidades, tanto os terminais periféricos como os centrais podem ser alvos de moléculas endógenas com a finalidade de modular sua sensibilidade (Basbaum et al. 2009).

A primeira molécula sinalizadora decoberta relacionada ao mecanismo de sensibilização dos nociceptores foi a adenosina monofosfato cíclico (AMPC) por uma via ativada por meio de receptores acoplados à proteína G (Ferreira e Nakamura 1979; Bell 2018). Atualmente, sabe-se que o processo de nocicepção pode ativar diferentes tipos de receptores como os acoplados à proteína G, receptores tirosina quinase, canais iônicos dependentes de ligante, receptores de hormônios esteroides citoplasmáticos e nucleares (Hucho e Levine 2007; Julius e Basbaum 2001).

Diversos fatores influenciam no mecanismo de transdução do processo nociceptivo como a natureza da dor, o tempo em que ela ocorre, o tecido lesado, o tipo de estímulo, podendo ser uma dor aguda ou crônica, muscular, neuropática, articular, inflamatória, reumatológica, ocorrendo em cada uma delas um ou mais mecanismos nociceptivos diferentes (Hunt e Mantyh 2001).

Na dor inflamatória, um tipo de dor induzida experimentalmente em estudo pré-clínico, ocorre a estimulação dos aferentes sensoriais primários (nociceptores) quando os tecidos são danificados, tendo como respostas teciduais hiperemia, edema e calor acompanhados por dor. Mediadores endógenos liberados pelos tecidos danificados ou infectados aumentam o extravasamento de mediadores pró-inflamatórios nos vasos sanguíneos e atraem as células imunes, incluindo mastócitos, macrófagos, neutrófilos e plaquetas, para o local da lesão pela resposta inflamatória (Su, Sun, e Chen 2014).

Na periferia, os mediadores inflamatórios se ligam aos receptores acoplados à proteína G para ativar as proteínas quinases A e C (PKA e PKC) e fosforilar os receptores ou aumentar a expressão do receptor, o que aumenta a sensibilidade dos nociceptores primários, chamada sensibilização periférica (Kidd e Urban 2001; Su, Sun, e Chen 2014). Embora alguns mediadores possam atuar diretamente em canais iônicos para induzir alteração no potencial do receptor, na maioria das vezes essas interações químicas ocorrem por meio da ativação de receptores metabotrópicos e segundo-mensageiros para ativar as proteínas quinases, estimular canais iônicos para alterar a permeabilidade iônica ou fosforilar proteínas celulares para aumentar a expressão gênica (Su, Sun, e Chen 2014).

No momento, ainda não está claro o que determina o uso das diferentes vias de sinalização nos neurônios nociceptivos, mas é importante avaliar as vias de ativação, bem como sua cascata intracelular para elucidar a fisiopatologia dos diferentes tipos de dor, bem como entender os mecanismos de ação dos tratamentos que objetivam a redução da dor (Hucho e Levine 2007).

2.5. Receptores envolvidos no controle da dor

As vias nociceptivas estão sujeitas à modulação de uma infinidade de sistemas, incluindo vias dopaminérgicas, serotoninérgicas, adrenérgicas, colinérgicas (Naser e Kuner 2018), opioidérgicas (Trescot et al. 2008) e do óxido nítrico (Schmidtko, Tegeder, e Geisslinger 2009; Pertovaara 2006). A seguir serão abordados os receptores envolvidos no controle da dor que foram avaliados nesse estudo.

2.5.1. Grupo das aminas biogênicas

Receptores adrenérgicos

O sistema adrenérgico, assim como o colinérgico, faz parte do sistema nervoso autônomo (SNA), classicamente dividido em simpático e parassimpático e mais recentemente inclui a participação de um subsistema que tem, como neurotransmissor, o óxido nítrico (Tiwari et al. 2013). O sistema simpático através da ação dos receptores adrenérgicos são divididos em receptores alfa-adrenérgicos e beta-adrenérgicos (Pertovaara 2013, 2006). Esses receptores estão envolvidos na regulação autonômica de vários órgãos e participam da regulação de vigilância, atenção, funções cognitivas, assim como do controle da dor (Pertovaara 2013).

Mecanicamente, esses receptores atuam por meio de receptores acoplados à proteína G, estimulando diferentes proteínas G em suas cascatas intracelulares. O subtipo alfa-1-adrenérgico é um receptor acoplado à proteína G_q, em que há ativação da fosfolipase C, promovendo liberação do inositol trifosfato (IP₃) para ativar canais de cálcio e sua liberação intracelular, assim como a formação do diacilglicerol (DAG) que ativa a proteína quinase C (PKC).

Em contrapartida, o subtipo alfa-2 é responsável pela ativação da proteína G_i, que inibe a ativação da proteína G_s, diminuindo a concentração da adenosina monofosfato cíclico (AMPC), assim como a excitabilidade da célula. Os subtipos beta-adrenérgicos (beta-1, beta-2

e beta-3) estão relacionados com a proteína Gs, estimulando a enzima adenilato ciclase (ADC), que, por sua vez, estimula a produção de AMPc, promovendo aumento da excitabilidade (Summers e McMartin 1993).

O receptor alfa-1-adrenérgico tem papel importante na facilitação dos motoneurônios (Wada, Hasegawa, e Ono 1997) e promove antinocicepção pela ativação de interneurônios inibitórios na medula espinhal (Baba, Shimoji, e Yoshimura 2000; Pertovaara 2013). Os receptores alfa-2-adrenérgico são classicamente conhecidos por promover redução da nocicepção (Kawasaki et al. 2003; Takasu et al. 2006; Pertovaara 2006) e por diminuir a liberação de neurotransmissores excitatórios dos terminais centrais dos nociceptores aferentes primários (Pertovaara 2006, 2013). Foi considerada relevante para o estudo a investigação de um possível mecanismo adrenérgico para o efeito da terapia interferencial em relação ao comportamento nociceptivo, além de avaliar possíveis alterações no desempenho motor dos animais acometidos por lesão inflamatória aguda articular.

Receptores colinérgicos

Classicamente o sistema colinérgico atua no sistema parassimpático por meio da acetilcolina, seu neurotransmissor (Naser e Kuner 2018; Tiwari et al. 2013). Existem dois tipos de receptores colinérgicos de acordo com os fármacos que são estimulados, receptores nicotínicos e muscarínicos. Os receptores nicotínicos estão presentes nos neurônios pré-sinápticos e na junção neuromuscular, atuam como um canal iônico regulado por ligante (Tiwari et al. 2013). São divididos nos tipos neural e muscular, a depender do tecido que se encontra é subdividido pela variação da sua conformação e /ou pela relação do sítio ativo com o ligante (Kalamida et al. 2007). Seus receptores podem modular a antinocicepção por meio da sua ativação sistêmica mas são pouco estudados se comparados ao receptor muscarínico pelo alto índice de efeitos colaterais dos seus agonistas (Cucchiari et al. 2008).

Os receptores muscarínicos, que foram estudados nessa pesquisa, desempenham um papel essencial na manutenção do estado contrátil do músculo liso em todo o corpo. Agonistas muscarínicos provocam contração no músculo ciliar, no esfíncter da íris, nas vias aéreas do pulmão, na bexiga, no trato gastrointestinal e em alguns vasos sanguíneos (Ehlert, Ostrom, e Sawyer 1997). O papel dos receptores muscarínicos é altamente complexo visto a sua grande distribuição central e periféricamente bem como a sua plasticidade (Eglen 2005).

Os receptores muscarínicos são subdivididos em M₁, M₂, M₃, M₄, M₅ e fazem parte dos receptores acoplados à proteína G. Enquanto que M₁, M₃, M₅ ativam a proteína Gq, os subtipos M₂ e M₄ ativam a proteína Gi que inibe a via do adenilato ciclase (Jurgen Wess 1996). Há uma dificuldade em determinar os efeitos específicos de cada subtipo devido à alta concentração de mais de um subtipo no mesmo tecido, sendo assim, foram desenvolvidas pesquisas com animais nocaute e investigação de potenciais terapêuticos desses receptores (Naser e Kuner 2018; Jürgen Wess, Eglen, e Gautam 2007).

Foi identificado que animais nocaute para receptores M₂ nas terminações nervosas cutâneas estavam associados a diminuição da responsividade nociceptiva (Bernardini et al. 2002). Esta observação deve ser de interesse para o desenvolvimento de novas classes de agentes analgésicos (Bernardini et al. 2002; Jürgen Wess, Eglen, e Gautam 2007)

Os receptores colinérgicos regulam profundamente a transmissão nociceptiva no nível da medula espinal, por meio de mecanismos pré- e pós-sinápticos. A elevação dos níveis de acetilcolina na medula espinal induz analgesia, enquanto que a diminuição local dos níveis ou atividade de Ach (via bloqueio de receptor) potencializa a sensibilidade nociceptiva, induzindo hiperalgisia e alodinia (Zhuo e Gebhart 1991). Os efeitos antinociceptivos do receptores colinérgicos são revertidos pelo bloqueio espinal da inibição do neurotransmissor ácido gama aminobutírico (GABA), bem como pelo antagonismo dos receptores muscarínicos, sugerindo que o componente GABAérgico atua juntamente com esses receptores (Kimura et al. 2013).

As diferentes alterações dos receptores são dependentes da sua atividade normal e/ou relacionadas a condições patológicas que modulam os componentes periféricos e centrais da via nociceptiva somatossensorial durante o curso da dor. As vias nociceptivas estão sujeitas à modulação de uma infinidade de sistemas (Naser e Kuner 2018), logo a investigação desse receptor pode sinalizar a ativação de outros sistemas contribuindo para elucidar o mecanismo de ação da corrente estudada.

Sistema dopaminérgico

O sistema dopaminérgico está envolvido em várias funções vitais do sistema nervoso central, incluindo movimento voluntário, alimentação, afeto, recompensa, sono, atenção, memória, aprendizado e, periféricamente, desempenha papéis fisiológicos importantes na

regulação simpática, hormonal, renal e imunológica (Beaulieu e Gainetdinov 2011).

A dopamina é um neurotransmissor que pertence à classe das catecolaminas, assim como a epinefrina e norepinefrina. A tirosina é o produto inicial para a síntese das catecolaminas, que em relação à dopamina, ocorre a hidroxilação da tirosina em L-3,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA) seguida de descarboxilação para concluir a síntese da dopamina (Butini et al. 2016). Este processo ocorre em vários tecidos, tanto centrais como periféricos, e é alvo de diferentes abordagens terapêuticas, seja em doenças neurológicas como a Doença de Parkinson (DP) (Kjær, Damholdt, e Callesen 2018), esquizofrenia (Slifstein e Abi-Dargham 2018) ou em tratamento de condições dolorosas (Martikainen et al. 2018).

Os receptores dopaminérgicos são subdivididos nos subtipos D₁, D₂, D₃, D₄ e D₅, eles são amplamente expressos em várias regiões cerebrais e tecidos periféricos, embora com diferentes densidades, dependendo do local e sua função. Pertencem à classe de receptores acoplados à proteína G, em que D₁ e D₅ estão acoplados à proteína G_s, promovendo aumento intracelular de AMPc, enquanto que a ativação dos subtipos D₂, D₃ e D₄ provocam diminuição dos níveis de cAMP por acoplamento à proteína G inibitória (Butini et al. 2016; Beaulieu e Gainetdinov 2011).

Baseado nos mecanismos inibitórios dos receptores D₂ e D₃, esses subtipos são os mais estudados em relação à redução da dor pela via dopaminérgica (Cobacho, de la Calle, e Paíno 2014; Lapirot et al. 2011). A ativação dos receptores D₂ inibe o comportamento de dor de diferentes tipos, diminuindo a facilitação descendente e modulando o controle inibitório nocivo difuso (DNIC) (Lapirot et al. 2011). Medicações dopaminérgicas são pouco utilizadas na prática clínica, mas são promissoras no tratamento de dores crônicas musculoesqueléticas e neuropáticas juntamente com fármacos antidepressivos, tanto os tricíclicos como inibidores da recaptação de serotonina-adrenalina (Cobacho, de la Calle, e Paíno 2014). Tratamentos que tenham como mecanismo de ação a ativação dopaminérgica são potenciais alvos terapêuticos para manejo da dor com baixa efetividade de tratamento.

2.5.2. Via do óxido nítrico

O óxido nítrico (NO) é um gás radical livre que atua como uma importante molécula mensageira na regulação de diferentes funções do organismo e também atua como um

neurotransmissor no sistema nervoso central e periférico (Lowenstein e Snyder 1992; Denninger e Marletta 1999). Dentre os efeitos do NO no organismo, há a regulação do tônus vascular e da inibição da agregação plaquetária, no processo neural de potenciação de longo prazo, na contração do músculo liso, na atividade imunológica (Denninger e Marletta 1999) e no processamento da dor (Iwamoto e Marion 1994; Meller e Gebhart 1993).

O óxido nítrico é formado por um agente de sinalização produzido pela enzima óxido nítrico sintase (NOS) a partir do aminoácido L-arginina (Denninger e Marletta 1999; Lowenstein e Snyder 1992), subdivididas nos subtipos NOS endotelial (eNOS), indutível (iNOS) e neuronal (nNOS). Os efeitos no NO podem ser divididos no mecanismos de ação dependente do monofosfato cíclico de guanosina (GMPc) mediados pela guanilato ciclase solúvel (sGC) e os que não dependem dele em que o receptor de NO interage com compostos metálicos, com o oxigênio ou o superóxido (Krumenacker e Murad 2006). A sGC é o principal receptor para o NO, constituindo-se em uma enzima que converte o trifosfato de guanosina em GMPc, um segundo mensageiro que transmite sinais para a cascata de sinalização da proteína quinase dependente de GMPc ativando canais iônicos e promovendo a regulação das fosfodiesterases (Denninger e Marletta 1999).

Um importante receptor ionotrópico envolvido na via NO-GMPc são os canais de potássio (Canais de K^+) (Soares et al. 2000). Os diferentes tipos de canais de K^+ estão relacionados com redução da dor e participam do mecanismo de ação de diferentes fármacos analgésicos (Ocaña et al. 2004). Embora existam vários tipos de canais de K^+ , os que estão relacionados com a antinocicepção promovida pela via NO-GMPc são os canais de K^+ sensíveis a ATP (canais de K^+ /ATP) (Soares e Duarte 2001). Além desses mecanismos, já é comprovado que a via NO-GMPc ativa neurônios do corno dorsal da medula espinal, do gânglio da raiz dorsal, neurônios de projeção e a substância cinzenta periaquedutal (Schmidtke, Tegeder, e Geisslinger 2009).

O óxido nítrico é um importante neurotransmissor para o desenvolvimento da sensibilização central em contrapartida o NO inibe a nocicepção no sistema nervoso periférico e também no sistema nervoso central, medeia o efeito analgésico dos opióides e de outras substâncias analgésicas (Cury et al. 2011). O papel dessa via ainda não é bem definido sendo que doadores de NO e inibidores da síntese de NO tem efeito controversos em diferentes estudos, em diferentes tipos de dor, avaliadas central e/ou periféricamente (Schmidtke, Tegeder, e Geisslinger 2009; Schmidtke 2015).

2.6. Justificativa

A corrente interferencial tem efeito analgésico comprovado por estudos clínicos em diferentes tipos de dor, em contrapartida são poucos os que investigam seu mecanismo de ação nociceptivo para a terapia interferencial. Diante do exposto torna-se relevante a investigação de diferentes receptores que possam estar envolvidos na antinocicepção promovida pela CI como estratégia para melhor utilização ou novas aplicabilidades para essa ferramenta terapêutica.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Investigar o efeito antinociceptivo da CI e mecanismos de ação da CI na antinocicepção promovida em ratos artríticos.

3.2. Objetivos específicos

- Verificar o efeito antinociceptivo da CI em intensidade sensorial e motora no modelo animal de osteoartrite.
- Avaliar o efeito do bloqueio farmacológico sistêmico das aminas biogênicas, receptores alfa-1 adrenérgicos, alfa-2 adrenérgicos, colinérgicos muscarínicos, dopaminérgico, óxido nítrico sintase, guanilato ciclase e canais de potássio de canais de K^+ /ATP na ação antinociceptiva da CI.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Animais

Foram utilizados 96 ratos *Wistar* (250 a 350 g; Biotério Setorial da Fisiologia da Universidade Federal de Sergipe) para este estudo, após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal desta universidade (CEPA/UFS nº 64/2016 – Anexo A). Os animais foram mantidos num ciclo claro-escuro de 12 h, e todos os testes foram feitos durante o ciclo claro. Comida e água ficaram disponíveis *ad libitum*.

4.2. Indução da inflamação articular

A inflamação do joelho foi induzida por uma mistura de 3% de caolina e 3% de carragenina (0,1 mL em salina estéril, pH 7,2 a 7,4), a qual foi injetada na cavidade intra-articular do joelho esquerdo enquanto o rato estava anestesiado com isoflurano (Cristália®, Itapira, São Paulo, Brasil), inicialmente com uma concentração de 5%, e mantido a uma concentração de 2% (Sluka e Westlund, 1993).

4.3. Aplicação da corrente interferencial

A CI foi aplicada nos joelhos inflamados durante 20 minutos enquanto os ratos permaneciam anestesiados com isoflurano, tal como tem sido utilizado para a estimulação com TENS (DeSantana, Santana-Filho, e Sluka 2008). Os eletrodos de carbono com 0,4 cm de diâmetro foram colocados nas regiões medial e lateral do joelho (Figura 4). Uma frequência de batida (frequência de amplitude modulada - FAM) de 100 Hz foi usada como corrente estimulante. Para atingir esta corrente FAM, duas correntes separadas de média frequência, uma de 4.000 Hz e outra de 4.100 Hz, foram sobrepostas dentro do estimulador. A

estimulação foi aplicada em intensidade sensorial (definida como aquela abaixo do limiar motor) ou intensidade motora (quando o animal realiza uma contração muscular isométrica) e a duração de pulso determinada foi de 125 microssegundos. A intensidade da corrente era ajustada a cada 5 minutos para evitar habituação da corrente em ambas intensidades.

O equipamento de CI usado neste estudo é o mesmo utilizado clinicamente (Neurodyn, Ibramed®, Amparo, São Paulo, Brasil). Os eletrodos foram fixados à pele do animal com gel aquoso após tricotomia da região, o tamanho dos eletrodos usados nestes experimentos é comparável à área do tecido que seria coberto pelos eletrodos em humanos recebendo CI no joelho.

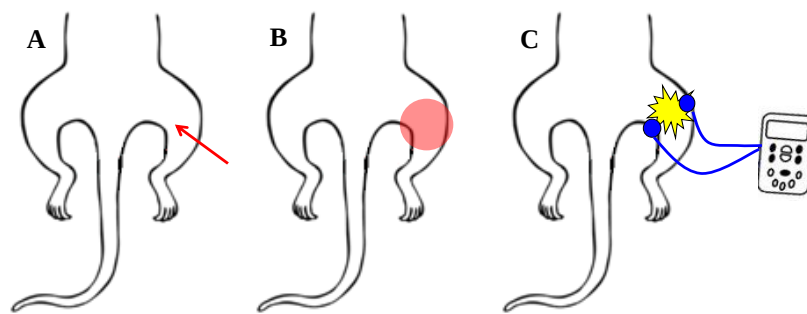


Figura 1. A: Injeção de carragenina (seta vermelha); B. Local de inflamação e edema (em vermelho); C. Eletrodos e local de aplicação da corrente interferencial (CI).

4.4. Testes comportamentais

Todos os testes comportamentais foram realizados por um avaliador cego para o tipo de estimulação recebida e para o bloqueio farmacológico. Foram realizados 30 minutos após a anestesia do animal e na mesma ordem sendo avaliado primeiro o monitor de atividades, a sensibilidade mecânica cutânea e por fim o teste de sensibilidade térmica. Todos os testes estão descritos adiante.

4.4.1. Sensibilidade mecânica cutânea

O limiar de retirada da pata foi usado como medida de sensibilidade mecânica cutânea (secundária) e o teste foi realizado de acordo com o procedimento publicado previamente

(Chandran e Sluka 2003). Inicialmente, os animais foram aclimatados em suas caixas por 30 minutos na sala de comportamento. Em seguida, os animais foram colocados em cubículos transparentes sobre uma superfície de metal vazada e aclimatados novamente por 30 minutos. Este procedimento foi repetido por dois dias consecutivos antes de iniciar o teste comportamental.

A avaliação da sensibilidade mecânica foi realizada para mensuração do limiar sensitivo cutâneo e determinar a presença de hipernocicepção após indução do modelo experimental de osteoartrite. Para isto, utilizou-se o teste de pressão crescente na pata por meio do von Frey eletrônico (Insight®, Ribeirão Preto, SP, Brasil). O experimento foi encoberto, os avaliadores eram previamente treinados, realizaram todas as séries experimentais e não tinham conhecimento do tratamento realizado no animal que era distribuído de forma aleatória.

A ponteira do aparelho foi aplicada na superfície plantar de ambas as patas até que o animal manifestasse o comportamento de retirar a pata mediante o estímulo (Gopalkrishnan e Sluka 2000). A avaliação foi realizada três vezes em cada pata com o intervalo de 5 minutos entre cada medida, a menor força na qual o animal retirasse a pata foi registrada como limiar mecânico de retirada da pata, e interpretada como hiperalgesia mecânica (cutânea), o limiar registrado é calculado a partir da média das três medidas realizadas. Esse método tem mostrado extrema confiabilidade estatística (Sluka et al. 1999).

4.4.2. Sensibilidade térmica

Para avaliação da latência térmica foi utilizado o teste da placa quente (hot plate) (modelo EFF-361, Insight®, Ribeirão Preto, SP, Brasil). Nesse teste foi considerado como latência de resposta o tempo (em segundos) em que os animais permaneceram sobre uma chapa metálica aquecida ($55 \pm 0,5^\circ\text{C}$) até reagirem ao estímulo térmico. Essa reação é caracterizada pelo comportamento de levantar, lambear as patas ou saltar (TITA et al., 2001), sendo considerada a reação que primeiro fosse manifestada pelo animal. O tempo de corte utilizado foi de 20 segundos.

4.4.3. Monitor de atividades

O monitor de atividades foi utilizado a fim de avaliar a função locomotora. Neste, os animais foram alocados individualmente em um cubo de acrílico (34,5 centímetros de altura x 45 cm de profundidade x 45 cm de largura, EP 149, Insight®, Ribeirão Preto, SP, Brasil) durante 15 minutos. A câmara de atividades é equipada com fotocélulas e 16 vigas de luz infravermelha que registram os dados através de um software (Monitor de Atividades, Insight®, Ribeirão Preto, SP, Brasil) que detalha trajetória percorrida, distância percorrida, tempo em pé e o tempo de repouso feitos pelo animal (Brys, Pupe and e Bizarro, 2014).

4.5. Série comportamental

4.5.1. Grupos - Série comportamental

Nesta série experimental foram utilizados os seguintes grupos:

- CI com intensidade sensorial (n=6)
- CI com intensidade motora (n=6)
- Controle (n=6)

4.5.2. Delineamento experimental - Série comportamental

Esta série experimental tem como objetivo avaliar se há antinocicepção promovida pela CI em animais com inflamação articular e se há diferença de efeito entre a intensidade sensorial e motora. Inicialmente, os animais foram aclimatados nos dias -2 e -1 para minimizar o estresse do animal nas avaliações comportamentais. A inflamação do joelho foi realizada no dia 0. No dia 1, 24 h após a injeção articular, foi realizada a avaliação

comportamental, o tratamento com CI e a reavaliação após a aplicação. Os animais ficaram em recuperação por 30 min para ser feita a reavaliação (Figura 2).

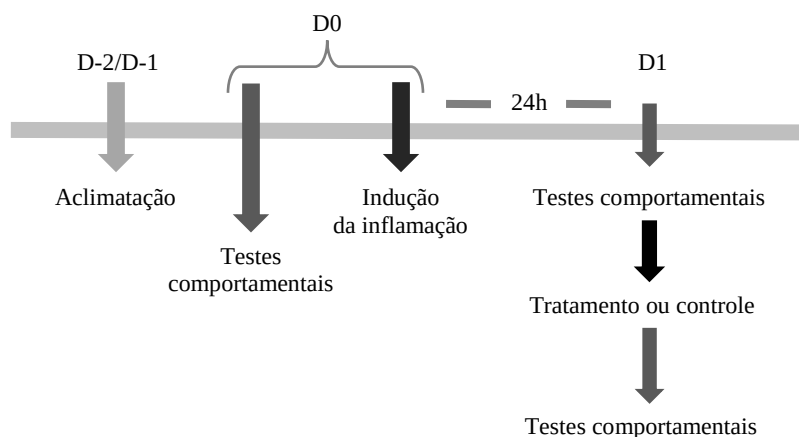


Figura 2. Delineamento experimental da série comportamental.

Animais controles foram similarmente aclimatados e tratados, anestesiados por 20 minutos com os eletrodos colocados no joelho inflamado, mas sem passagem de corrente elétrica. Todos os testes foram feitos com o experimentador cego para o tipo de estimulação. Os testes comportamentais foram realizados antes da indução, 24 h após a indução da inflamação e após a aplicação do tratamento (Figura 2).

4.6. Série para bloqueio farmacológico

4.6.1. Grupos e fármacos

Foram avaliadas diferentes vias por meio de seus respectivos antagonistas, para isso foram categorizados de acordo com o delineamento experimental, o veículo utilizado ou relacionado às afinidades dos mecanismos das vias estudadas, foram realizados estudos do efeito da CI em relação a depleção das aminas biogênicas, ao bloqueio delas de forma específica, a participação do óxido nítrico e a via do óxido nítrico. Em relação aos fármacos cada antagonista selecionado tem uma dosagem específica e um tempo determinado entre a sua administração sistêmica e tratamento com CI de acordo com a tabela abaixo (Tabela 1).

Tabela 1. Lista de fármacos com suas doses, tempo para bloqueio dos receptores, veículo de diluição bem como a referência utilizada.

Fármaco (dose)	Efeito (antagonista)	Tempo	Veículo	Referência
Reserpina (5mg/kg)	Depleção das aminas	24h	Salina	Algeri et al., 1987
Prazosina (10 mg/kg)	Alfa 1 adrenérgico	10	Salina	Zurowski et al., 2012
Ioimbina (0,5 mg/kg)	Alfa 2 adrenérgico	60	Salina	Otsuka et al., 2001
Atropina (1 mg/kg)	Colinérgico muscarínico	15	Salina	Terenziand Prado, 1990
Haloperidol (5 mg/kg)	Dopamina	180	Salina	Terenziand Prado, 1990
N ^ω -nitro-L-arginina (L-NNA/10 mg/kg)	Óxido nítrico sintase	10	Salina	(Okuducu e Onal 2005)
Glibenclamida (10 mg/kg)	Guanilato ciclase	30	DMSO* (5%)	Quiñones-Bastidas et al., 2013
ODQ** (2 mg/kg)	Canais de K ⁺ /ATP	30	DMSO*(25%)	Quiñones-Bastidas et al., 2013

* Dimetilsulfóxido ** 1- H - [1,2,4] oxadiazolo [4, 3-a] quinoxalin-1-ona (ODQ)

4.6.2. Grupos (Série para bloqueio farmacológico)

Os grupos para bloqueio farmacológico foram realizados em categorias como citado anteriormente sendo que cada uma delas tem seus respectivos grupos controle.

Tabela 2. Grupos de animais da série para bloqueio farmacológico.

Série para bloqueio farmacológico		
Categoria	Efeitos	Grupo (n=6)
Depleção das aminas biogênicas		Controle
		CI + Salina
	Depleção das aminas	CI + Reserpina
Bloqueio das aminas		Controle
		CI+Salina
	Alfa 1 adrenérgico	CI+Prazosina
	Alfa 2 adrenérgico	CI+Ioimbina
	Colinérgico muscarínico	CI+Atropina
	Dopaminérgico	CI+Haloperidol
Participação do óxido nítrico	Óxido nítrico sintase	CI+L-NA
		CI+DMSO
	Guanilato ciclase	CI+ODQ
	Canais de K ⁺ /ATP	Glibenclamida

4.6.3. Delineamento experimental - Série para bloqueio farmacológico

Esta série experimental teve como objetivo avaliar se o bloqueio farmacológico sistêmico de diferentes vias alterou a antinocicepção promovida pela CI. Nos dias -2 e -1, foi feita a aclimatação dos animais aos aparelhos de avaliação comportamental. A inflamação do joelho foi induzida no dia 0 após a avaliação comportamental dos animais. No dia 1, 24 h após a injeção articular, foi realizada novamente a avaliação comportamental, o bloqueio farmacológico, o tratamento com CI e a reavaliação.

O tempo entre o bloqueio e o tratamento foi determinado de acordo com a literatura de maneira diferenciada para cada via a ser estudada. Todas as avaliações foram realizadas com o experimentador cego para o tipo de estimulação e tratamento com antagonista. Os testes foram realizados antes da indução, 24 h após a indução da inflamação e após a aplicação do tratamento (Figura 3).

A categoria relacionada à depleção das aminas biogênicas teve delineamento experimental diferenciado porque o fármaco promovia redução dos estoques de aminas das células apenas com 24h após sua aplicação. Nesse delineamento houve a inclusão da avaliação comportamental pré-reserpina (Figura 4).

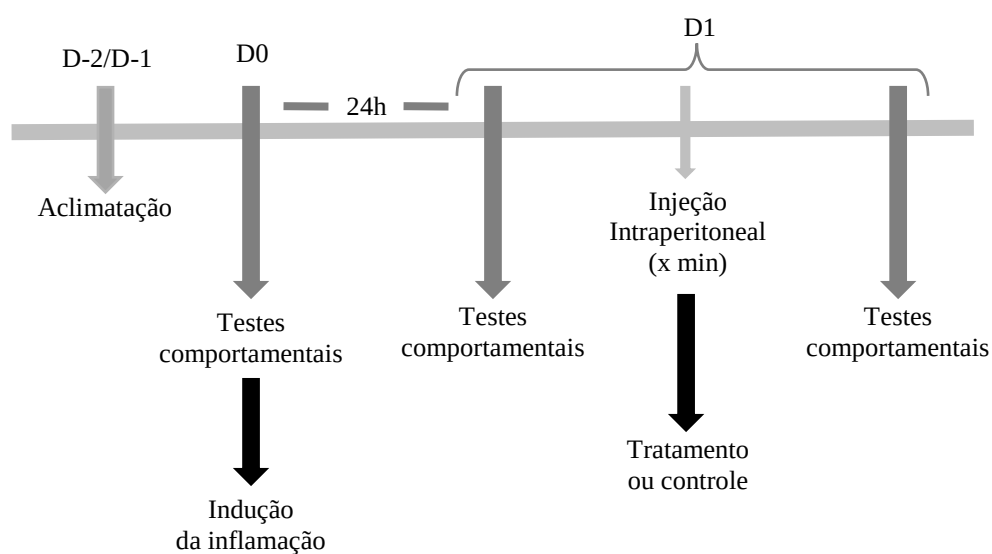


Figura 3. Delineamento experimental da série para bloqueio farmacológico

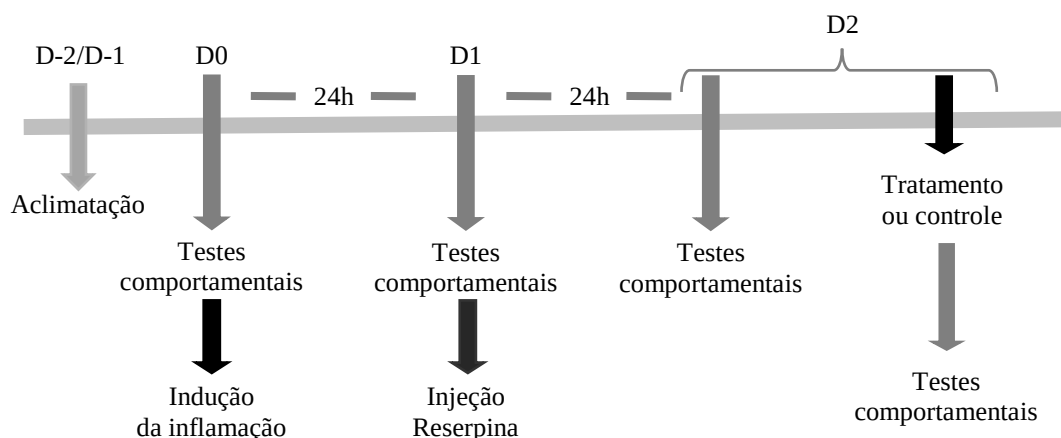


Figura 4. Delineamento experimental da série para bloqueio farmacológico em relação à categoria da depleção das aminas biogênicas.

4.7. Análise estatística

Inicialmente, foi realizado o teste de normalidade das amostras por meios do Shapiro-Wilk. Para dados não paramétricos (variáveis do monitor de atividade) foi utilizado o Kruskal-Wallis para medidas independentes no momento pós tratamento. Na série comportamental foi avaliado o tamanho de efeito da intervenção por meio do índice do d de Cohen, seguindo a categorização proposta pelo autor do teste (Cohen 1988) (Tabela 3). Foi utilizado o teste de análise de variância de duas vias (ANOVA two-way) para avaliar diferenças entre grupos e intragrupos, seguido pelo *post hoc test* de Tukey para comparações múltiplas utilizando o programa Prisma (GraphPad Prism 7.0 Software, Intuitive Software for Science, San Diego, CA). O valor de p menor que 0,05 foi considerado estatisticamente significativo. Utilizou-se o *Z score* para avaliar o quanto cada dado se afastava da média em termo de desvios padrão, sendo retirados da avaliação aqueles considerados como *outliers*. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

Tabela 3. Tamanho do efeito (d de Cohen)

Valores para interpretação do tamanho do efeito				
Insignificante	Pequeno	Médio	Grande	Muito grande
< 0,19	0,20 - 0,49	0,50 - 0,79	0,80 - 1,29	>1,30

5. RESULTADOS

5.1. Série experimental comportamental

Houve diminuição significativa do limiar mecânico de retirada da pata esquerda 24h após indução da inflamação em todos os grupos ($p < 0,002$). No grupo tratado com intensidade motora, houve aumento significativo do limiar sensitivo cutâneo comparando-se os momentos pré-tratamento e pós-tratamento ($p = 0,03$), não ocorrendo o mesmo nos grupos sensorial e controle. Em relação ao efeito do tratamento baseado no d de Cohen, a intensidade motora teve tamanho de efeito muito grande ($d = 1,42$) enquanto que a intensidade sensorial teve efeito grande ($d = 1,07$) mesmo não sendo estatisticamente significativa essa diferença (Figura 5).

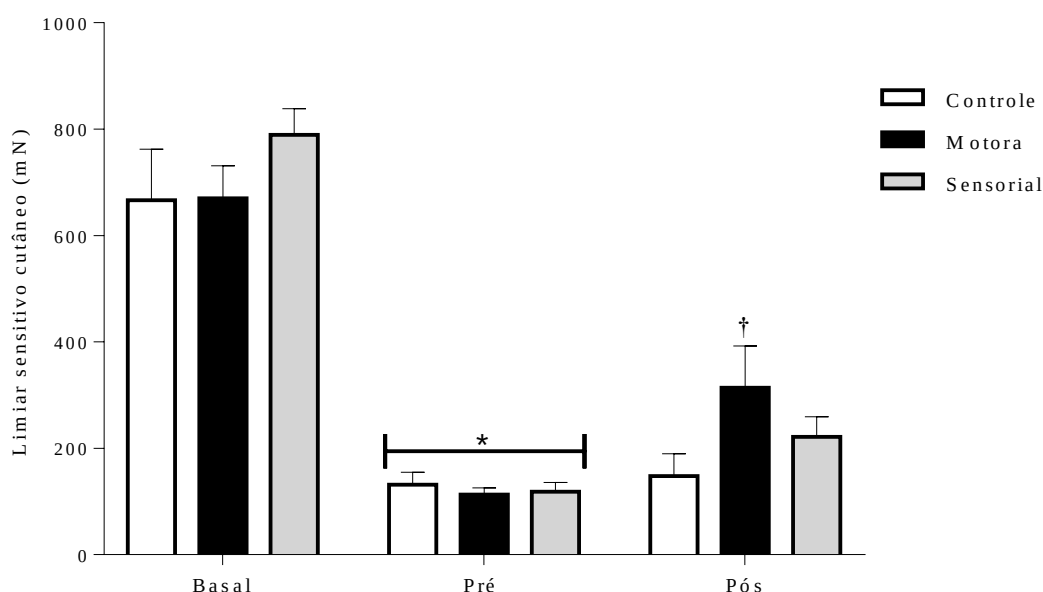


Figura 5. Limiar sensitivo cutâneo, em milinewtons, à estimulação com analgesímetro digital da pata esquerda de animais com artrite tratados com CI em intensidade sensorial, motora ou controle (placebo) nos momentos antes da injeção (Basal), 24 horas após a injeção (Pré) e imediatamente após (pós) ao tratamento. Dados apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. ANOVA de duas vias, com pós-teste de Tukey, * $p < 0,001$ em relação ao basal, † $p = 0,03$ em relação ao momento pré-tratamento. Tamanho de efeito d de Cohen = 1,42 (Grupo Motora) e $d = 1,07$ (Grupo Sensorial).

Em relação à latência térmica, houve diminuição do tempo de resposta em todos os grupos após a indução da inflamação ($p < 0,0002$), bem como aumento significativo da latência térmica após o tratamento com CI nos grupos sensorial e motor em comparação à fase

pré-tratamento ($p < 0,009$). Em relação ao efeito do tratamento baseado no d de Cohen, a intensidade motora teve tamanho de efeito muito grande ($d = 1,37$) enquanto que a intensidade sensorial teve efeito médio ($d = 0,63$) (Figura 6).

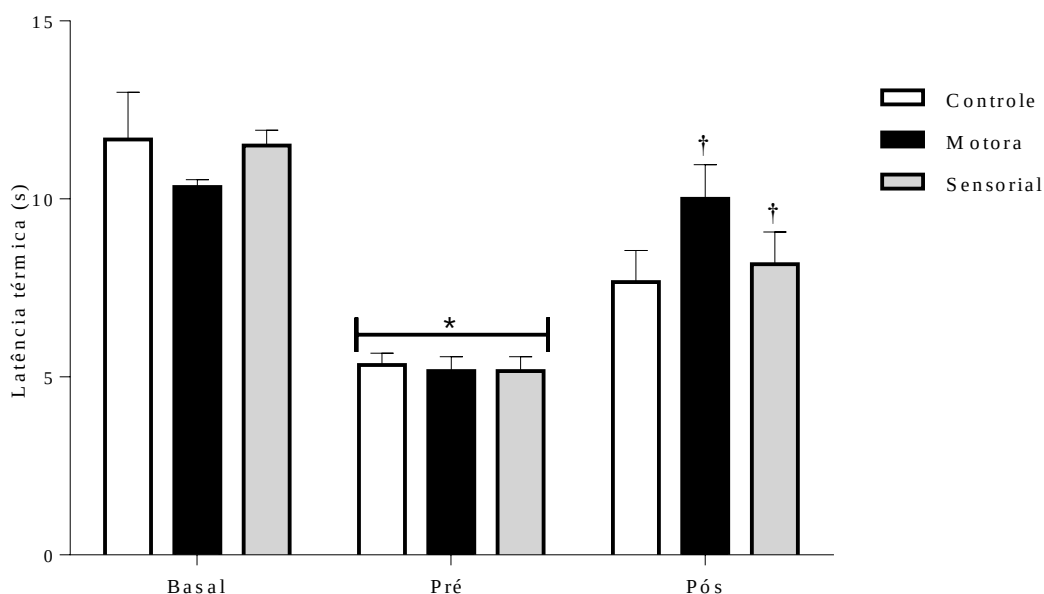


Figura 6. Latência térmica (em segundos) à estimulação com placa quente nas patas de animais com artrite tratados com CI Sensorial, Motora ou Controle nos momentos antes da injeção (Basal), antes (Pré) e imediatamente após (Pós) ao tratamento. Dados apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. ANOVA de duas vias, com pós-teste de Tukey; * $p < 0,0002$ em relação ao basal, † $p < 0,009$ em relação ao pré-tratamento. Tamanho de efeito d de Cohen = 1,37 (Grupo Motora) e $d = 0,63$ (Grupo Sensorial)

Na avaliação da atividade locomotora houve diminuição significativa na distância percorrida por todos os grupos após a indução da inflamação articular ($p < 0,02$). No grupo tratado com CI em intensidade motora houve redução significativa do deslocamento espontâneo dos animais ($p < 0,03$) (Figura 7).

Considerando o tempo que o animal permanecia em pé (rearing), variável que caracteriza atividade exploratória do animal durante a avaliação do monitor de atividades, não houve diferença significativas após a indução nem após o tratamento com CI (figura 8). Na variável relacionada ao tempo de descanso (freezing) houve aumento significativo em todos os grupos após o tratamento comparado ao momento basal em que todos os animais se mantiveram em movimento (Figura 9).

A intensidade da corrente foi ajustada a cada cinco minutos ao longo dos 20 minutos de tratamento e comparando a intensidade sensorial e motora ao longo do tempo não houve diferenças significativas entre os valores das duas formas de eletroestimulação (Figura 10).

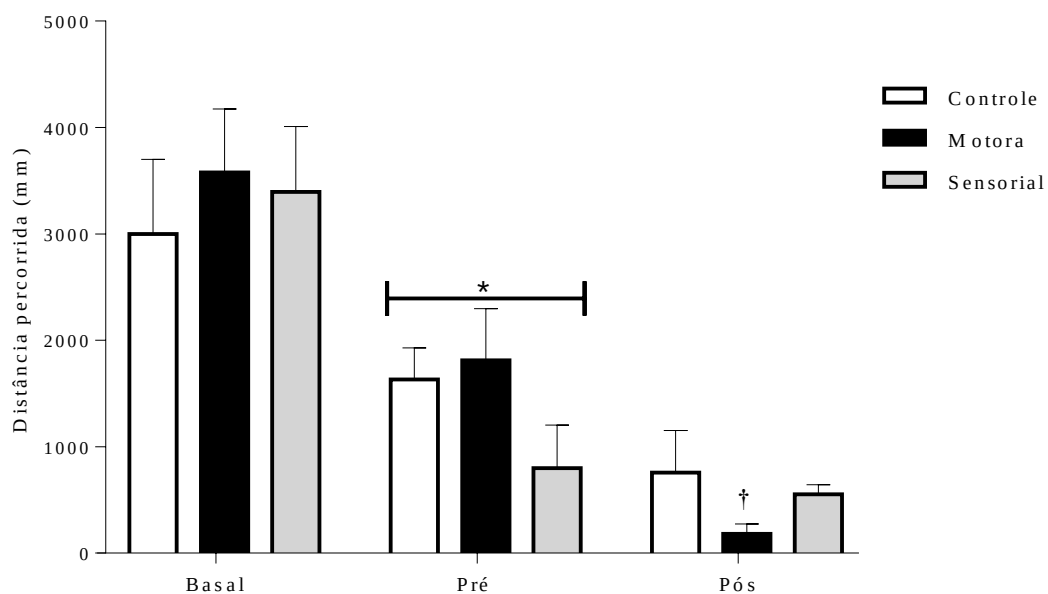


Figura 7. Distância percorrida (em milímetros) durante o teste de monitoração de atividade de animais com artrite tratados com CI Sensorial, Motora ou Controle (placebo), antes da injeção (Basal), 24 horas após a injeção, antes do tratamento (Pré) e após o tratamento (Pós). Dados apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. ANOVA de duas vias, com pós-teste de Tukey, Teste de Kruskal-Wallis para pós tratamento. * $p < 0,02$ em relação ao basal, † $p < 0,03$ em relação ao controle.

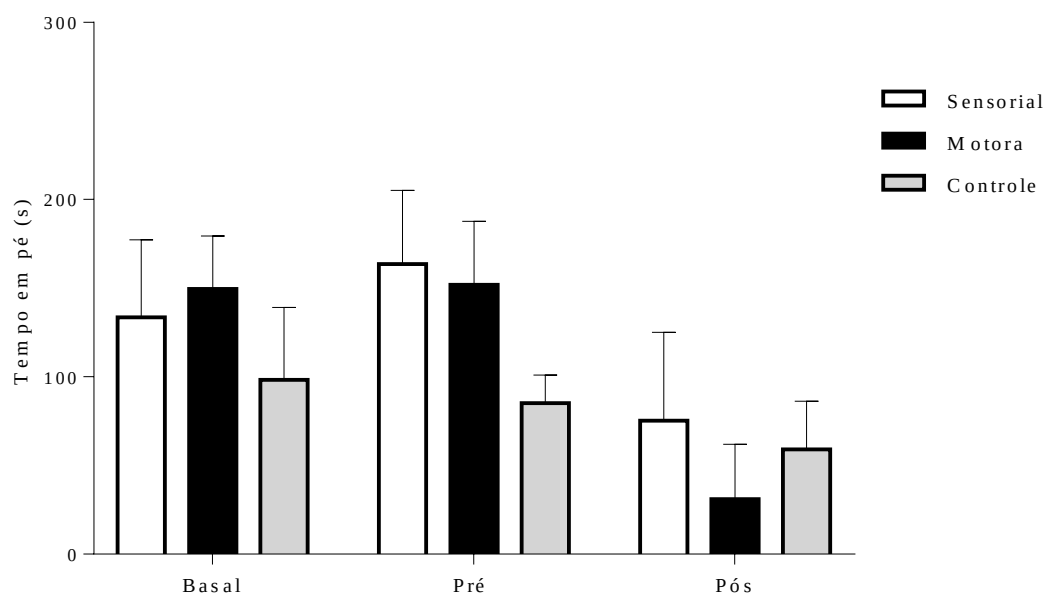


Figura 8. Tempo em pé (rearing, em segundos) durante a realização do teste de monitoração de atividade de animais com artrite tratados com CI Sensorial, Motora ou Controle (placebo), antes da injeção (Basal), 24 horas após a injeção, antes do tratamento (Pré) e imediatamente após o tratamento (Pós). Dados apresentados como média $\pm$ erro padrão da média, ANOVA de duas vias, com pós-teste de Tukey, Teste de Kruskal-Wallis para pós tratamento.

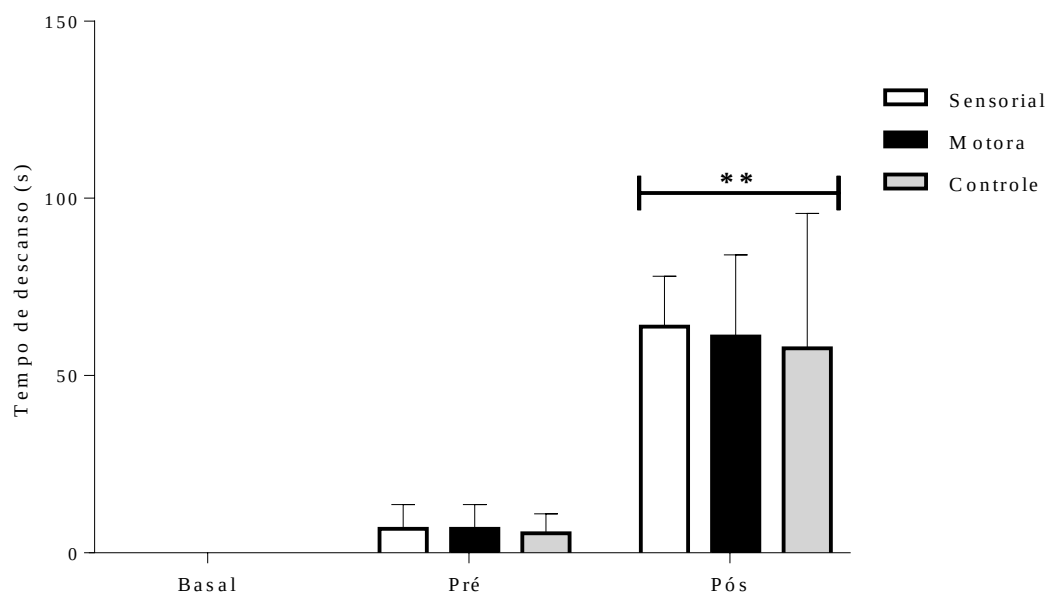


Figura 9. Tempo de descanso (freezing, em segundos) durante a realização do teste de monitoração de atividade de animais com artrite tratados com CI Sensorial, Motora ou Controle (placebo), antes da injeção (Basal), 24 horas após a injeção, antes do tratamento (Pré) e imediatamente após o tratamento (Pós). Dados apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. ANOVA de duas vias, com pós-teste de Tukey, Teste de Kruskal-Wallis para pós tratamento. ** $p < 0,04$ em relação ao basal.

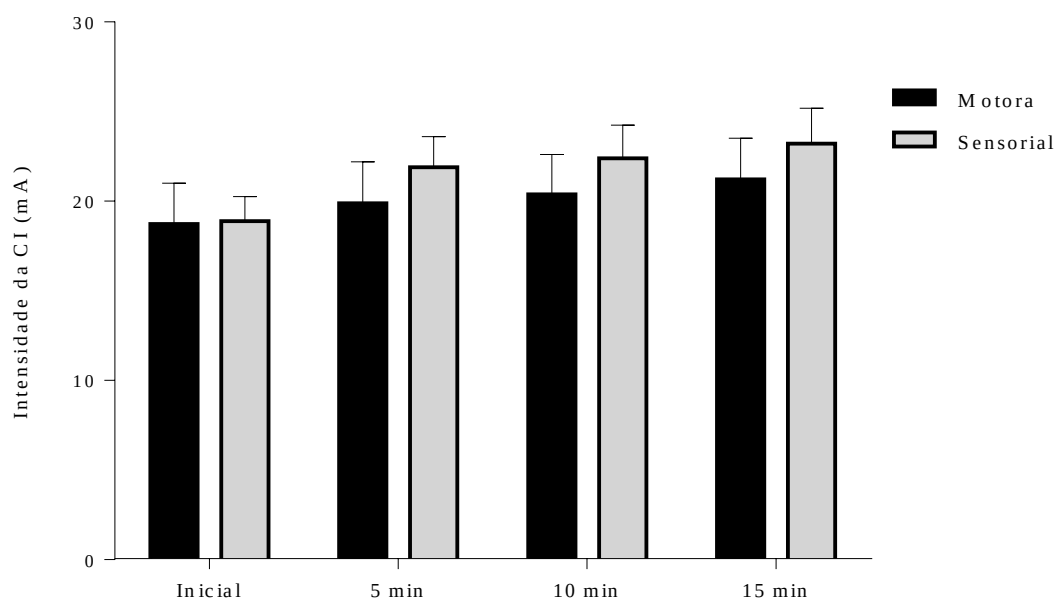


Figura 10. Intensidade da CI (em milíamperes) durante a realização da aplicação da corrente no modelo ajustado em animais com artrite tratados com Corrente Interferencial Sensorial e Motora, no início da aplicação (Inicial) em 5 min, 10 min e 15 min de tratamento. Dados apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. ANOVA de duas vias, com pós-teste de Tukey.

5.2. Série para bloqueio farmacológico

5.2.1. Depleção das aminas biogênicas

No experimento que avaliou o efeito da depleção das aminas biogênicas por meio da reserpina houve diminuição significativa do limiar sensitivo cutâneo em todos os grupos após indução da inflamação e esses valores se mantiveram 24h após a injeção intraperitoneal de reserpina ($p < 0,0001$). Após o tratamento com a CI houve aumento significativo do limiar mecânico de retirada da pata apenas no grupo tratado com CI + Salina em comparação ao momento pré-tratamento ($p = 0,01$) e foi estatisticamente significativa a diferença entre o grupo CI+Salina em comparação aos grupos controle e CI + Reserpina no momento pós-tratamento ($p = 0,01$) (Figura 11).

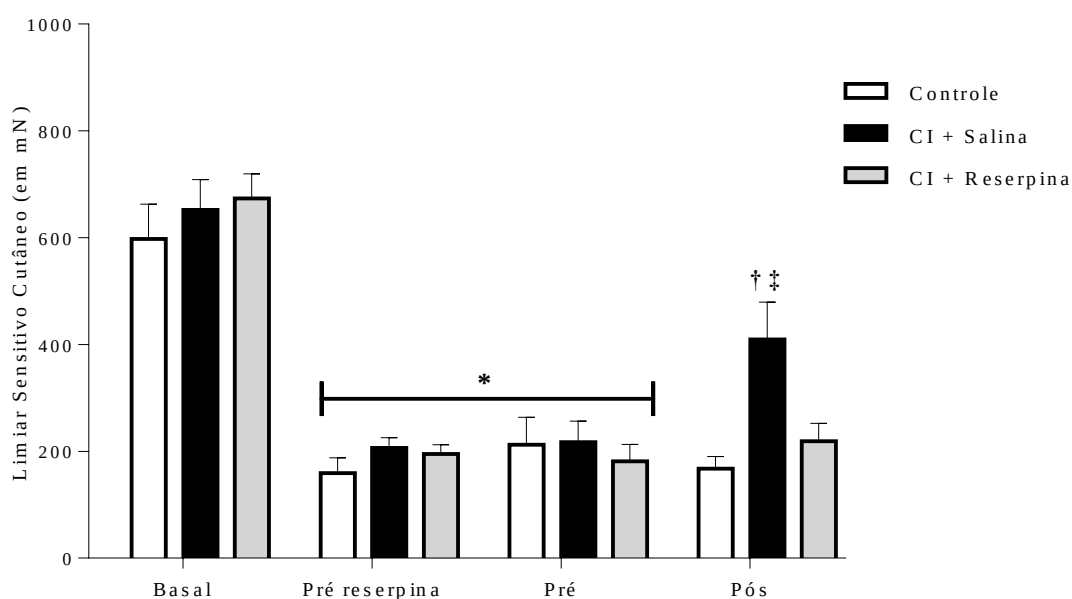


Figura 11. Limiar sensitivo cutâneo, em milinewtons, à estimulação com analgesímetro digital da pata esquerda de animais com artrite sendo os grupos controle, CI + salina e CI + Reserpina em intensidade motora nos momentos antes da injeção (Basal), 24 horas após a injeção e antes da injeção de reserpina (Pré reserpina), antes do tratamento (Pré) e imediatamente após o tratamento (pós). Dados apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. ANOVA de duas vias, com pós-teste de Tukey, * $p < 0,0001$ em relação ao basal; † $p < 0,01$ em relação ao pré-tratamento, ‡ $p < 0,01$ em relação ao momento pós tratamento dos grupos controle e CI +Reserpina.

A distância percorrida espontaneamente pelos animais no monitor de atividades foi significativamente menor após a indução da inflamação articular ($p = 0,001$). O grupo tratado com CI + Salina diminuiu seu desempenho, de maneira significativa comparado ao grupo

controle ($p = 0,002$) no momento após o tratamento (Figura 12).

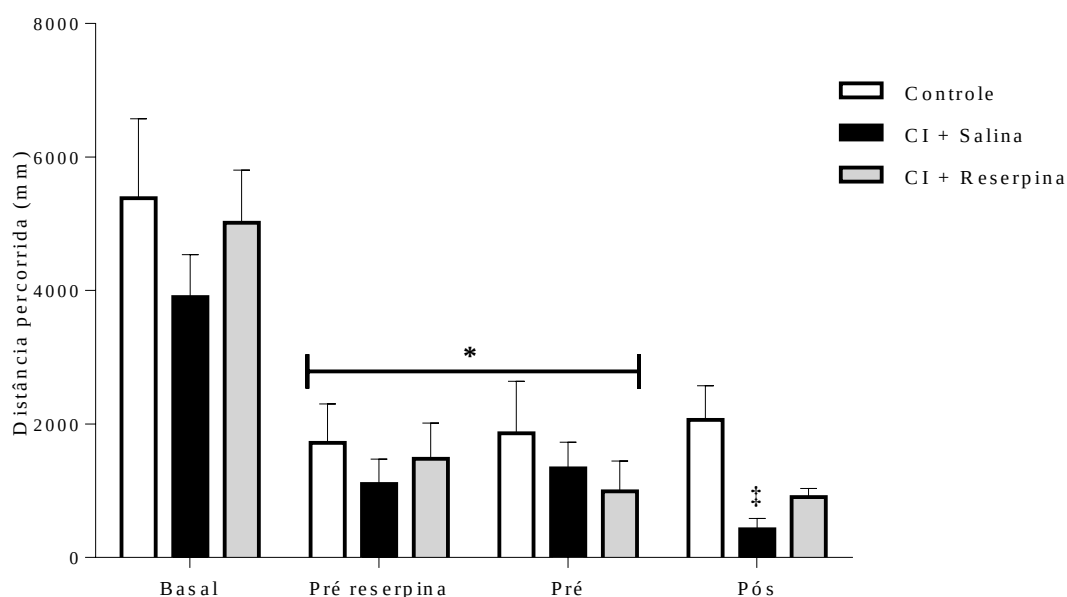


Figura 12. Distância percorrida (em milímetros) durante a realização do teste de monitoração de atividade de animais com artrite sendo os grupos controle, CI + salina e CI + Reserpina em intensidade motora nos momentos antes da injeção (Basal), 24 horas após a injeção e antes da injeção de reserpina (Pré reserpina), antes do tratamento (Pré) e imediatamente após o tratamento (Pós). Dados apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. ANOVA de duas vias, com pós-teste de Tukey, Teste de Kruskal-Wallis para pós tratamento. * $p < 0,001$ em relação ao basal. ‡ $p = 0,002$ em comparação ao grupo controle.

5.2.2. Bloqueio farmacológico das aminas biogênicas

Para investigação da participação das aminas biogênicas na antinocicepção promovida pela CI em intensidade motora foram avaliadas as vias adrenérgicas, colinérgicas e dopaminérgicas e avaliado seu comportamento sensitivo e motor. O limiar sensitivo cutâneo dos animais após a indução da inflamação articular foi significativamente reduzido em todos os grupos ($p = 0,0001$). No momento após o tratamento o grupo tratado com CI + Salina, CI + Prazosina e CI + Haloperidol tiveram aumento significativo do limiar mecânico de retirada da pata após a intervenção ($p = 0,0001$) comparando-se o antes e depois do tratamento. No momento pós tratamento houve diferença significativa dos grupos CI + Salina, CI + Prazosina, CI + Haloperidol e CI + Atropina em relação aos grupos controle e CI + Ioimbina ($p < 0,03$) (Figura 13).

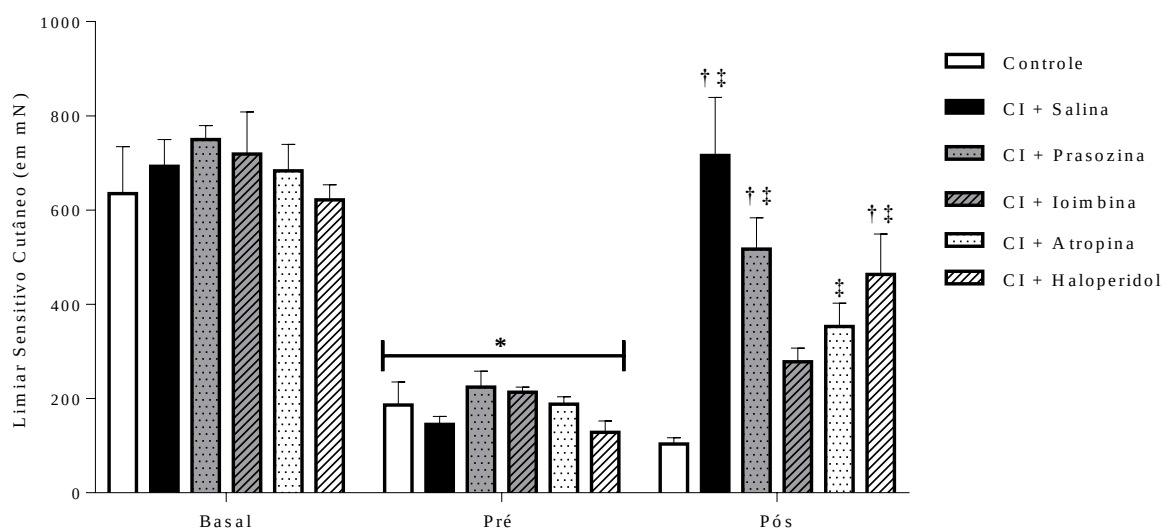


Figura 13. Limiar sensitivo cutâneo, em milinewtons, à estimulação com analgesímetro digital da pata esquerda de animais com artrite sendo os grupos controle, CI + salina e CI + Prazosina, CI + Ioimbina, CI + Atropina, CI + Haloperidol em intensidade motora nos momentos antes da injeção (Basal), 24 horas após a injeção (pré) e imediatamente após o tratamento (pós). Dados apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. ANOVA duas vias, com pós-teste de Tukey, * $p < 0,0001$ em relação ao basal; † $p < 0,0001$ em relação ao pré-tratamento, ‡ $p < 0,03$ em relação ao momento pós tratamento dos grupos controle e CI + Ioimbina.

No monitor de atividades, a distância percorrida pelos animais foi significativamente menor após a indução da inflamação articular ($p = 0,04$). Após o tratamento houve redução significativa do desempenho motor nos grupos CI + Salina, CI + Prazosina, CI + Atropina e CI + Haloperidol ($p < 0,01$) comparado aos grupos controle e CI + Ioimbina (Figura 14).

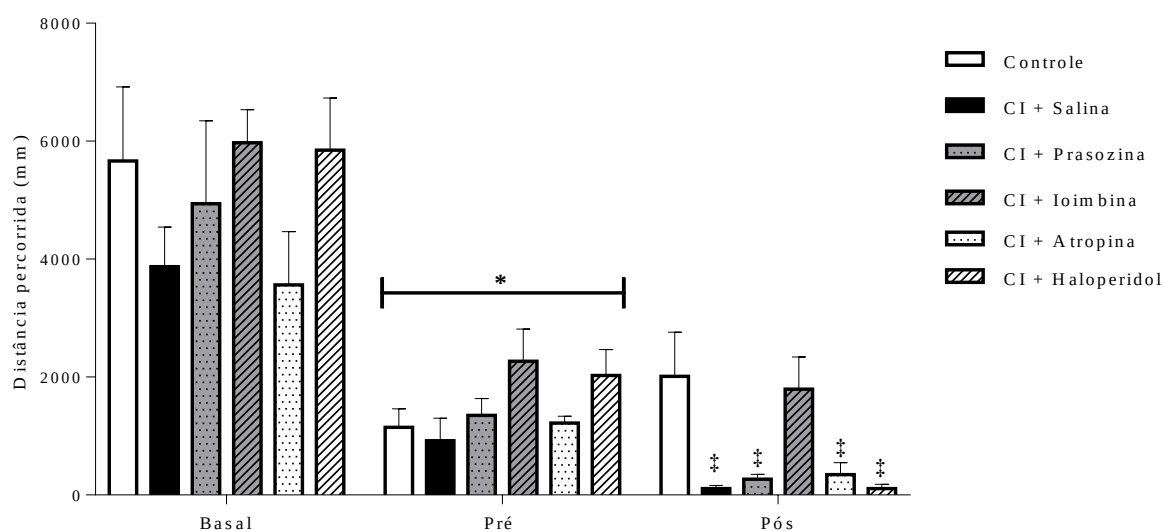


Figura 14. Distância percorrida (em milímetros) durante a realização do teste de monitoração de atividade de animais com artrite sendo os grupos controle, CI + salina e CI + Prazosina, CI + Ioimbina, CI + Atropina, CI + Haloperidol em intensidade motora nos momentos antes da injeção (Basal), 24 horas após a injeção (pré) e imediatamente após o tratamento (pós). Dados apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. ANOVA de duas vias, com pós-teste de Tukey, Teste de Kruskal-Wallis para pós tratamento. * $p < 0,04$ em relação ao basal; ‡ $p = 0,01$ em comparação com o grupo controle e CI + Ioimbina.

5.2.3. Participação da via do óxido nítrico

Para investigar a participação da via do óxido nítrico, inicialmente foi aplicado inibidor da enzima óxido nítrico sintase, os resultados dessa categoria da série para bloqueio farmacológico confirmam que a antinocicepção promovida pela CI é mediada pelos efeitos do óxido nítrico. Em relação ao limiar mecânico cutâneo houve redução significativa do limiar de retirada da pata após a indução da inflamação articular ($p = 0,001$), aumento significativo do limiar sensitivo do grupo tratado com CI + Salina tanto em comparação com o momento antes do tratamento ($p = 0,0001$) como comparado aos grupos controle e CI + L-NNA após o tratamento com eletroestimulação ($p = 0,0001$) (Figura 15).

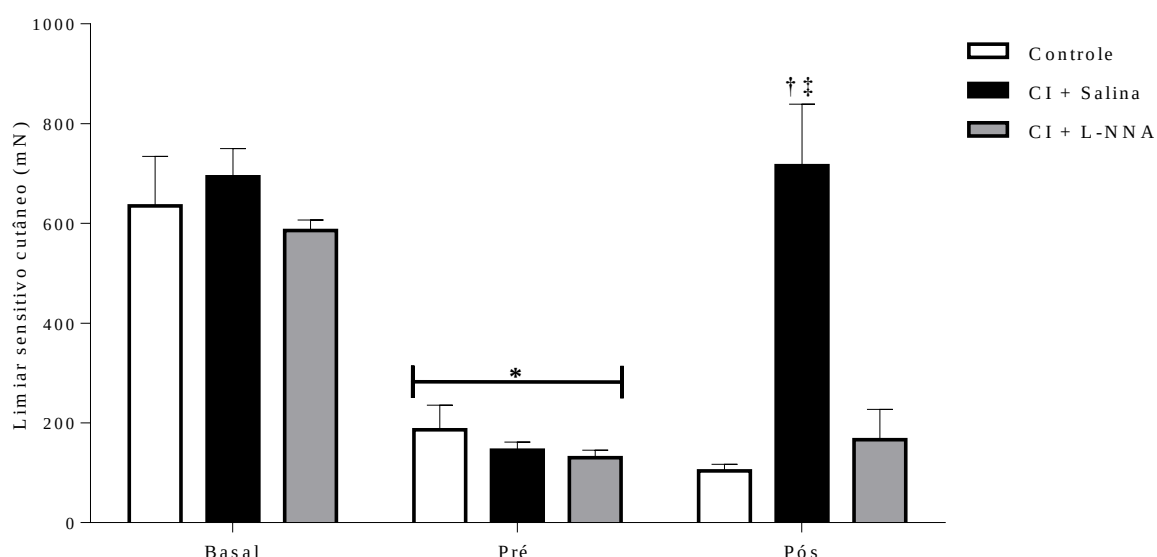


Figura 15. Limiar sensitivo cutâneo, em milinewtons, à estimulação com analgesímetro digital da pata esquerda de animais com artrite sendo os grupos controle, CI + salina e CI + L-NNA em intensidade motora nos momentos antes da injeção (Basal), 24 horas após a injeção (pré) e imediatamente após o tratamento (pós). Dados apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. ANOVA duas vias, com pós-teste de Tukey, * $p < 0,001$ em relação ao basal; † $p < 0,0001$ em relação ao pré-tratamento, ‡ $p < 0,03$ em relação ao momento pós tratamento dos grupos controle e CI + L-NNA.

O deslocamento espontâneo dos animais no monitor de atividades diminuiu significativamente após indução da inflamação do joelho em todos os grupos ($p < 0,005$). Após o tratamento, o grupo tratado com CI + Salina e CI + L-NNA tiveram redução significativamente no desempenho motor dos animais ($p = 0,01$) comparado ao grupo controle (Figura 16).

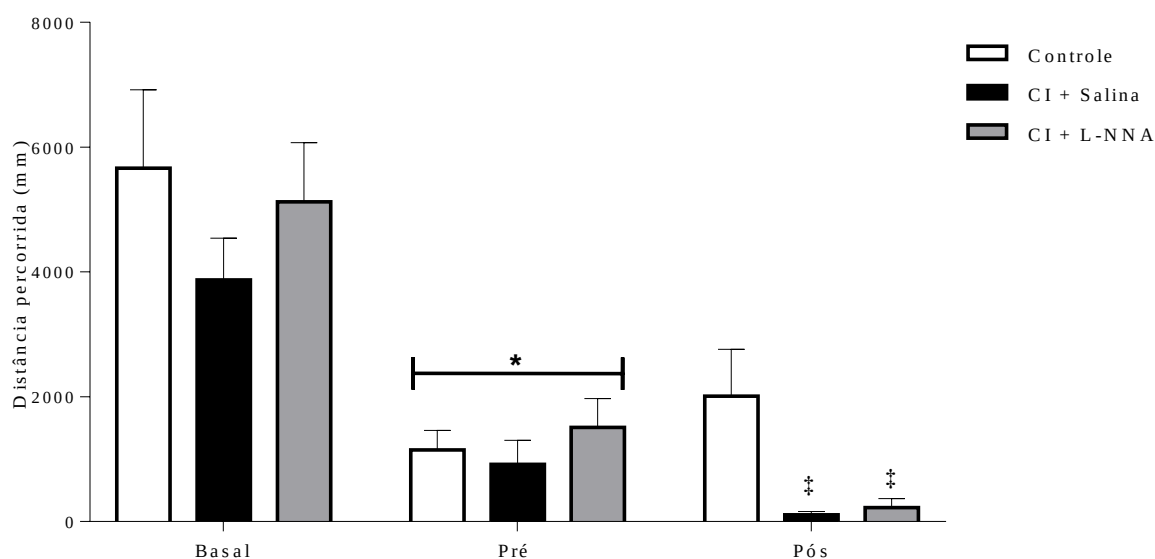


Figura 16. Distância percorrida (em milímetros) durante a realização do teste de monitoração de atividade de animais com artrite sendo os grupos controle, CI + salina e CI + L-NNA em intensidade motora nos momentos antes da injeção (Basal), 24 horas após a injeção (pré) e imediatamente após o tratamento (pós). Dados apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. ANOVA de duas vias, com pós-teste de Tukey, Teste de Kruskal-Wallis para pós tratamento. * $p < 0,005$ em relação ao basal, ‡ $p < 0,01$ comparado ao grupo controle.

Em relação a via do óxido nítrico foram estudados elementos intracelulares relacionados a esse sistema, a GCs que é um tipo de receptor do óxido nítrico e os canais de K^+ /ATP que são ativados nessa via promovendo hiperpolarização da membrana celular. Para investigar a influência dessa via no tratamento com CI em intensidade motora foram avaliados testes comportamentais sensoriais e motores.

O limiar sensitivo cutâneo dos animais após a indução do modelo de osteoartrite teve redução significativa após a indução da inflamação articular em todos os grupos ($p < 0,001$), após o tratamento apenas o grupo tratado com CI com o veículo DMSO promoveu redução do limiar mecânico de retirada da pata comparando-se o antes e depois ($p = 0,0001$) assim como em comparação com os demais grupos depois da intervenção ($p < 0,03$). Diante desse resultado evidencia-se que o bloqueio da guanilato ciclase solúvel bem como dos canais de K^+ /ATP impediram o efeito antinociceptivo da CI, participando do seu mecanismo de ação (Figura 18).

Não houve diferença estatisticamente significativa da mparando a avaliação basal com o momento antes do tratamento, nenhum grupo apresentou aumento significativo após o tratamento com CI em intensidade motora diante das comparações intergrupo nem intragrupo (Figura 17).

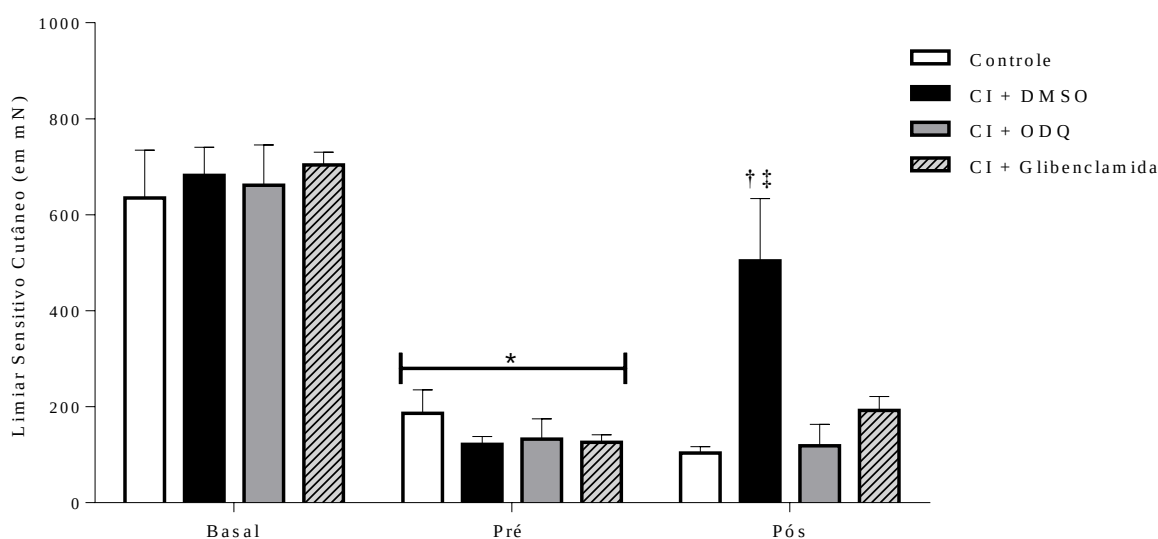


Figura 17. Limiar sensitivo cutâneo, em milinewtons, à estimulação com analgesímetro digital da pata esquerda de animais com artrite sendo os grupos controle, CI + DMSO, CI + ODQ e CI + Glibenclamida em intensidade motora nos momentos antes da injeção (Basal), 24 horas após a injeção (Pré) e imediatamente após o tratamento (Pós). Dados apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. ANOVA duas vias, com pós-teste de Tukey, $*p < 0,001$ em relação ao basal; $\dagger p < 0,0001$ em relação ao pré-tratamento, $\ddagger p < 0,03$ em relação ao momento pós tratamento dos grupos controle, CI + ODQ e CI + Glibenclamida.

Em relação à distância percorrida, houve diminuição do desempenho motor dos animais após a indução de inflamação articular em todos os grupos ($p = 0,005$) e redução significativa do desempenho motor dos animais após o tratamento nos grupos CI + DMSO, CI + ODQ e CI + Glibenclamida ($p < 0,03$) comparado ao grupo controle no momento pós tratamento (Figura 18).

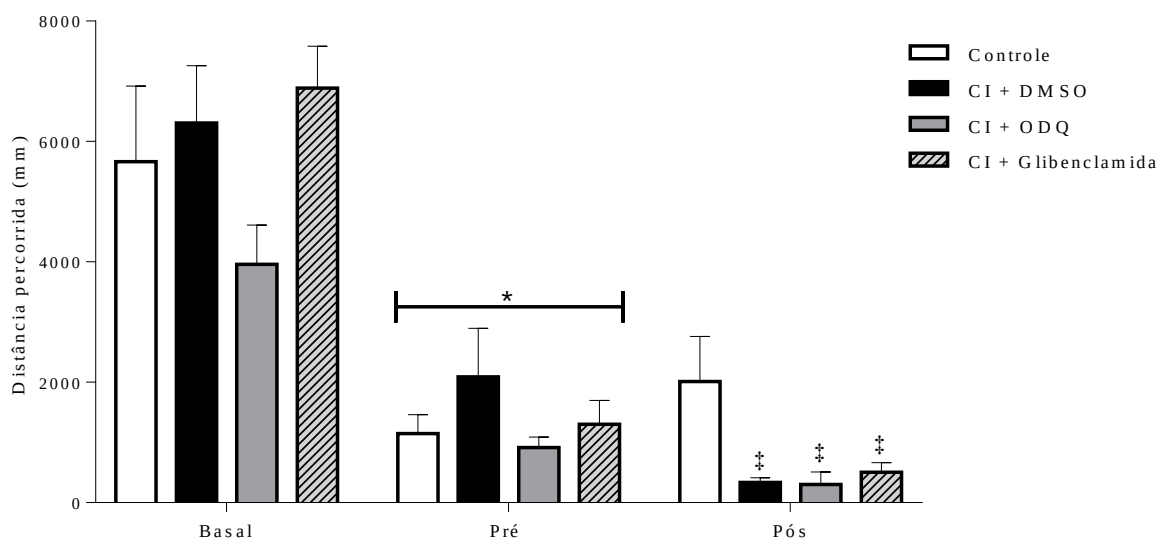


Figura 18. Distância percorrida (em milímetros) durante a realização do teste de monitoração de atividade de animais com artrite sendo os grupos controle, CI + DMSO, CI + ODQ e CI + Glibenclamida em intensidade motora nos momentos antes da injeção (Basal), 24 horas após a injeção (Pré) e após o tratamento (Pós). Dados apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. ANOVA de duas vias, com pós-teste de Tukey, Teste de Kruskal-Wallis para pós tratamento. $*p < 0,005$ em relação ao basal, $\dagger p < 0,005$ em relação ao controle, $\ddagger p < 0,03$ em relação ao controle.

6. DISCUSSÃO

6.1. Efeito comportamental da CI

Os resultados do presente estudo evidenciaram que a intensidade motora apresentou melhor efeito do que a intensidade sensorial para redução da hiperalgesia mecânica e que as aminas biogênicas e a via do óxido nítrico participam do mecanismo antinociceptivo da CI no modelo pré-clínico de osteoartrite. Dentre os receptores envolvidos na redução da hiperalgesia estão os α_2 -adrenérgicos, muscarínicos além da guanilato ciclase solúvel e dos canais de K^+ /ATP relacionados com a via do NO. Em contrapartida, foi identificado que houve redução do desempenho motor dos animais tratados com CI em intensidade motora.

O presente estudo corrobora os dados de que a CI tem características anti-hiperalgésica em modelo experimental de dor inflamatória assim como foi encontrado no experimento realizado por Jorge et al. (2006), em que houve efeito antinociceptivo da CI em modelo de dor inflamatória, porém, os parâmetros do tratamento e os modelos experimentais de dor foram diferentes. Jorge et al. (2006) avaliaram o efeito da CI (FAM = 140 Hz, duração de pulso = 125 milissegundos, intensidade = 5mA, sensorial e 1h de aplicação) em modelo animal de dor inflamatória. Para indução do modelo, foi realizada uma aplicação subcutânea de formalina, na pata traseira, para resultar em comportamento nociceptivo e um modelo de carragenina, no mesmo local, para induzir a hiperalgesia mecânica e o edema. Eles concluíram que os parâmetros utilizados foram efetivos na redução da hiperalgesia mecânica primária. Diferentemente, nosso estudo utilizou apenas 20min de aplicação com FAM de 100Hz, ocasionando redução da hiperalgesia mecânica secundária apenas no grupo que recebeu aplicação em intensidade motora. As diferenças nos resultados podem ser explicadas pelo tipo de variável analisada, pelo tempo de aplicação e pela diferença no tipo do modelo de dor inflamatória.

Foi identificado apenas um ensaio clínico em que foi realizada a intensidade sensorial e motora no tratamento com CI, a intensidade motora da corrente foi mais efetiva do que a sensorial em paciente com fibromialgia tratadas com FAM de 100 Hz, durante 30 minutos por sessão ao longo de 10 sessões (Araújo, 2015), resultado este que é similar ao do presente estudo.

Apesar de pouco investigada na CI, é possível encontrar publicações que avaliam o

efeito de diferentes parâmetros na intensidade de aplicação da TENS. Golpakrishan e Sluka (2000) compararam o efeito de diferentes parâmetros da TENS na hiperalgesia primária de ratos com patas inflamadas por meio de injeção subcutânea de carragenina na superfície plantar. Para isso, foram utilizados nove grupos de animais alterando-se frequência (4 Hz ou 100 Hz), intensidade de corrente (sensorial ou motora) e duração de pulso (100 ou 250 microssegundos). Eles concluíram que a TENS, quando aplicada em frequência mais alta (100 Hz), foi eficaz para reduzir tanto hiperalgesia primária mecânica quanto térmica, independentemente da intensidade e da duração do pulso. O presente estudo utilizou frequência resultante de 100 Hz e dois tipos de intensidade (sensorial e motora), mostrando que ambas intensidades foram eficazes na redução da hiperalgesia térmica, contudo, apenas o grupo que recebeu aplicação em intensidade motora apresentou redução da hiperalgesia mecânica secundária. Portanto, pode-se concluir que os estudos diferem entre si em seus achados, já que em nossos resultados a intensidade influenciou na ação anti-hiperalgésica da CI. Estudos utilizando-se a TENS confirmam a eficácia da intensidade sensorial na redução da hiperalgesia térmica e mecânica (Sluka et al., 1998; Radhakrishnan et al., 2003a; Hingne e Sluka, 2008; Desantana et al., 2009). Como a intensidade sensorial no presente estudo não reduziu a hiperalgesia mecânica, supõe-se que os mecanismos de ação pelos quais atua sejam diferentes dos utilizados pela TENS e possa ser decorrente também pelo alto grau de inflamação do modelo de carragenina avaliado após única aplicação em 24 h após a inflamação.

Outros estudos observaram o contrário, que a TENS quando aplicada em alta intensidade, apresenta redução do limiar de dor mais pronunciada quando comparada a intensidade sensorial, tanto em sujeitos saudáveis (Chesterton et al., 2002; Bjordal et al., 2003; Chesterton et al., 2003; Rakel et al., 2010; Moran et al., 2011; Pantaleão et al., 2011) como em modelo experimental de dor inflamatória (Sato et al., 2012; Lima et al., 2015). Alguns estudos explicam que esse efeito está relacionado com a ativação de maior número de fibras aferentes primárias e, com isso, maior liberação de opioides endógenos (Janko e Trontelj, 1980; Pantaleão et al., 2011; Sato et al., 2012;). Esse mecanismo pode ser uma possível explicação para o melhor efeito anti-hiperalgésico da CI aplicada em intensidade motora, porém mais estudos sobre os mecanismos de ação da CI precisam ser realizados para que esta hipótese seja confirmada.

Ensaios clínicos em que a amostra é portadora de OA do joelho tratados com CI apresentam diferenças nos parâmetros aplicados, principalmente no que se refere a intensidade (Adedoyin et al., 2002; Defrin et al., 2005; Atamaz et al., 2012; Gundog et al.,

2012). Nosso estudo encontrou uma superioridade da CI aplicada em intensidade motora quando comparada a intensidade sensorial, corroborando, Defrin et al. (2005), que objetivaram comparar dois tipos de intensidade, alta e baixa, utilizando a CI. Primeiramente, mediram o limiar elétrico para dor no joelho e, a partir desse valor a corrente foi administrada a 30% acima do limiar (alta intensidade) ou 30% abaixo (baixa intensidade). Os resultados mostraram que, no que se refere ao efeito da intensidade, o grupo tratado com intensidade acima do limiar de dor foi superior ao tratado abaixo do limiar. Embora não tenha sido o parâmetro do ensaio clínico a intensidade que provoque contração muscular, são resultados similares aos dados do presente estudo que a maior intensidade promove maior antinocicepção.

No que tange à atividade locomotora, o desempenho motor após o tratamento, nos grupos intensidade motora, foi menor quando comparado ao pré-tratamento. O grupo intensidade sensorial não apresentou redução significativa após o tratamento com a corrente interferencial, esses dados sugerem que os parâmetros utilizados no presente estudo influenciaram no desempenho motor dos animais. Suh et al. (2014) utilizaram 42 indivíduos portadores de AVC com espasticidade em flexão plantar, alocando-os em 2 grupos: CI e CI controle. Os indivíduos alocados no grupo CI foram submetidos a 60 minutos de tratamento com a corrente (frequência de amplitude modulada de 100Hz; ciclo de trabalho de 50Hz; intensidade sensorial; eletrodos aplicados no gastrocnêmio) para redução da espasticidade. Seus resultados mostraram maior redução da espasticidade do gastrocnêmio no grupo CI quando comparado ao grupo controle, sugerindo um efeito central da corrente influenciando no tônus muscular e reduzindo a espasticidade. Estudos utilizando a eletroestimulação neuromuscular demonstraram que dependendo dos parâmetros aplicados esse tipo de estimulação pode provocar fadiga muscular (Bizid et al., 2007; Gorgey et al., 2009; Doucet, 2007).

Ao usar a estimulação elétrica promovendo uma resposta de contração muscular usando frequências mais altas do que fisiológicas (50 Hz), é possível produzir um bloqueio da atividade muscular devido à falha de propagação ou depleção de neurotransmissores, denominada “fadiga de alta frequência” que difere da fadiga fisiológica por ter rápida recuperação depois de cessado o estímulo elétrico (Ward 2009). Tendo em vista o que foi exposto, é possível compreender a influência da eletroestimulação na musculatura e compreender que mesmo não sendo significativa a diferença entre os valores da intensidade da corrente em nível sensorial e motor, estimular a contração muscular já promove efeito diferente pela ativação de mais estruturas e mecanismos intracelulares. Para maior

entendimento do efeito da corrente interferencial no sistema muscular e, conseqüentemente, no desempenho motor são necessários estudos que identifiquem as cascatas intracelulares, efeito biológico nos tecidos para dessa forma auxiliar no direcionamento das aplicabilidades do tratamento e evitar efeitos indesejados.

6.2. Mecanismos de ação da CI

Visando investigar os mecanismos de ação da CI por meio dos bloqueios farmacológicos, verificamos a participação das aminas biogênicas no efeito antinociceptivo de animais com OA. A administração de reserpina é um inibidor da captação dos neurotransmissores nas vesículas o que promove a depleção das aminas biogênicas de forma não seletiva (Amoateng et al. 2018), uma única dose da reserpina não promoveu diferença significativa nas avaliações sensoriais nem motoras ao depletarem os estoques das aminas, dado importante visto que é um fármaco utilizado para indução de modelo experimental de fibromialgia (Nagakura et al. 2009) e Parkinson (Betarbet, Sherer, e Greenamyre 2002) mas em doses e número de aplicações diferentes. Em comparação com os momentos antes e depois do tratamento, o grupo tratado com reserpina não promoveu antinocicepção enquanto que os animais do grupo CI + salina tiveram redução do limiar mecânico de retirada da pata, evidenciando que o mecanismo antinociceptivo da CI foi impedido com a depleção das aminas biogênicas. Essa ferramenta farmacológica é utilizada em diversos estudos com o objetivo de verificar o mecanismo de ação de um novo tratamento como as piridazinogás (Giovannoni et al. 2003), extrato de *Synedrella nodiflora* (Amoateng et al. 2018) assim como foi realizado no presente estudo a fim de delimitar as vias a serem analisadas nas sequências do planejamento experimental.

Em seguida foram avaliadas diferentes vias relacionadas com as aminas biogênicas, visto que foi identificado que elas participam do mecanismo de ação da CI, mas não revela a via específica de atuação. Ao analisar os resultados do estudo atual, o grupo CI + Ioimbina e CI + Atropina não apresentaram diferença significativa comparando o antes e depois da intervenção após o bloqueio sistêmico de cada uma das vias. Em contrapartida os grupos CI + Salina, CI + Prazosina e CI + Haloperidol promoveram aumento significativo do limiar mecânico após o tratamento com CI, esses achados comprovam a participação dos receptores α_2 -adrenérgicos e muscarínicos na ação anti-hiperalgésica da CI, já que, após o bloqueio

desses receptores através da administração do fármaco, o tratamento com CI não apresentou efeito anti-hiperalgésico. Os receptores alfa1-adrenérgicos e dopaminérgicos não evidenciaram participação dos mecanismos analgésicos da CI já que a aplicação do fármaco antagonista, não interferiu no efeito analgésico promovido pela corrente no modelo experimental de dor inflamatória articular.

Estudos utilizando-se a TENS evidenciaram que receptores α_2 -adrenérgicos a nível periférico, e não a nível central, participam do mecanismo da TENS para promover analgesia (Radhakrishnan e Sluka 2003; King et al. 2005). Radhakrishnan e Sluka (2003) avaliaram o papel dos receptores alfa2-adrenérgicos na analgesia promovida pela TENS em um modelo de dor inflamatória igual ao utilizado no presente estudo, eles realizaram a aplicação intratecal de antagonista dos receptores alfa2-adrenérgicos, ioimbina (30 μ g) e, após 15min, aplicaram a TENS (100 Hz ou 4 Hz, intensidade sensorial e 100 μ s) durante 20min, concluindo que a ação analgésica da TENS não está relacionada com a ativação dos receptores alfa2-drenérgicos espinais. King et al. (2005) averiguaram a participação dos receptores alfa-2drenérgicos periféricos, espinais e supra-espinais no efeito analgésico da TENS no modelo de dor inflamatória, através da aplicação do antagonista SK&F 86466 (3 nmol/5 mL). Seus resultados evidenciam a participação de tais receptores apenas em nível periférico. Dessa forma, podemos afirmar que, assim como a TENS, a CI ativa receptores alfa2-adrenérgicos, no entanto, mais estudos são necessários para determinar se há ativação central ou periférica, especificamente.

Outro achado importante do presente estudo foi a redução do efeito anti-hiperalgésico da CI após aplicação do antagonista muscarínico não seletivo, atropina. O papel dos receptores colinérgicos na antinocicepção é bem definido na literatura (Zhuo and Gebhart, 1991; Fang and Proudfit, 1996; Eisenach, 1999; Pinardi et al., 2003), assim como sua interação com os receptores inibitórios 5-HT, adrenérgicos ou opioidérgicos (Chiang and Zhuo, 1989; Gordh et al., 1989; Li et al., 1994; Chen and Pan, 2001; Honda et al., 2002; Obata et al., 2002).

O estudo atual aplicou uma injeção intraperitoneal com 1 mg/kg de atropina, antagonista muscarínico não seletivo. Em nossos resultados, verificamos que a dose do antagonista aplicada inibiu o efeito hipoalgésico da CI, sugerindo a interação dos receptores muscarínicos com os mecanismos antinociceptivos desta corrente. Paralelamente a esse resultado, Radhakrishnan e Sluka (2003b) constataram que a aplicação intratecal de 30 μ g de atropina inibiu o aumento da hiperalgesia térmica produzido tanto pela TENS de baixa como de alta frequência, e Seo et al. (2016) comprovaram que a eletroacupuntura com frequência de

2Hz também tem atividade antinociceptiva mediada pela ativação de receptores muscarínicos em modelo de osteoartrite induzida por colagenase. Além disso, foi identificado o envolvimento dos receptores muscarínicos M_1 e M_3 na anti-hiperalgesia promovida pela TENS (Radhakrishnan e Sluka, 2003b). Portanto, haja vista os resultados dos estudos, é sabido que os receptores muscarínicos possuem um papel importante na analgesia promovida por diferentes tratamentos eletroterapêuticos. Estudos futuros não necessários para determinar quais tipos de receptores muscarínicos estão envolvidos na ação anti-hiperalgésica promovida pela CI e se há ativação periférica e/ou central no mecanismo antinociceptivo assim como outros potenciais terapêuticos decorrente da estimulação dessa classe de receptores.

Para investigar a participação do óxido nítrico na antinocicepção promovida pela CI foi feito o bloqueio da enzima NOS por meio do L-NNA que aplicado sistemicamente atravessa a barreira hematoencefálica, ativando as três isoformas da NOS central e periféricamente, age de forma semelhante ao L-NAME só que com maior velocidade visto que o SNC precisa desesterificar L-NAME em L-NA para inibir a nNOS (Salter et al. 1995). A nNOS desempenha papel importante na plasticidade (Schuman e Madison 1994; Hardingham, Dachtler, e Fox 2013; Blackshaw et al. 2003) e no processamento da dor (Meller e Gebhart 1993; Iwamoto e Marion 1994; Schmidtko, Tegeder, e Geisslinger 2009; Barbosa et al. 2012).

Nossos resultados confirmam que a inibição da NOS por meio do L-NNA reverteu a antinocicepção promovida pela CI em intensidade motora quando comparado com o grupo CI + salina, assim como o papel do NO em estudos que avaliaram o efeito de fármacos em modelos experimentais de dor neuropática como a avaliação do mecanismo do tramadol (Okuducu e Onal 2005), da dipirona (Reis e Rocha 2006) e no modelo de dor inflamatória induzida por carragenina (Omote et al. 2001). Embora esse método confirme a participação do NO na redução da hiperalgesia não podemos distinguir qual o tipo de enzima é responsável pelo seu mecanismo nem se ele age periféricamente ou no sistema nervoso central.

Já foi estabelecido na literatura que a via NO/GMPc dependendo do local de administração, dose ou tipo de dor pode promover antinocicepção ou hipernocicepção (Hamza et al. 2010; Tegeder et al. 2002; Schmidtko, Tegeder, e Geisslinger 2009). Os resultados do estudo indicam que o antagonista mais o efeito da corrente não promoveu diferença significativa em nenhuma das variáveis analisadas, sendo considerado igual ao grupo controle, confirmando que o tratamento não foi efetivo após o bloqueio farmacológico, além de não ser suficiente para produzir aumento da hipernocicepção no modelo pré-clínico estudado.

Para prosseguir a investigação foi realizado o bloqueio da GCs e dos canais de K^+ /ATP durante o tratamento com a CI e foi comprovado que diante desses antagonistas a CI não promoveu antinocicepção, concluindo com isso que o efeito da terapia interferencial está à GCs e aos canais de K^+ /ATP.

Na literatura foi identificado que o efeito periférico de diferentes fármacos como morfina, dipirona e diclofenaco agem bloqueando as protanglandinas associado pelo mecanismo de ação a via NO/GMPc (Duarte et al. 1992; Granados-Soto et al. 1995; Lorenzetti e Ferreira 1996). O NO é considerado um transmissor retrógrado do neurônio pré-sináptico onde estimula a GCs resultando na formação do segundo mensageiro GMPc (Meller e Gebhart 1993). Sua ativação direta atua restaurando o limiar normal dos nociceptores por meio do aumento da permeabilidade ao K^+ , a maior condutância dos canais de potássio é decorrente do aumento da concentração do GMPc (Sachs, Cunha, e Ferreira 2004). Baseado no resultado do presente estudo concluímos que a CI atua ativando a enzima GC, aumenta a concentração de GMPc intracelular que promove a abertura dos canais de K^+ /ATP, essa cascata resulta em antinocicepção. É importante salientar que os efeitos antinociceptivo da via do NO tem sido documentados na literatura como sendo efetivo em tecidos mais profundos e age de forma contraditória em tecidos dérmicos e cutâneos (Vivancos, Parada, e Ferreira 2003) corroborando com os resultados encontrados.

Em relação ao desempenho motor, foi observado que em todos os experimentos os grupos tratados com CI + veículo e CI + antagonistas diminuem a distância percorrida em comparação com o grupo controle. O único resultado divergente foi no grupo CI + Ioimbina que não teve redução dessa variável não havendo diferença em relação ao grupo controle, esses dados sugerem que a redução da distância percorrida dos animais está relacionada aos os receptores alfa-2 adrenérgicos. Esse resultado pode ter ocorrido decorrente de um relaxamento muscular, que ao contrário de outras classe de medicamentos analgésicos, os relaxantes musculares podem reduzir a dor e promover relaxamento muscular por diferentes mecanismos de ação, sendo um deles a ativação de receptores alfa2-adrenérgicos (Cohen e Warfield 2015). Os fármacos agonistas dos receptores alfa-2 adrenérgicos tem sido investigado por promover redução da espasticidade (Krach 2001; Calderón-González e Calderón-Sepúlveda 2002), da rigidez ou espasmo muscular (Weinger, Segal, e Maze 1989; Cohen e Warfield 2015) assim como na contração do músculo liso da bexiga (Kunisawa et al. 1985). Como uma limitação do presente estudo, não foi possível identificar se há relaxamento muscular, mas esses dados podem subsidiar estudos que objetivem a avaliação muscular decorrente do tratamento com CI.

Não foi identificado na literatura estudos pré-clínicos nem ensaios clínicos avaliando o efeito das vias adrenérgicas, muscarínicas e do óxido nítrico no tratamento da CI para redução da dor. Apesar do pouco interesse científico em investigar efeito biológico da CI, a confirmação da ativação de diferentes mecanismos de ação tem como objetivo promover novas indicações ou contraindicações para o seu uso assim como fundamentar o uso nas suas diferentes aplicações. Como perspectivas para esse estudo visamos a avaliação comparativa dos agonistas das vias que foram ativadas pela CI assim como investigação do seu efeito no sistema nervoso central.

7. CONCLUSÃO

O tratamento com corrente interferencial em modelo de dor inflamatória articular apresentou maior efeito em intensidade motora quando comparada com a intensidade sensorial na diminuição da hiperalgesia mecânica, porém os animais tratados com essa intensidade apresentaram menor desempenho motor. Outro importante achado do presente trabalho foi a participação dos receptores alfa 2-adrenérgicos, muscarínicos e a via do NO/GMPc/K⁺ no mecanismo de ação da CI para promover antinocicepção.

8. REFERÊNCIAS

Acedo, AA, ACL Antunes, AB Dos Santos, CB De Oliveira, CT Dos Santos, GLT Colonezi, FAM Fontana, e T Yukio Fukuda. 2015. “Upper trapezius relaxation induced by tens and interferential current in computer users with chronic nonspecific neck discomfort: An electromyographic analysis.” *Journal of back and musculoskeletal rehabilitation* 28 (1): 19–24.

Adedoyin, R. A., M. O. Olaogun, e A. L. Oyeyemi. 2005. “Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation and Interferential Current Combined with Exercise for the Treatment of Knee Osteoarthritis: A Randomised Controlled Trial”. *Hong Kong Physiotherapy Journal* 23 (1): 13–19. [https://doi.org/10.1016/S1013-7025\(09\)70054-5](https://doi.org/10.1016/S1013-7025(09)70054-5).

Adedoyin, R A, MOB Olaogun, e O O Fagbeja. 2002. “Effect of Interferential Current Stimulation in Management of Osteo-arthritic Knee Pain”. *Physiotherapy* 88 (8): 493–99. [https://doi.org/10.1016/S0031-9406\(05\)60851-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9406(05)60851-6).

Alcock, Mark Michael. 2017. “Defining Pain: Past, Present, and Future”. *PAIN* 158 (4): 761. <https://doi.org/10.1097/j.pain>.

Ali, Ashraf A, e Mohamed A Sabbahi. 2000. “H-reflex changes under spinal loading and unloading conditions in normal subjects”. *Clinical Neurophysiology* 111 (4): 664–70. [https://doi.org/10.1016/S1388-2457\(99\)00304-1](https://doi.org/10.1016/S1388-2457(99)00304-1).

Almeida, Camila Cadena de, Vinicius Z. Maldaner da Silva, Gerson Cipriano Júnior, Richard Eloin Liebano, e Joao Luiz Quagliotti Durigan. 2018. “Transcutaneous electrical nerve stimulation and interferential current demonstrate similar effects in relieving acute and chronic pain: a systematic review with meta-analysis”. *Brazilian Journal of Physical Therapy*, fevereiro. <https://doi.org/10.1016/j.bjpt.2017.12.005>.

Almeida, Tatiana F, Suely Roizenblatt, Ana Amelia Benedito-Silva, e Sergio Tufik. 2003. “The Effect of Combined Therapy (Ultrasound and Interferential Current) on Pain and Sleep in Fibromyalgia”. *Pain* 104 (3): 665–72.

Alon, G. 1987. “Interferential Current News”. *Physical Therapy* 67 (2): 280–81.

Amoateng, Patrick, Kennedy Kwami Edem Kukuia, Jeffrey Amoako Mensah, Dorcas Osei-Safo, Samuel Adjei, Audrey Akyea Eklemet, Emmanuel Atsu Vinyo, e Thomas K. Karikari. 2018. “An Extract of *Synedrella Nodiflora* (L) Gaertn Exhibits Antidepressant

Properties through Monoaminergic Mechanisms”. *Metabolic Brain Disease* 33 (4): 1359–68. <https://doi.org/10.1007/s11011-018-0244-0>.

Araújo, Fernanda Mendonça. 2015. “Efeito da corrente interferencial na fibromialgia: ensaio clínico randomizado”. Mestrado, São Cristóvão: Universidade Federal de Sergipe. <http://ri.ufs.br/jspui/handle/riufs/3978>.

Atamaz, Funda C., Berrin Durmaz, Meltem Baydar, Ozlem Y. Demircioglu, Ayse Iyiyapici, Banu Kuran, Sema Oncel, e Omer F. Sendur. 2012. “Comparison of the Efficacy of Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation, Interferential Currents, and Shortwave Diathermy in Knee Osteoarthritis: A Double-Blind, Randomized, Controlled, Multicenter Study”. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation* 93 (5): 748–56. <https://doi.org/10.1016/j.apmr.2011.11.037>.

Baba, H., K. Shimoji, e M. Yoshimura. 2000. “Norepinephrine Facilitates Inhibitory Transmission in Substantia Gelatinosa of Adult Rat Spinal Cord (Part 1): Effects on Axon Terminals of GABAergic and Glycinergic Neurons”. *Anesthesiology* 92 (2): 473–84.

Barbosa, A. L. R., C. A. Pinheiro, G. J. Oliveira, J. N. L. Torres, M. O. Moraes, R. A. Ribeiro, M. L. Vale, e M. H. L. P. Souza. 2012. “Participation of the NO/CGMP/K+ATP Pathway in the Antinociception Induced by Walker Tumor Bearing in Rats”. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research = Revista Brasileira De Pesquisas Medicas E Biologicas* 45 (6): 531–36.

Basbaum, A I, e H L Fields. 1984. “Endogenous Pain Control Systems: Brainstem Spinal Pathways and Endorphin Circuitry”. *Annual Review of Neuroscience* 7 (1): 309–38. <https://doi.org/10.1146/annurev.ne.07.030184.001521>.

Basbaum, Allan I., Diana M. Bautista, Grégory Scherrer, e David Julius. 2009. “Cellular and Molecular Mechanisms of Pain”. *Cell* 139 (2): 267–84. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.09.028>.

Beatti, Abulkhair, Anton Rayner, Tina Souvlis, e Lucy Chipchase. 2010. “The analgesic effect of interferential therapy on clinical and experimentally induced pain”. *Physical Therapy Reviews* 15 (4): 243–52. <https://doi.org/10.1179/174328810X12647087218992>.

Beaulieu, Jean-Martin, e Raul R. Gainetdinov. 2011. “The Physiology, Signaling, and Pharmacology of Dopamine Receptors”. *Pharmacological Reviews* 63 (1): 182–217. <https://doi.org/10.1124/pr.110.002642>.

Bell, A. 2018. “The Neurobiology of Acute Pain”. *The Veterinary Journal* 237 (julho): 55–62. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2018.05.004>.

Bernardini, Nadia, Carolina Roza, Susanne K. Sauer, Jesus Gomeza, Jürgen Wess, e Peter W. Reeh. 2002. “Muscarinic M2 Receptors on Peripheral Nerve Endings: A Molecular Target of Antinociception”. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 22 (12): RC229.

Betarbet, Ranjita, Todd B. Sherer, e J. Timothy Greenamyre. 2002. “Animal Models of Parkinson’s Disease”. *BioEssays* 24 (4): 308–18. <https://doi.org/10.1002/bies.10067>.

Blackshaw, S, M. J. L Eliasson, A Sawa, C. C Watkins, D Krug, A Gupta, T Arai, R. J Ferrante, e S. H Snyder. 2003. “Species, strain and developmental variations in hippocampal neuronal and endothelial nitric oxide synthase clarify discrepancies in nitric oxide-dependent synaptic plasticity”. *Neuroscience* 119 (4): 979–90. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(03\)00217-3](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(03)00217-3).

Butini, S., K. Nikolic, S. Kassel, H. Brückmann, S. Filipic, D. Agbaba, S. Gemma, et al. 2016. “Polypharmacology of Dopamine Receptor Ligands”. *Progress in Neurobiology* 142 (julho): 68–103. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2016.03.011>.

Calderón-González, R., e R. F. Calderón-Sepúlveda. 2002. “[Clinical treatment (non surgical) of spasticity in cerebral palsy].” *Revista de neurologia* 34 (1): 1–6.

Chakour, M. C., S. J. Gibson, M. Bradbeer, e R. D. Helme. 1996. “The effect of age on Aδ- and C-fibre thermal pain perception”. *Pain* 64 (1): 143–52. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(95\)00102-6](https://doi.org/10.1016/0304-3959(95)00102-6).

Chandran, Prasant, e Kathleen A Sluka. 2003. “Development of Opioid Tolerance with Repeated Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation Administration”. *Pain* 102 (1–2): 195–201.

Chase, Janet, Val J Robertson, Bridget Southwell, John Hutson, e Susie Gibb. 2005. “Pilot Study Using Transcutaneous Electrical Stimulation (Interferential Current) to Treat Chronic Treatment-Resistant Constipation and Soiling in Children”. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 20 (7): 1054–61. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2005.03863.x>.

Cheing, Gladys L Y, e Christina W Y Hui-Chan. 2003. “Analgesic Effects of Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation and Interferential Currents on Heat Pain in

Healthy Subjects”. *Journal of Rehabilitation Medicine: Official Journal of the UEMS European Board of Physical and Rehabilitation Medicine* 35 (1): 15–19.

Clarke, Melanie C C, Janet W Chase, Susie Gibb, John M Hutson, e Bridget R Southwell. 2009. “Improvement of Quality of Life in Children with Slow Transit Constipation after Treatment with Transcutaneous Electrical Stimulation”. *Journal of Pediatric Surgery* 44 (6): 1268–72; discussion 1272. <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2009.02.031>.

Cobacho, Nuria, José Luis de la Calle, e Carlos Luis Paíno. 2014. “Dopaminergic Modulation of Neuropathic Pain: Analgesia in Rats by a D2-Type Receptor Agonist”. *Brain Research Bulletin* 106 (julho): 62–71. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2014.06.003>.

Coban, Şahin, Erdem Akbal, Seyfettin Köklü, Gülşah Köklü, Murat Alper Ulaşlı, Serap Erkeç, Bora Aktaş, Osman Yüksel, Erdem Koçak, e Hatice Rana Erdem. 2012. “Clinical Trial: Transcutaneous Interferential Electrical Stimulation in Individuals with Irritable Bowel Syndrome - a Prospective Double-Blind Randomized Study”. *Digestion* 86 (2): 86–93. <https://doi.org/10.1159/000338301>.

Cohen, Jacob. 1988. *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences*. Hillsdale, N.J.: L. Erlbaum Associates.

Cohen, Robert I., e Carol A. Warfield. 2015. “Role of Muscle Relaxants in the Treatment of Pain”. In *Treatment of Chronic Pain by Medical Approaches: The AMERICAN ACADEMY of PAIN MEDICINE Textbook on Patient Management*, organizado por Timothy R. Deer, Michael S. Leong, e Vitaly Gordin, 67–75. New York, NY: Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1818-8_7.

Correa, JB, LOP Costa, NTB De Oliveira, KA Sluka, e RE Liebano. 2013. “Effects of the carrier frequency of interferential current on pain modulation in patients with chronic nonspecific low back pain: A protocol of a randomised controlled trial”. *BMC Musculoskeletal Disorders* 14, 2013. Article Number.

Cruz, Kamilla Mayara Lucas da. 2014. “O efeito antinociceptivo da corrente interferencial não é mediado por receptores opioides mu e delta espinhais e supraespinhais em ratos artríticos”. Mestrado, São Cristóvão: Universidade Federal de Sergipe. <http://ri.ufs.br/jspui/handle/riufs/3981>.

Cucchiaro, Giovanni, Yingxian Xiao, Alfredo Gonzalez-Sulser, e Kenneth J. Kellar. 2008. “Analgesic Effects of Sazetidine-A, a New Nicotinic Cholinergic Drug”.

Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists 109 (3): 512–19. <https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e3181834490>.

Cury, Yara, Gisele Picolo, Vanessa Pacciari Gutierrez, e Sergio Henrique Ferreira. 2011. “Pain and Analgesia: The Dual Effect of Nitric Oxide in the Nociceptive System”. *Nitric Oxide: Biology and Chemistry* 25 (3): 243–54. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2011.06.004>.

Demirtürk, Funda, Türkan Akbayrak, Ilkim Citak Karakaya, Inci Yüksel, Nuray Kirdi, Fazli Demirtürk, Serap Kaya, Ali Ergen, e Sinan Beksac. 2008. “Interferential Current versus Biofeedback Results in Urinary Stress Incontinence”. *Swiss Medical Weekly* 138 (21–22): 317–21. <https://doi.org/2008/21/smw-12038>.

Denninger, John W, e Michael A Marletta. 1999. “Guanylate Cyclase and the ·NO/CGMP Signaling Pathway”. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 1411 (2–3): 334–50. [https://doi.org/10.1016/S0005-2728\(99\)00024-9](https://doi.org/10.1016/S0005-2728(99)00024-9).

DeSantana, K. Cruz, L. Quintans Jr., L. Bonjardim, W. Lucca Jr., D. Badaue-Passos, e V. Santana-Filho. 2011. “Electrical stimulation reduces secondary mechanical hyperalgesia in a non-inflammatory pain model in rats”. *The Journal of Pain* 12 (4, Supplement): P72. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2011.02.293>.

DeSantana, Josimari M., Valter J. Santana-Filho, e Kathleen A. Sluka. 2008. “Modulation Between High- and Low-Frequency Transcutaneous Electric Nerve Stimulation Delays the Development of Analgesic Tolerance in Arthritic Rats”. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation* 89 (4): 754–60. <https://doi.org/10.1016/j.apmr.2007.11.027>.

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.

Duarte, I. D., I. R. dos Santos, B. B. Lorenzetti, e S. H. Ferreira. 1992. “Analgesia by Direct Antagonism of Nociceptor Sensitization Involves the Arginine-Nitric Oxide-CGMP Pathway”. *European Journal of Pharmacology* 217 (2–3): 225–27.

Eglen, Richard M. 2005. “Muscarinic Receptor Subtype Pharmacology and Physiology”. In *Progress in Medicinal Chemistry*, 43:105–36. Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0079-6468\(05\)43004-0](https://doi.org/10.1016/S0079-6468(05)43004-0).

Ehlert, Frederick J, Rennolds S Ostrom, e Gregory W Sawyer. 1997. “Subtypes of the

Muscarinic Receptor in Smooth Muscle". *Life Sciences* 61 (18): 1729–40. [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(97\)00433-5](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(97)00433-5).

Ferreira, S. H., e M. Nakamura. 1979. "I - Prostaglandin Hyperalgesia, a CAMP/Ca²⁺ Dependent Process". *Prostaglandins* 18 (2): 179–90.

Fuentes, Jorge, Susan Armijo-Olivo, David J. Magee, e Douglas P. Gross. 2011. "A preliminary investigation into the effects of active interferential current therapy and placebo on pressure pain sensitivity: a random crossover placebo controlled study". *Physiotherapy* 97 (4): 291–301. <https://doi.org/10.1016/j.physio.2011.01.001>.

Gebhart, G. F. 2004. "Descending modulation of pain". *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, Foundations and Innovations in the Neuroscience of Drug Abuse, 27 (8): 729–37. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2003.11.008>.

Giovannoni, Maria Paola, Claudia Vergelli, Carla Ghelardini, Nicoletta Galeotti, Alessandro Bartolini, e Vittorio Dal Piaz. 2003. "[*(3-Chlorophenyl)piperazinypropyl*]pyridazinones and Analogues as Potent Antinociceptive Agents". *Journal of Medicinal Chemistry* 46 (6): 1055–59. <https://doi.org/10.1021/jm021057u>.

Goats, G C. 1990. "Interferential Current Therapy". *British Journal of Sports Medicine* 24 (2): 87–92.

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. <https://doi.org/10.1053/apmr.2000.5576>.

Granados-Soto, V., F. J. Flores-Murrieta, G. Castañeda-Hernández, e F. J. López-Muñoz. 1995. "Evidence for the Involvement of Nitric Oxide in the Antinociceptive Effect of Ketorolac". *European Journal of Pharmacology* 277 (2–3): 281–84.

Gundog, Meltem, Funda Atamaz, Selcen Kanyilmaz, Yesim Kirazli, e Gunay Celepoglu. 2012. "Interferential Current Therapy in Patients with Knee Osteoarthritis: Comparison of the Effectiveness of Different Amplitude-Modulated Frequencies". *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation / Association of Academic Physiatrists* 91 (2): 107–13. <https://doi.org/10.1097/PHM.0b013e3182328687>.

Hamza, May, Xiao-Min Wang, Tongtong Wu, Jaime S. Brahim, Janet S. Rowan, e

Raymond A. Dionne. 2010. “Nitric oxide is negatively correlated to pain during acute inflammation”. *Molecular Pain* 6 (1): 55. <https://doi.org/10.1186/1744-8069-6-55>.

Hansjuergens, A. 1986. “Interferential Current Clarification”. *Physical Therapy* 66 (6): 1002.

Hardingham, Neil, James Dachtler, e Kevin Fox. 2013. “The Role of Nitric Oxide in Pre-Synaptic Plasticity and Homeostasis”. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 7. <https://doi.org/10.3389/fncel.2013.00190>.

Heidland, August, Gholamreza Fazeli, André Klassen, Katarina Sebekova, Hans Hennemann, Udo Bahner, e Biagio Di Iorio. 2012. “Neuromuscular electrostimulation techniques: historical aspects and current possibilities in treatment of pain and muscle waisting”. *Clinical Nephrology*, dezembro. <https://doi.org/10.5414/CNX77S106>.

Heinricher, M. M., I. Tavares, J.L. Leith, e B. M. Lumb. 2009. “Descending control of nociception: specificity, recruitment and plasticity”. *Brain research reviews* 60 (1): 214–25. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2008.12.009>.

Hingne, Priyanka M, e Kathleen A Sluka. 2008. “Blockade of NMDA Receptors Prevents Analgesic Tolerance to Repeated Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation (TENS) in Rats”. *The Journal of Pain: Official Journal of the American Pain Society* 9 (3): 217–25. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2007.10.010>.

Hucho, Tim, e Jon D. Levine. 2007. “Signaling Pathways in Sensitization: Toward a Nociceptor Cell Biology”. *Neuron* 55 (3): 365–76. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.07.008>.

Hunt, Stephen P., e Patrick W. Mantyh. 2001. “The Molecular Dynamics of Pain Control”. *Nature Reviews Neuroscience* 2 (2): 83–91. <https://doi.org/10.1038/35053509>.

Hurley, D A, P M Minder, S M McDonough, D M Walsh, A P Moore, e D G Baxter. 2001. “Interferential Therapy Electrode Placement Technique in Acute Low Back Pain: A Preliminary Investigation”. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation* 82 (4): 485–93. <https://doi.org/10.1053/apmr.2001.21934>.

Hurley, Deirdre A, Suzanne M McDonough, Martin Dempster, Ann P Moore, e G David Baxter. 2004. “A Randomized Clinical Trial of Manipulative Therapy and Interferential Therapy for Acute Low Back Pain”. *Spine* 29 (20): 2207–16.

Ismail, Khairul A., Janet Chase, Susie Gibb, Melanie Clarke, Anthony G. Catto-Smith,

Val J. Robertson, John M. Hutson, e Bridget R. Southwell. 2009. “Daily transabdominal electrical stimulation at home increased defecation in children with slow-transit constipation: a pilot study”. *Journal of Pediatric Surgery* 44 (12): 2388–92. <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2009.07.063>.

Iwamoto, E. T., e L. Marion. 1994. “Pharmacological Evidence That Nitric Oxide Mediates the Antinociception Produced by Muscarinic Agonists in the Rostral Ventral Medulla of Rats.” *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 269 (2): 699–708.

Jarit, Gregg J, Karen J Mohr, Robert Waller, e Ronald E Glousman. 2003. “The Effects of Home Interferential Therapy on Post-Operative Pain, Edema, and Range of Motion of the Knee”. *Clinical Journal of Sport Medicine: Official Journal of the Canadian Academy of Sport Medicine* 13 (1): 16–20.

Johnson, Mark I. 1999. “The Mystique of Interferential Currents When Used to Manage Pain”. *Physiotherapy* 85 (6): 294–97. [https://doi.org/10.1016/S0031-9406\(05\)67132-5](https://doi.org/10.1016/S0031-9406(05)67132-5).

Johnson, Mark I., e Ghazala Tabasam. 2003. “A single-blind investigation into the hypoalgesic effects of different swing patterns of interferential currents on cold-induced pain in healthy volunteers”. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation* 84 (3): 350–57. <https://doi.org/10.1053/apmr.2003.50005>.

Jorge, Sérgio, Carlos A Parada, Sérgio H Ferreira, e Cláudia H Tambeli. 2006. “Interferential Therapy Produces Antinociception during Application in Various Models of Inflammatory Pain”. *Physical Therapy* 86 (6): 800–808.

Jou, Nainn-Tsyr, e Sheng-Xing Ma. 2009. “Responses of Nitric Oxide-CGMP Release in Acupuncture Point to Electroacupuncture in Human Skin in Vivo Using Dermal Microdialysis”. *Microcirculation (New York, N.Y.: 1994)* 16 (5): 434–43. <https://doi.org/10.1080/10739680902915012>.

Julius, David, e Allan I. Basbaum. 2001. “Molecular Mechanisms of Nociception”. *Nature* 413 (setembro): 203–10. <https://doi.org/10.1038/35093019>.

Kajbafzadeh, Abdol-Mohammad, Lida Sharifi-Rad, Nima Baradaran, e Farideh Nejat. 2009. “Effect of Pelvic Floor Interferential Electrostimulation on Urodynamic Parameters and Incontinency of Children with Myelomeningocele and Detrusor Overactivity”. *Urology* 74 (2): 324–29. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2008.12.085>.

Kalamida, Dimitra, Konstantinos Poulas, Vassiliki Avramopoulou, Efrosini Fostieri, George Lagoumintzis, Konstantinos Lazaridis, Anastasia Sideri, Marios Zouridakis, e Socrates J. Tzartos. 2007. "Muscle and Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors". *The FEBS Journal* 274 (15): 3799–3845. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2007.05935.x>.

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.

Kawasaki, Yasuhiko, Eiichi Kumamoto, Hidemasa Furue, e Megumu Yoshimura. 2003. "Alpha 2 Adrenoceptor-Mediated Presynaptic Inhibition of Primary Afferent Glutamatergic Transmission in Rat Substantia Gelatinosa Neurons". *Anesthesiology* 98 (3): 682–89.

Kidd, B. L., e L. A. Urban. 2001. "Mechanisms of Inflammatory Pain". *British Journal of Anaesthesia* 87 (1): 3–11.

Kimura, Masafumi, Ken-ichiro Hayashida, James C. Eisenach, Shigeru Saito, e Hideaki Obata. 2013. "Relief of Hypersensitivity after Nerve Injury from Systemic Donepezil Involves Spinal Cholinergic and γ -Aminobutyric Acid Mechanisms". *Anesthesiology* 118 (1): 173–80. <https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e318277a81c>.

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. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2005.03.027>.

Kjær, Sophie Wohler, Malene Flensburg Damholdt, e Mette Buhl Callesen. 2018. "A Systematic Review of Decision-Making Impairments in Parkinson's Disease: Dopaminergic Medication and Methodological Variability". *Basal Ganglia* 14 (novembro): 31–40. <https://doi.org/10.1016/j.baga.2018.07.003>.

Krach, L. E. 2001. "Pharmacotherapy of Spasticity: Oral Medications and Intrathecal Baclofen". *Journal of Child Neurology* 16 (1): 31–36. <https://doi.org/10.1177/088307380101600106>.

Krumenacker, Joshua S., e Ferid Murad. 2006. "NO-CGMP Signaling in Development and Stem Cells". *Molecular Genetics and Metabolism* 87 (4): 311–14. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2005.10.009>.

Kunisawa, Yoshitaka, Kazuki Kawabe, Tadao Niijima, Kazuo Honda, e Oichi Takenaka. 1985. “A Pharmacological Study of Alpha Adrenergic Receptor Subtypes in Smooth Muscle of Human Urinary Bladder Base and Prostatic Urethra”. *The Journal of Urology* 134 (2): 396–98. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)47185-0](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)47185-0).

Lapirot, Olivier, Céline Melin, Alice Modolo, Charline Nicolas, Yassine Messaoudi, Lénaïc Monconduit, Alain Artola, Philippe Luccarini, e Radhouane Dallel. 2011. “Tonic and Phasic Descending Dopaminergic Controls of Nociceptive Transmission in the Medullary Dorsal Horn”. *Pain* 152 (8): 1821–31. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2011.03.030>.

Lee, Hahn-Ey, e Kwanjin Park. 2013. “Efficacy of Salvage Interferential Electrical Stimulation Therapy in Patients with Medication-Refractory Enuresis: A Pilot Study”. *International Neurourology Journal* 17 (3): 139–44. <https://doi.org/10.5213/inj.2013.17.3.139>.

Li, Ping, e Min Zhuo. 2001. “Cholinergic, noradrenergic, and serotonergic inhibition of fast synaptic transmission in spinal lumbar dorsal horn of rat”. *Brain Research Bulletin* 54 (6): 639–47. [https://doi.org/10.1016/S0361-9230\(01\)00470-1](https://doi.org/10.1016/S0361-9230(01)00470-1).

Lindblad, Katarina, Leif Bergkvist, e Ann-Christin Johansson. 2015. “Evaluation of the Treatment of Chronic Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy Using Long-Wave Diathermy and Interferential Currents: A Randomized Controlled Trial”. *Supportive Care in Cancer: Official Journal of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer*, dezembro. <https://doi.org/10.1007/s00520-015-3060-7>.

Loeser, John D., e Rolf-Detlef Treede. 2008. “The Kyoto Protocol of IASP Basic Pain Terminology”. *Pain* 137 (3): 473–77. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2008.04.025>.

Lorenzetti, B. B., e S. H. Ferreira. 1996. “Activation of the Arginine-Nitric Oxide Pathway in Primary Sensory Neurons Contributes to Dipyrone-Induced Spinal and Peripheral Analgesia”. *Inflammation Research: Official Journal of the European Histamine Research Society ... [et Al.]* 45 (6): 308–11.

Low, John, Ann Reed, e Grahame D Pope. 1994. “Physical Principles Explained”. *Physiotherapy* 80 (12): 869. [https://doi.org/10.1016/S0031-9406\(10\)60175-7](https://doi.org/10.1016/S0031-9406(10)60175-7).

Lowenstein, Charles J., e Solomon H. Snyder. 1992. “Nitric Oxide, a Novel Biologic Messenger”. *Cell* 70 (5): 705–7. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(92\)90301-R](https://doi.org/10.1016/0092-8674(92)90301-R).

Ma, Sheng-Xing, Emeran Mayer, Paul Lee, Xi-yan Li, e Ellen Z. Gao. 2015.

“Transcutaneous Electrical Stimulation Increased Nitric Oxide-Cyclic GMP Release Biocaptured Over Skin Surface of Pericardium Meridian and Acupuncture Points in Humans”. *Acupuncture & electro-therapeutics research* 40 (2): 73–86.

Martikainen, Ilkka K., Nora Hagelberg, Satu K. Jääskeläinen, Jarmo Hietala, e Antti Pertovaara. 2018. “Dopaminergic and Serotonergic Mechanisms in the Modulation of Pain: In Vivo Studies in Human Brain”. *European Journal of Pharmacology* 834 (setembro): 337–45. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2018.07.038>.

Mason, Peggy. 2005. “Deconstructing endogenous pain modulations”. *Journal of Neurophysiology* 94 (3): 1659–63. <https://doi.org/10.1152/jn.00249.2005>.

Mauroy, B, E Goullet, J L Bonnal, P Devillers, R Soret, e B Ametepe. 2001. “[Long-term results of interferential current stimulation in the treatment of bladder instability]”. *Progrès en urologie: journal de l'Association française d'urologie et de la Société française d'urologie* 11 (1): 34–39.

May, H. U., F. J. Nippel, A. Hansjürgens, e K. Meyer-Waarden. 1985. “Acceleration of Ossification by Means of Interferential Current”. *Progress in Clinical and Biological Research* 187: 469–78.

Meller, S. T., e G. F. Gebhart. 1993. “Nitric oxide (NO) and nociceptive processing in the spinal cord”. *Pain* 52 (2): 127–36. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(93\)90124-8](https://doi.org/10.1016/0304-3959(93)90124-8).

Millan, Mark J. 2002. “Descending control of pain”. *Progress in Neurobiology* 66 (6): 355–474. [https://doi.org/10.1016/S0301-0082\(02\)00009-6](https://doi.org/10.1016/S0301-0082(02)00009-6).

Moretti, Felipe Azevedo, Freddy Beretta Marcondes, José Roberto Provenza, Thiago Yukio Fukuda, Rodrigo Antunes de Vasconcelos, e Suely Roizenblatt. 2012. “Combined Therapy (Ultrasound and Interferential Current) in Patients with Fibromyalgia: Once or Twice in a Week?” *Physiotherapy Research International: The Journal for Researchers and Clinicians in Physical Therapy* 17 (3): 142–49. <https://doi.org/10.1002/pri.525>.

Murotani, Tomotaka, Tomoko Ishizuka, Hiroyuki Nakazawa, Xiaoming Wang, Kazu Mori, Kazuro Sasaki, Torao Ishida, e Atsushi Yamatodani. 2010. “Possible involvement of histamine, dopamine, and noradrenalin in the periaqueductal gray in electroacupuncture pain relief”. *Brain Research* 1306 (janeiro): 62–68. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.09.117>.

Nagakura, Yukinori, Tomoya Oe, Toshiaki Aoki, e Nobuya Matsuoka. 2009. “Biogenic amine depletion causes chronic muscular pain and tactile allodynia accompanied by

depression: A putative animal model of fibromyalgia”. *PAIN* 146 (1–2): 26–33. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2009.05.024>.

Naser, Paul V., e Rohini Kuner. 2018. “Molecular, Cellular and Circuit Basis of Cholinergic Modulation of Pain”. *Neuroscience* 387 (setembro): 135–48. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2017.08.049>.

Noble, J G, G Henderson, A F Cramp, D M Walsh, e A S Lowe. 2000. “The Effect of Interferential Therapy upon Cutaneous Blood Flow in Humans”. *Clinical Physiology (Oxford, England)* 20 (1): 2–7.

Ocaña, María, Cruz Miguel Cendán, Enrique José Cobos, José Manuel Entrena, e José Manuel Baeyens. 2004. “Potassium channels and pain: present realities and future opportunities”. *European Journal of Pharmacology*, SPECIAL CELEBRATORY VOLUME 500 Dedicated to Professor David de Wied Honorary and Founding Editor, 500 (1): 203–19. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2004.07.026>.

Okuducu, Hasan, e Selami Ateş Onal. 2005. “Is Nitric Oxide Involved in the Antinociceptive Activity of Tramadol? Findings in a Rat Model of Neuropathic Pain”. *Agri: Agri (Algoloji) Dernegi'nin Yayın Organidir = The Journal of the Turkish Society of Algology* 17 (4): 31–40.

Omote, K., K. Hazama, T. Kawamata, M. Kawamata, Y. Nakayaka, M. Toriyabe, e A. Namiki. 2001. “Peripheral Nitric Oxide in Carrageenan-Induced Inflammation”. *Brain Research* 912 (2): 171–75.

Ozcan, John, Alex R. Ward, e Valma J. Robertson. 2004. “A comparison of true and premodulated interferential currents 1”. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation* 85 (3): 409–15. [https://doi.org/10.1016/S0003-9993\(03\)00478-7](https://doi.org/10.1016/S0003-9993(03)00478-7).

Palmer, Shea T., Denis J. Martin, Wilma M. Steedman, e John Ravey. 1999. “Alteration of interferential current and transcutaneous electrical nerve stimulation frequency: Effects on nerve excitation”. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation* 80 (9): 1065–71. [https://doi.org/10.1016/S0003-9993\(99\)90062-X](https://doi.org/10.1016/S0003-9993(99)90062-X).

Perl, Edward R. 2011. “Pain Mechanisms: A Commentary on Concepts and Issues”. *Progress in neurobiology* 94 (1): 20–38. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2011.03.001>.

Pertovaara, Antti. 2006. “Noradrenergic Pain Modulation”. *Progress in Neurobiology* 80 (2): 53–83. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2006.08.001>.

———. 2013. “The Noradrenergic Pain Regulation System: A Potential Target for Pain Therapy”. *European Journal of Pharmacology* 716 (1–3): 2–7. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.01.067>.

Radhakrishnan, 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. [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(03\)00207-0](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(03)00207-0).

Radhakrishnan, e Sluka. 2003. “Spinal Muscarinic Receptors Are Activated during Low or High Frequency TENS-Induced Antihyperalgesia in Rats”. *Neuropharmacology* 45 (8): 1111–19.

Reichling, David B., Paul G. Green, e Jon D. Levine. 2013. “The fundamental unit of pain is the cell”. *Pain* 154 Suppl 1 (dezembro). <https://doi.org/10.1016/j.pain.2013.05.037>.

Reis, Fábio José, e Noeli Pereira Rocha. 2006. “Long term analgesic effect of dipyrone on the persistent hyperalgesia induced by chronic constriction injury of sciatic nerve in rats: involviment of nitric oxide”. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* 42 (4): 514–22. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322006000400006>.

Robertson, V J, e D Spurrirt. 1998. “Electrophysical Agents: Implications of their Availability and Use in Undergraduate Clinical Placements”. *Physiotherapy* 84 (7): 335–44. [https://doi.org/10.1016/S0031-9406\(05\)63462-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9406(05)63462-1).

Robertson, Val. 2006. *Electrotherapy Explained: Principles and Practice*. Edinburgh [etc.]: Elsevier Butterworth Heinemann.

Robertson, Val, Alexander Ward, J. Low, e A. Reed. 2006. “Electrotherapy Explained : Principles and Practice”. <http://arrow.latrobe.edu.au:8080/vital/access/manager/Repository/latrobe:5212>.

Sachs, Daniela, Fernando Q. Cunha, e Sérgio H. Ferreira. 2004. “Peripheral Analgesic Blockade of Hypernociception: Activation of Arginine/NO/CGMP/Protein Kinase G/ATP-Sensitive K⁺ Channel Pathway”. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101 (10): 3680–85. <https://doi.org/10.1073/pnas.0308382101>.

Salter, M., C. Duffy, J. Garthwaite, e P. J. Strijbos. 1995. “Substantial Regional and Hemispheric Differences in Brain Nitric Oxide Synthase (NOS) Inhibition Following Intracerebroventricular Administration of N Omega-Nitro-L-Arginine (L-NA) and Its Methyl

Ester (L-NAME)”. *Neuropharmacology* 34 (6): 639–49.

Schmidtko, Achim. 2015. “Nitric Oxide-Mediated Pain Processing in the Spinal Cord”. *Handbook of Experimental Pharmacology* 227: 103–17. https://doi.org/10.1007/978-3-662-46450-2_6.

Schmidtko, Achim, Irmgard Tegeder, e Gerd Geisslinger. 2009. “No NO, no pain? The role of nitric oxide and cGMP in spinal pain processing”. *Trends in Neurosciences* 32 (6): 339–46. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2009.01.010>.

Schuman, E M, e D V Madison. 1994. “Nitric Oxide and Synaptic Function”. *Annual Review of Neuroscience* 17 (1): 153–83. <https://doi.org/10.1146/annurev.ne.17.030194.001101>.

Shahrokhi, Akram, Azam Ghorbani, e Atefeh Aminianfar. 2014. “Impact of Interferential Current on Recovery of Pressure Ulcers Grade 1 and 2”. *Iranian Journal of Nursing and Midwifery Research* 19 (7 Suppl 1): S91-96.

Shanahan, Christine, Alex R. Ward, e Val J. Robertson. 2006. “Comparison of the analgesic efficacy of interferential therapy and transcutaneous electrical nerve stimulation”. *Physiotherapy* 92 (4): 247–53. <https://doi.org/10.1016/j.physio.2006.05.008>.

Silva, Mayara Tavares da, Fernanda Mendonça Araújo, Mayara Ferreira Araújo, e Josimari Melo DeSantana. 2018. “Effect of Interferential Current in Patients with Fibromyalgia: A Systematic Review”. *Fisioterapia e Pesquisa* 25 (1): 107–14. <https://doi.org/10.1590/1809-2950/17276725012018>.

Slifstein, Mark, e Anissa Abi-Dargham. 2018. “Is it Pre- or Postsynaptic? Imaging Striatal Dopamine Excess in Schizophrenia”. *Biological Psychiatry, Circuits and Symptoms in Schizophrenia*, 83 (8): 635–37. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2018.02.015>.

Sluka, K. A., K. Bailey, J. Bogush, R. Olson, e A. Ricketts. 1998. “Treatment with either high or low frequency TENS reduces the secondary hyperalgesia observed after injection of kaolin and carrageenan into the knee joint”. *Pain* 77 (1): 97–102. [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(98\)00090-6](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(98)00090-6).

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. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03511.x>.

Sluka, K A, e K N Westlund. 1993. “Behavioral and Immunohistochemical Changes in an Experimental Arthritis Model in Rats”. *Pain* 55 (3): 367–77.

Sluka, Kathleen A., Merek Deacon, Andrea Stibal, Shannon Strissel, e Amy Terpstra. 1999. “Spinal Blockade of Opioid Receptors Prevents the Analgesia Produced by TENS in Arthritic Rats”. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 289 (2): 840–46.

Soares, A. C., e I. D. Duarte. 2001. “Dibutyl-Cyclic GMP Induces Peripheral Antinociception via Activation of ATP-Sensitive K(+) Channels in the Rat PGE2-Induced Hyperalgesic Paw”. *British Journal of Pharmacology* 134 (1): 127–31. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0704224>.

Soares, A. C., R. Leite, M. A. Tatsuo, e I. D. Duarte. 2000. “Activation of ATP-Sensitive K(+) Channels: Mechanism of Peripheral Antinociceptive Action of the Nitric Oxide Donor, Sodium Nitroprusside”. *European Journal of Pharmacology* 400 (1): 67–71.

Sontag, W. 1998. “Treatment of zymosan-activated HL-60 cells with low frequencies electric fields does not change cellular ATP and ADP levels and reactive oxygen species”. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics* 46 (2): 255–61. [https://doi.org/10.1016/S0302-4598\(98\)00150-0](https://doi.org/10.1016/S0302-4598(98)00150-0).

———. 2000. “Modulation of Cytokine Production by Interferential Current in Differentiated HL-60 Cells”. *Bioelectromagnetics* 21 (3): 238–44. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-186X\(200004\)21:3<238::AID-BEM10>3.0.CO;2-Y](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-186X(200004)21:3<238::AID-BEM10>3.0.CO;2-Y).

———. 2004. “Response of Cyclic AMP by DMSO Differentiated HL-60 Cells Exposed to Electric Interferential Current after Prestimulation”. *Bioelectromagnetics* 25 (3): 176–84. <https://doi.org/10.1002/bem.10183>.

Sontag, W., e H. Dertinger. 1998. “Response of Cytosolic Calcium, Cyclic AMP, and Cyclic GMP in Dimethylsulfoxide-Differentiated HL-60 Cells to Modulated Low Frequency Electric Currents”. *Bioelectromagnetics* 19 (8): 452–458. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-186X\(1998\)19:8<452::AID-BEM2>3.0.CO;2-A](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-186X(1998)19:8<452::AID-BEM2>3.0.CO;2-A).

Southwell, B. 2012. “Transabdominal electrical stimulation to treat slow transit constipation in children.” *Neuromodulation* 15 (1): 63.

Su, Yeu-Shiuan, Wei-Hsin Sun, e Chih-Cheng Chen. 2014. “Molecular Mechanism of Inflammatory Pain”. *World Journal of Anesthesiology* 3 (1): 71–81. <https://doi.org/10.5313/wja.v3.i1.71>.

Summers, Roger J., e Lynne R. McMartin. 1993. “Adrenoceptors and Their Second Messenger Systems”. *Journal of Neurochemistry* 60 (1): 10–23. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1993.tb05817.x>.

Suriya-Amarit, D, C Gaogasigam, A Siriphorn, e S Boonyong. 2014. “Effect of interferential current stimulation in management of hemiplegic shoulder pain.” *Archives of physical medicine and rehabilitation* 95 (8): 1441–46.

Takasu, Keiko, Motoko Honda, Hideki Ono, e Mitsuo Tanabe. 2006. “Spinal Alfa-2-Adrenergic and Muscarinic Receptors and the NO Release Cascade Mediate Supraspinally Produced Effectiveness of Gabapentin at Decreasing Mechanical Hypersensitivity in Mice after Partial Nerve Injury”. *British Journal of Pharmacology* 148 (2): 233–44. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706731>.

Tegeder, Irmgard, Achim Schmidtke, Ellen Niederberger, Peter Ruth, e Gerd Geisslinger. 2002. “Dual Effects of Spinally Delivered 8-Bromo-Cyclic Guanosine Mono-Phosphate (8-Bromo-CGMP) in Formalin-Induced Nociception in Rats”. *Neuroscience Letters* 332 (2): 146–50.

Tesarz, Jonas, e Wolfgang Eich. 2017. “A Conceptual Framework for ‘Updating the Definition of Pain’”. *Pain* 158 (6): 1177–78. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000000878>.

Tiwari, Prashant, Shubhangi Dwivedi, Mukesh Pratap Singh, Rahul Mishra, e Anish Chandy. 2013. “Basic and Modern Concepts on Cholinergic Receptor: A Review”. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 3 (5): 413–20. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(13\)60094-8](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(13)60094-8).

Todd, Andrew J. 2010. “Neuronal circuitry for pain processing in the dorsal horn”. *Nature reviews. Neuroscience* 11 (12): 823–36. <https://doi.org/10.1038/nrn2947>.

Trescot, Andrea M, Sukdeb Datta, Marion Lee, e Hans Hansen. 2008. “Opioid Pharmacology”. *Pain Physician* 11 (2 Suppl): S133-153.

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. <https://doi.org/10.1111/j.1526-4637.2007.00308.x>.

Urban, M. O., e G. F. Gebhart. 1999. "Central Mechanisms in Pain". *The Medical Clinics of North America* 83 (3): 585–96.

Vanegas, Horacio, e Hans-Georg Schaible. 2004. "Descending control of persistent pain: inhibitory or facilitatory?" *Brain Research Reviews* 46 (3): 295–309. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2004.07.004>.

Vivancos, Gustavo G., Carlos A. Parada, e Sérgio H. Ferreira. 2003. "Opposite Nociceptive Effects of the Arginine/NO/CGMP Pathway Stimulation in Dermal and Subcutaneous Tissues". *British Journal of Pharmacology* 138 (7): 1351–57. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705181>.

Wada, Teiji, Yutaka Hasegawa, e Hideki Ono. 1997. "Characterization of A1-Adrenoceptor Subtypes in Facilitation of Rat Spinal Motoneuron Activity". *European Journal of Pharmacology* 340 (1): 45–52. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(97\)01406-4](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(97)01406-4).

Walker, U A, M Uhl, S M Weiner, K Warnatz, A Lange-Nolde, H Dertinger, H H Peter, e S A Jurenz. 2006. "Analgesic and Disease Modifying Effects of Interferential Current in Psoriatic Arthritis". *Rheumatology International* 26 (10): 904–7. <https://doi.org/10.1007/s00296-006-0102-y>.

Ward, Alex R. 2009. "Electrical Stimulation Using Kilohertz-Frequency Alternating Current". *Physical Therapy* 89 (2): 181–90. <https://doi.org/10.2522/ptj.20080060>.

Ward, Alex R., Stacey Lucas-Toumbourou, e Brigid McCarthy. 2009. "A comparison of the analgesic efficacy of medium-frequency alternating current and TENS". *Physiotherapy* 95 (4): 280–88. <https://doi.org/10.1016/j.physio.2009.06.005>.

Watson, T. 2002. "Current Concepts in Electrotherapy". *Haemophilia* 8 (3): 413–418. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2516.2002.00613.x>.

Weinger, M. B., I. S. Segal, e M. Maze. 1989. "Dexmedetomidine, Acting through Central Alpha-2 Adrenoceptors, Prevents Opiate-Induced Muscle Rigidity in the Rat." *Anesthesiology* 71 (2): 242–49.

Werners, R, P B Pynsent, e C J Bulstrode. 1999. "Randomized Trial Comparing Interferential Therapy with Motorized Lumbar Traction and Massage in the Management of Low Back Pain in a Primary Care Setting". *Spine* 24 (15): 1579–84.

Wess, Jurgen. 1996. "Molecular Biology of Muscarinic Acetylcholine Receptors". *Critical Reviews™* in *Neurobiology* 10 (1).

<https://doi.org/10.1615/CritRevNeurobiol.v10.i1.40>.

Wess, Jürgen, Richard M. Eglen, e Dinesh Gautam. 2007. “Muscarinic Acetylcholine Receptors: Mutant Mice Provide New Insights for Drug Development”. *Nature Reviews Drug Discovery* 6 (9): 721–33. <https://doi.org/10.1038/nrd2379>.

Williams, Amanda C. de C., e Kenneth D. Craig. 2016. “Updating the Definition of Pain”. *PAIN* 157 (11): 2420. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000000613>.

Wright, Andrew, e Murat Aydede. 2017. “Critical Comments on Williams and Craig’s Recent Proposal for Revising the Definition of Pain”. *Pain* 158 (2): 362–63. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000000765>.

Yik, Yee Ian, Lefteris Stathopoulos, John M. Hutson, e Bridget R. Southwell. 2016. “Home Transcutaneous Electrical Stimulation Therapy to Treat Children With Anorectal Retention: A Pilot Study”. *Neuromodulation: Journal of the International Neuromodulation Society* 19 (5): 515–21. <https://doi.org/10.1111/ner.12451>.

Youn, Jong-In, Ho Sub Lee, e Sangkwan Lee. 2016. “Determination of effective treatment duration of interferential current therapy using electromyography”. *Journal of Physical Therapy Science* 28 (8): 2400–2403. <https://doi.org/10.1589/jpts.28.2400>.

Zhuo, M., e G. F. Gebhart. 1991. “Spinal serotonin receptors mediate descending facilitation of a nociceptive reflex from the nuclei reticularis gigantocellularis and gigantocellularis pars alpha in the rat”. *Brain Research* 550 (1): 35–48. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(91\)90402-H](https://doi.org/10.1016/0006-8993(91)90402-H).

Zhuo, Min. 2017. “Descending facilitation”. *Molecular Pain* 13 (março). <https://doi.org/10.1177/1744806917699212>.

ANEXO - A



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

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliação do efeito e do mecanismo de ação da corrente interferencial na antinocicepção em ratos artríticos", registrada com o nº 64/2016, sob a responsabilidade da **Prof. Dr. Josimari Melo de Santana** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade Federal de Sergipe, em reunião de 20/02/2017.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	Início: 01/01/2017, Término: 01/12/2017
Espécie/linhagem/raca	Rato Heterogênico
Nº de animais	120
Peso/Idade	250-350g / 3 meses
Sexo	M
Origem	Biotério Setorial da Fisiologia da (UFS).

Josemar SENA BATISTA

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

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