



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS DA SAÚDE**

LEONARDO YUNG DOS SANTOS MACIEL

**ELETROACUPUNTURA REDUZ HIPERALGESIA EM
MODELO ANIMAL DE HIPERALGESIA INDUZIDA POR
DUPLA INJEÇÃO DE SALINA HIPERTÔNICA**

ARACAJU

2012

LEONARDO YUNG DOS SANTOS MACIEL

**ELETROACUPUNTURA REDUZ HIPERALGESIA
EM MODELO ANIMAL DE HIPERALGESIA
INDUZIDA POR DUPLA INJEÇÃO DE SALINA
HIPERTÔNICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Sergipe como requisito à obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde.

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

ARACAJU

2012

LEONARDO YUNG DOS SANTOS MACIEL

**ELETROACUPUNTURA REDUZ HIPERALGESIA
EM MODELO ANIMAL DE HIPERALGESIA
INDUZIDA POR DUPLA INJEÇÃO DE SALINA
HIPERTONICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Sergipe como requisito à obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde.

Aprovada em: ____/____/____.

Prof^ª. Dr^ª. Josimari Melo de Santana (Orientadora)

Prof. Dr. Márcio Ramos Coutinho (1º Examinador)

Prof. Dr. Walderi Monteiro da Silva Júnior (2º Examinador)

Parecer

MACIEL, Leonardo Yung dos Santos. Eletroacupuntura reduz hiperalgesia em modelo animal de hiperalgesia induzida por dupla injeção de salina hipertônica. Aracaju, 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Núcleo de Pós-graduação em Medicina. Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, 2012.

RESUMO

Repetidas injeções de salina ácida no músculo gastrocnêmio de ratos produzem uma hiperalgesia bilateral de longa duração semelhante a fibromialgia em humanos. Após esta indução, é possível analisar a eficácia de modalidades analgésicas como a acupuntura e eletroacupuntura. O objetivo deste estudo foi identificar o efeito da eletroacupuntura e acupuntura na hiperalgesia bilateral produzida por dupla injeção intramuscular de salina ácida. Foram utilizados 24 ratos Wistar machos, divididos em quatro grupos: controle, acupuntura, eletroacupuntura (EA) de 15 Hz e EA de 100 Hz. No músculo gastrocnêmio esquerdo de todos os animais, foi injetado um volume de 100 µL de solução salina estéril pH 4,0 em duas ocasiões, com intervalo de 5 dias entre elas. O tratamento com EA foi feito diariamente por 5 dias consecutivos, com duração de 20 minutos. Os animais foram anestesiados com isoflurano (2% -5%) para possibilitar a intervenção. As agulhas foram colocadas nos pontos Zusanli (St36) e Sanyinjiao (SP6). Foram avaliados a hiperalgesia mecânica secundária, hiperalgesia térmica e desempenho motor antes das duas injeções, e antes e após o tratamento. Os resultados indicam que ocorreu uma redução significativa do limiar mecânico e da latência térmica 24 horas após a segunda injeção. Além disso, houve reversão significativa da hiperalgesia mecânica e térmica após administração de EA 15 Hz, EA 100 Hz e acupuntura. Estes dados sugerem que tanto a EA em alta ou baixa frequência quanto a acupuntura são eficazes na redução da hiperalgesia neste modelo de dor muscular crônica.

Descritores: Hiperalgesia; Dor; Eletroacupuntura; Fibromialgia; Analgesia; Ratos.

MACIEL, Leonardo Yung dos Santos. Electroacupuncture and acupuncture reduces hyperalgesia produced by repeated intramuscular injections of acidic saline in rats. Aracaju, 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Núcleo de Pós-graduação em Medicina. Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, 2012.

ABSTRACT

Repeated injections of acidic saline into the gastrocnemius muscle in rats produce a bilateral long-lasting hyperalgesia similar to fibromyalgia syndrome in humans. After the induction, it's possible to test the efficacy of analgesic strategies such as electroacupuncture and acupuncture. This study aimed to identify the effects of acupuncture and electroacupuncture in the hyperalgesia produced by repeated intramuscular injections of acidic saline. Twenty four male Wistar rats were divided into four groups (n = 6, in each group): control, acupuncture, electroacupuncture (EA) 15 Hz and (EA) 100 Hz. Left gastrocnemius muscle from all animals was injected with 100 μ L of pH 4.0 sterile saline twice five days apart. Electroacupuncture, acupuncture or control was daily administered (20 min) for 5 consecutive days under isoflurane anesthesia (2%–5%). Needles were placed in the Zusanli (St36) and Sanyinjiao (SP6). We assessed the secondary mechanical hyperalgesia, thermal hyperalgesia and motor performance before the two injections, and before and after the treatment each day. The results indicate that there was a significant reduction of both mechanical withdrawal threshold and paw withdrawal latency 24 hours following the second injection. Therefore, both mechanical and thermal hyperalgesia were significantly reversed by EA 15 Hz, EA 100 Hz and acupuncture. It can be suggested that as high and low frequency electroacupuncture as acupuncture is effective in hyperalgesia reducing in this model of chronic muscle pain.

Key Word: Hyperalgesia; Pain; Fibromyalgia; Electroacupuncture; Analgesia; Rat.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1–.....24

Figura 2 –25

Figura 3 –26

Figura 4 –27

Figura 5 –28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AINES – anti-inflamatórios não hormonais

Bp (Sp) – baço pâncreas

CEPA – Comitê de Ética e Pesquisa Animal

COBEA – Colégio Brasileiro de Experimentação Animal

DME – dor musculoesquelética

DMEC – dor musculoesquelética crônica

E (St) - estômago

EA - eletroacupuntura

FM - fibromialgia

Hz - hertz

IASP – Associação Internacional para o Estudo da Dor

OMS – Organização Mundial da Saúde

RPM – rotações por minuto

SNC – sistema nervoso central

SNP – sistema nervoso periférico

TENS – Estimulação Elétrica Transcutânea do Nervo

UBS – Unidade Básica de Saúde

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1 Dor Musculoesquelética.....	12
2.2 Fibromialgia.....	13
2.3 Eletroacupuntura	17
3 OBJETIVOS.....	20
4 MÉTODOS.....	21
4.1 Animais.....	21
4.2 Indução da hiperalgesia muscular.....	21
4.3 Hiperalgesia mecânica.....	21
4.4 Hiperalgesia térmica.....	22
4.5 Teste Motor.....	23
4.6 Eletroacupuntura.....	23
4.7 Delineamento experimental.....	24
4.8 Análise Estatística.....	25
5 RESULTADOS.....	26
5.1 Hiperalgesia Mecânica.....	26
5.2 Hiperalgesia Térmica.....	26
5.3 Teste Motor.....	27
6. DISCUSSÃO.....	29
7. CONCLUSÃO.....	35
REFERÊNCIAS.....	36

AGRADECIMENTO

Sempre que encerramos os ciclos da vida, temos duas formas de análise: uma do futuro e outra do passado. Viver focando apenas em uma dessas possibilidades não faz bem a ninguém, porém saber dosar as duas não é uma habilidade tão fácil assim.

Quando penso no futuro, penso em tudo que quero alcançar, o que o estudo, as oportunidades que me aparecem e minha garra e determinação podem me proporcionar. Ter foco e objetivo é muito importante para se ter metas, e tentar chegar até elas, mas saber aceitar uma derrota tem que fazer parte também, pois o sucesso nunca estará garantido.

Ao pensar no passado, penso em tudo e todos que eu tive contato, lembro muito das vitórias da vida, desde as primeiras, mas costumo não esquecer nunca as dificuldades, sejam psicológicas, como na adolescência e as confusões que todos passamos nesta época, ou sociais mesmo; lembrar disso me faz bem, e sempre revento essas lembranças em boas situações e sensações, pois me fazem sentir vitorioso.

Em passado próximo, tive a oportunidade de conhecer minha orientadora, Dr^a Josimari Melo de Santana, que acreditou em mim, quando talvez nem eu tivesse certeza se era capaz, me deu subsídios para o crescimento como pesquisador e como professor, sempre aprendo enquanto conversamos, muito obrigado pelos dois anos, e pelos próximos do doutorado que está iniciando.

Falar do passado também me remete aos meus parentes que se foram, meus avós, primos e amigos, que, de alguma forma, emanam muita energia positiva dia após dia, em especial a Xande, que, com certeza, está cuidando de nós.

A meus pais, Magda, a qual eu não canso de oferecer qualquer vitória minha, pois não são minhas, serão sempre para ela, e Maciel, exemplo de generosidade e dignidade, com ambos, cultivo uma relação de amizade mesmo!!!, além do vínculo paterno em si.

A minha irmã Bárbara, que é Bárbara mesmo!, aprendemos juntos a ser guerreiros, e sempre podemos contar um com o outro, seja, qualquer hora, qualquer problema, Além de ser casado com meu irmão Antonio, o qual tenho muita gratidão e gosto bastante parecido.

A minha namorada Priscila, que ao longo de muitos anos, sempre me dá muita força, carinho, sendo, às vezes, uma mãe, filha, amiga. Sofreu muitas noites comigo, pois, para cumprir prazos, precisei dormir menos e trabalhar mais, e viu cada dificuldade e cada vitória nesse período, e sabe exatamente o tamanho de cada ônus e bônus que ocorreu. Não tenho como agradecer, “só” posso lhe oferecer tanto amor quanto eu recebo.

Aos meus familiares e amigos, pessoas fantásticas, que rimos e choramos juntos, em especial, Cacá, Thaline, Aninha, Lula, Bruno, Diogo, Jader, Mauricio, Paulo Márcio, Flavio Paulista, Tarso, George, entre outros que sempre estão por perto.

Aos amigos também professores da FASE-Estacio, Unit e NFT-UFS, Silvio Sanders, Joanita, Marcelo Mota, Ana Paula, Anibal, Carlos Eduardo, Rosimari, Walderi Monteiro, e os professores do NPGME-UFS, em especial, ao professor Leonardo Bonjardim, cara do bem, exemplo de humildade, além da própria Universidade Federal de Sergipe e todos os seus servidores, não haveria nenhum trabalho sem vocês!

1 INTRODUÇÃO

A dor, segundo a Associação Internacional para o Estudo da Dor (International Association for the Study of Pain - IASP), é uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a um dano tissular real ou potencial, ou descrita em termos de tal dano (MERSKY, 1986). Sua natureza altamente subjetiva é um dos fatores que tornam difícil sua definição, sua avaliação e seu tratamento clínico. Sendo um dos mais importantes mecanismos de defesa do corpo humano, a dor propicia um sinal de alerta ao encéfalo de que os tecidos estão expostos a uma situação de perigo, mesmo que esta ocorra antes de um real dano físico (SIQUEIRA e TEIXEIRA, 2002). Quando a dor se repete ou permanece por período prolongado, promove alterações fisiológicas e deixa de apresentar vantagens biológicas e passa a causar sofrimento, sendo classificada como dor crônica (MELZACK e WALL, 1999).

A dor musculoesquelética crônica (DMEC) é comum na população em geral, com prevalência de 35% a 50% (LINDGRE e BERGMAN, 2010), estando entre os maiores problemas de saúde da sociedade moderna ocidental (HOLTH, WERPEN, ZWART et al., 2008). Aproximadamente 14% da população norte-americana sofre de dor muscular crônica difusa (DMCD), tal como fibromialgia (FM). Estima-se que a FM afeta 6 milhões de americanos (7% da população), tornando-a uma condição dolorosa comum (SPROTT, 2003). A síndrome da FM é caracterizada por dor generalizada, hipersensibilidade, rigidez matinal, distúrbio do sono e fadiga pronunciada. O critério diagnóstico proposto pelo Colégio Americano de Reumatologia inclui dor difusa em conjunto com sensibilidade à palpação de 11 ou mais dos 18 *tender points* especificados (BENGTSSON e HENRIKSSON, 1989; CLAUW e CROFFORD, 2003; HENRIKSSON e BENGTSSON, 1991; WOLFE et al., 1990).

A fibromialgia só foi reconhecida como uma doença pela Organização Mundial da Saúde (OMS) no final da década de 1970 e, estudada com profundidade, a partir da década de 1990 (WOLFE et. al. 1990). O

reconhecimento tardio faz com que muitos indivíduos acometidos pela FM enfrentem intenso descrédito, uma vez que se trata de uma doença com quadro clínico não visível. A estabilização da condição dolorosa e o insucesso de várias terapias aplicadas contribuem para exacerbar a hostilidade contra si mesmo, familiares, amigos e profissionais de saúde isolando o paciente do seu sistema de apoio familiar. (LIMA e OLIVEIRA, 1995; SATO et al. 1993). Em pesquisas realizadas no Brasil, destaca-se o trabalho de Bianchi et al. (apud Seda, 1982), que observaram a frequência de FM em 10,2% das populações do Rio de Janeiro e Porto Alegre. Martinez et al. (1992), além de confirmarem estes achados, evidenciaram o impacto sócio-econômico da FM.

Após a demonstração da acidose muscular encontrada em indivíduos portadores da FM, foi possível criar um modelo animal que a simulasse, e após testes com diversos protocolos e diferentes calibrações do pH, identificou-se que duas administrações sucessivas de salina ácida (pH 4,0) no músculo gastrocnêmio unilateralmente produzem hiperalgesia mecânica, difusa, bilateral de longa duração com ausência de déficits motores (SLUKA et al., 2001). A hiperalgesia produzida é dependente da dose e do tempo de aplicação da salina ácida, uma vez que a administração da solução com o menor pH testado (pH 4,0) produziu a maior hiperalgesia, sendo este modelo diferenciado dos demais modelos de dor, pois, além de produzir hiperalgesia mecânica bilateral de longa duração em pata, músculo e vísceras, não apresenta dano tecidual (DESANTANA e SLUKA, 2008).

Há muitos anos, o homem vem pesquisando maneiras para aliviar a dor, o que proporcionou vários avanços no campo das modalidades analgésicas, com destaque para os opióides, entre os fármacos, os estimuladores elétricos, como a estimulação elétrica transcutânea do nervo (TENS) e a adoção de terapias alternativas, como a eletroacupuntura (EA), técnica que faz uso de agulhas inseridas na pele e tecidos subjacentes em pontos estratégicos do corpo, os acupontos (CHANDRAN e SLUKA, 2003; CHONGHUO, 1993; LOW e REED, 2001; STARKEY, 2001; TEIXEIRA e SOUZA, 2001; VALE, 2006).

Atualmente, os avanços em neurofisiologia permitem definir a acupuntura como um método de estimulação neural periférica, cujo objetivo é promover mudanças em funções neurais, sensoriais, motoras e autonômicas com resultados terapêuticos. É uma técnica minimamente invasiva, que tem conseqüências neurofisiológicas relacionadas com incremento do impulso neural ou a promoção de influências moduladoras (CARNEIRO, 2001). A acupuntura e a EA têm sido cada vez mais utilizadas no ocidente devido aos efeitos analgésicos que proporciona, envolvendo mecanismos centrais e periféricos, destacando seu uso como uma prática alternativa na saúde (MANICA, 2004).

Os efeitos terapêuticos começam na periferia, com a estimulação (punção) de estruturas anátomo-funcionais associadas ao sítio de neuroestimulação (pontos de acupuntura) e continuam ao longo do sistema nervoso central: medula espinal, tronco cerebral, diencéfalo, sistema límbico, cerebelo e córtex cerebral (CARNEIRO, 2001). A ativação dessas estruturas promove mudanças nas vias descendentes inibidoras, opioidérgicas (sistema opióide descendente), que regulam a ascensão dos sinais provenientes dos aferentes sensoriais primários (KIM, UH, YOON et al., 2008; LI, WANG, XIN et al., 2007; PEREIRA, 2008). No tronco cerebral, também é modulada a atividade dos nervos cranianos, bem como o sistema nervoso autonômico (CARNEIRO, 2001). Efeitos somáticos e viscerais são simultaneamente obtidos em resposta à estimulação neural periférica LAPPER, BIEDERMANN, HEMTESD, 1987).

Justifica-se a execução deste estudo devido à carência de informações disponíveis na literatura acerca das opções terapêuticas, especialmente não-farmacológicas, assim como os melhores parâmetros de utilização da EA, para o manejo da dor na fibromialgia, que gera impacto negativo na qualidade de vida geral e relacionada à saúde. Sendo um estudo experimental com possibilidade para ser transposto a prática clínica.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Dor Musculoesquelética

A dor musculoesquelética (DME) é comum na população em geral, com prevalência de 35% a 50% (LINDGRE e BERGMAN, 2010), estando entre os maiores problemas de saúde da sociedade moderna ocidental (HOLTH, WERPEN, ZWART et al., 2008). As DMEs podem acometer uma ou diversas regiões do corpo (LINDGRE e BERGMAN, 2010) e estão associadas a determinantes negativos de saúde, como, por exemplo, o fumo, o excesso de peso e o nível socioeconômico. O aumento do risco de câncer e a alta mortalidade têm sido encontrados em indivíduos com queixas musculoesqueléticas crônicas difusas, constituindo para esse grupo de pacientes um importante problema de saúde pública (HOLTH, WERPEN, ZWART et al., 2008).

As DMEs geram não somente sofrimento e incapacidade para o trabalhador e sua família, mas resultam também em elevados custos para a sociedade, considerando-se as perdas de produtividade, perdas salariais, benefícios concedidos aos trabalhadores e despesas médicas (WALSH et al., 2004). Nos Estados Unidos, aproximadamente um milhão de pessoas a cada ano relatam afastar-se do trabalho para tratar ou recuperar-se de dor músculoesquelética. Estimativas de custos relacionados à concessão de benefícios aos trabalhadores e perdas de dias de trabalho estão entre 13 a 20 bilhões de dólares anualmente (NRC & IM, 2001). A incidência de DME tem aumentado consideravelmente nos últimos anos em função de modificações nos hábitos de vida e no meio ambiente, além de inúmeras outras razões, como aumento do estresse e aumento das cobranças no mundo corporativo (CROMBIE et. al., 1999).

A dor crônica pode ser causada por processos patológicos crônicos nas estruturas somáticas ou viscerais ou por disfunção prolongada dos componentes do sistema nervoso periférico (SNP), do sistema nervoso central (SNC) ou ambos. Os sinais associados da resposta do sistema nervoso

autônomo podem estar interrompidos e o paciente tende a parecer exausto, apático, deprimido e introvertido (CAILLIET, 1999). Esta dor pode, ainda, decorrer de fatores ambientais ou psicopatológicos que normalmente geram estresse físico, emocional, econômico e social significativo para o paciente e sua família (ROUX, GUILLEMIN, BOINI et al., 2005).

Martinez et al. (2008) mostraram que a modalidade terapêutica mais utilizada para o tratamento de dores crônicas em unidade básica de saúde (UBS) é a medicamentosa, com predomínio de analgésicos e anti-inflamatórios não hormonais (AINES), evidenciando, ainda, baixa utilização de terapias não medicamentosas e exercícios físicos. Porém, entende-se que o tratamento da dor musculoesquelética deve ser baseado em diagnóstico preciso, multiprofissional e com medidas medicamentosas e não medicamentosas (TEIXEIRA e PIMENTA, 1995; GARCIA e CALICH, 2002, MARTINEZ et al., 2008).

2.2 Fibromialgia

A FM é uma síndrome reumática de etiologia ainda desconhecida, que acomete, predominantemente, indivíduos do sexo feminino, caracterizada por dor musculoesquelética difusa, crônica e não inflamatória, além de sítios anatômicos específicos dolorosos à palpação, chamados de tender points. Frequentemente, a FM está associada a outros sintomas como fadiga, distúrbios do sono, rigidez matinal e distúrbios psicológicos, como ansiedade e depressão (WOLFE et al., 1990). Na grande maioria dos pacientes, os sinais e sintomas têm início insidioso (CASSAR, 2001) e geralmente, o nível da dor é tão intenso que interfere no trabalho, nas atividades de vida diária e na qualidade de vida dos pacientes (MARTINEZ et al., 1992; WOLFE et al., 1995; RUOF et al., 1999).

A fibromialgia foi reconhecida como doença pela OMS no final da década de 70. Calcula-se que afeta 6 milhões de americanos (7% da população), sendo mais frequente no sexo feminino (entre 73% a 88% dos casos), correspondendo a 14% dos atendimentos em clínicas reumatológicas

(WOLFE et al., 1990), e 20% dos atendimentos em geral (YUNUS et al., 1981). O diagnóstico da FM costuma ocorrer em pacientes entre 34 e 57 anos, evidenciando o impacto sócio-econômico da doença em uma fase produtiva da vida (WOLFE et al., 1990).

Os critérios diagnósticos propostos pelo Colégio Americano de Reumatologia são dor musculoesquelética difusa e crônica, além de sítios anatômicos específicos dolorosos à palpação, no mínimo 11 dos 18 pontos sensíveis específicos (WOLFE et al 1990). Considerando que o diagnóstico da FM ainda é feito através de diagnóstico diferencial em diversas situações, o retardo na conclusão deste, tem levando os pacientes a serem tratados por um período considerável, apenas aliviando os sintomas, demandado um aumento significativo dos gastos públicos (RUOF et al., 1999).

Muitas propostas tentam explicar a fisiopatologia da FM: 1. disfunção/isquemia muscular, 2. sensibilização central ou 3. distúrbio dos sistemas endógenos de modulação da dor (DESANTANA e SLUKA, 2008). Distúrbios centrais de processamento e sensibilização central são sugeridos por estudos que mostram uma diminuição generalizada no limiar mecânico por pressão em humanos (GRAVEN-NIELSEN, ASPEGREN, HENRIKSSON, et al., 2000; VIERCK, STAUD, PRICE, et al. 2001; STAUD, CARL, VIERCK, et al., 2001), somação temporal a estímulos térmicos e mecânico profundo (STAUD, CARL, VIERCK et al., 2001; SÖRENSEN et al., 1998; STAUD, VIERCK, CANNON et al., 2001), dor referida em áreas mais amplas após infusão com salina hipertônica intramuscular (SÖRENSEN et al., 1998), e alterações na modulação descendente que são interpretadas como decréscimo na inibição endógena da dor (KOSEK e HANSSON, 1997). A somação temporal em pacientes com FM é potencializada quando comparada com sujeitos controles normais (STAUD, VIERCK, ROBINSON et al., 2005).

No entanto, outros mecanismos neurais podem contribuir para a dor associada à FM. Pacientes com FM têm apresentado elevadas concentrações de substância P e fator de crescimento neural, e diminuída de serotonina no líquido cefalorraquidiano (RUSSELL, ORR, LITTMAN, et al. 1994; GIOVENGO,

RUSSELL, LARSON, 1999), sugerindo que o aumento da excitação e uma redução simultânea na inibição pode ser encontrados em FM. Dessa forma, parece haver apoio substancial para o aumento da sensibilização central no paciente fibromialgico, entretanto, evidências recentes relatam uma potencial relação do sistema nervoso periférico nos mecanismos de desenvolvimento da FM (DESANTANA e SLUKA, 2008; STAUD e RODRIGUEZ, 2006).

A ciência básica vem desenvolvendo modelos de dor musculoesquelética inflamatória e não-inflamatória de longa duração, com o intuito de simular desordens musculares como a FM (SLUKA et al., 2001; SLUKA, 2002; RADHAKRISHNAN e SLUKA, et al. 2003). Modelos inflamatórios normalmente envolvem a injeção intramuscular de carragenina, que produz uma resposta inflamatória aguda inicial que converte a uma resposta inflamatória crônica (RADHAKRISHNAN e SLUKA, et al. 2003). Este modelo está associado ao desenvolvimento de calor e hiperalgesia mecânica, bem como hiperexcitabilidade central dos neurônios do corno dorsal da medula espinhal (sensibilização central) (RADHAKRISHNAN e SLUKA, et al., 2003). No entanto, este modelo inflamatório não simula os processos hiperalgésicos sem ocorrência de lesão tecidual, fato muito comum.

Sluka et al. (2001) desenvolveram e caracterizaram um modelo animal de hiperalgesia muscular crônica induzida por duas injeções unilaterais intramusculares de salina ácida. Este modelo se diferencia dos demais modelos de dor crônica devido a promoção de hiperalgesia mecânica bilateral de longa duração em pata, músculos e vísceras além de não gerar lesão tecidual, sendo a hiperalgesia mantida por mudanças no sistema nervoso central (SLUKA et al., 2001; SKYBA, KING, SLUKA, 2002; SKYBA, LISI, SLUKA, 2005; HOEGER-BEMENT e YOKOYAMA, et al. 2007; TILLU, GEBHART, SLUKA, 2008).

Para a indução da hiperalgesia não inflamatória, duas doses de solução salina pH 4,0 são injetadas no músculo gastrocnêmio de forma unilateral, produzindo uma hiperalgesia mecânica generalizada de longa duração sem distúrbio motor ou dano tecidual. Esta hiperalgesia é dependente da dose e do

tempo de injeção de tal forma que o menor pH testado (pH 4,0) produziu o maior hiperalgesia, e intervalos de 2 e 5 dias entre as aplicações originou diminuição significativa no limiar mecânica de retirada da pata bilateralmente. Porém, indução com intervalos de 10 dias não produziram hiperalgesia (SLUKA et al., 2001), sugerindo que há um intervalo de tempo a ser respeitado entre as injeções.

Farmacologicamente, o modelo de solução salina ácida apresenta características semelhantes a sujeitos com FM. A hiperalgesia é revertida por agonistas opióides administrados por injeção intratecal, antagonistas espinhais de receptor NMDA, bem como pregabalina sistêmica, antagonistas de NMDA, liberadores de canal de potássio e bloqueadores dos canais de sódio (YOKOYAMA, et al. 2007; NIELSEN, MATHIESEN, BLACKBURN-MUNRO, 2004; SLUKA, ROHLWING, BUSSEY, et al., 2002). No entanto, não há efeito sobre a hiperalgesia com inibidores específicos da ciclooxigenase-2, anticonvulsivantes, como a lamotrigina ou ansiolíticos, tais como o diazepam (NIELSEN, MATHIESEN, BLACKBURN-MUNRO, 2004). Além disso, exercícios aeróbicos revertem a hiperalgesia neste modelo animal (BEMENT e SLUKA, 2005), como também é encontrado resultados semelhantes em estudos realizados em seres humanos com FM (BUSCH, BARBER, 2007) sendo a fadiga muscular identificada com fator potencializador para o desenvolvimento da hiperalgesia em modelo animal (YOKOYAMA, LISI, MOORE, et al., 2007).

Este modelo experimental tem demonstrado ativação de mecanismos nos sistemas nervosos periférico e central. PerifERICAMENTE, a ativação de canais iônicos sensíveis a ácido 3 (ASIC3) é necessária para o desenvolvimento de dor muscular difusa e a neutrofina 3 previne o desenvolvimento da hiperalgesia (DESANTANA e SLUKA, 2008). Mudanças centrais também são críticas para o desenvolvimento de dor crônica difusa e refletem alterações na modulação supraespinhal da nocicepção, o que inclui aumento nas vias de modulação excitatória e decréscimo na modulação inibitória. Estas alterações na excitação e inibição levam a mudanças observadas na medula espinhal, resultando em sensibilização central e consequente dor e hiperalgesia (DESANTANA e SLUKA, 2008).

2.3 Eletroacupuntura

Com o advento da pilha, em 1799, a estimulação de músculos com eletricidade tornou-se possível. Em 1816, Berlioz registrou o uso da acupuntura elétrica para tratamento da dor (LEE e LIAO, 1994). Salandiere (1825) publicou livro onde utilizou pela primeira vez a palavra eletroacupuntura (EA), seguindo técnicas da acupuntura japonesa no tratamento de reumatismo e dor (LEE e LIAO, 1994; AMESTOY, 1998).

A acupuntura tem sido utilizada no oriente para alívio da dor há mais de dois mil anos, entretanto apenas nos últimos 40 anos, cientistas ocidentais começaram a testar as teorias da acupuntura oriental, bem como o seu uso como recurso de tratamento na medicina ocidental. Muitos estudos foram desenvolvidos no início da década de 70, onde os camundongos começaram a ser usados para o estudo da analgesia através da EA (MOGIL et al., 1996). De acordo com a literatura, a EA tem indicações bastante precisas com uma variedade terapêutica extensa, podendo ser empregada, com algumas exceções, sempre que a acupuntura tenha sido indicada (AMESTOY, 1998).

A acupuntura visa, através de sua técnica e procedimentos, estimular os pontos reflexos que tenham propriedade de restabelecer o equilíbrio das funções corporais, alcançando, assim, resultados terapêuticos (PARK et al., 2003). Estes efeitos terapêuticos começam na periferia, com a estimulação (punção) de estruturas anátomo-funcionais associadas ao sítio de neuro-estimulação (pontos de acupuntura) e continuam ao longo do sistema nervoso central: medula espinal, tronco cerebral, diencéfalo, sistema límbico, cerebelo e córtex cerebral (CARNEIRO, 2001). Em estudos com ressonância magnética a acupuntura mostra efeito na atividade cerebral em áreas previsíveis, relacionadas a pontos específicos. Pontos relacionados à visão e à audição estimulam áreas cerebrais visuais e auditivas, respectivamente (LEWITH et al., 2005).

Com relação ao controle algico, o estímulo da EA promove mudanças no sistema descendente de inibição da dor e vias opioidérgicas que regulam a ascensão dos sinais provenientes dos aferentes sensoriais primários (HAN, 1982; HE, 1987; BOWSHER, 1993). No tronco cerebral, também é modulada a

atividade dos nervos cranianos, incluindo o sistema nervoso autonômico. Efeitos somáticos e viscerais são simultaneamente obtidos em resposta à estimulação neural periférica (CARNEIRO, 2001). A participação de opióides endógenos e sistema descendente de inibição da dor na acupuntura tem sido bastante demonstrada nos últimos anos (TAGUCHI et al., 2010; HAN, 2004; LIU et al., 2010; YANG, KOO, KIM et al., 2011; LEE et al., 2009; KIM et al., 2009; ALMEIDA, PEREZ, FRANCISCHI et al., 2008; LI, WANG, XIN et al., 2007; ZHANG, YU, LEE et al., 2005; KIM, ROH, YOON et al., 2006).

Um dos mecanismos mais importantes da analgesia mediada pela EA é a potencialização na liberação de peptídeos opiáceos no sistema nervoso central, que interagem com receptores opiáceos na indução de um efeito anti-nociceptivo. A eletroacupuntura estimula a liberação de ACTH (adrenocorticotropina) e β -lipotropina (β -LP β H) pela glândula hipófise que é a substância precursora da β -endorfina, ocorrendo, então, a ligação dessa com os receptores das fibras nervosas, bloqueando, assim, a passagem do impulso doloroso. As β -endorfinas permaneceriam circulando pelo organismo durante algumas horas, promovendo analgesia prolongada (LAPPER, BIEDERMANN, HEMTESD, 1987; STUX e POMERANZ, 2004).

Estudos experimentais vêm sendo desenvolvidos para comprovar a eficácia da EA nos mais variados modelos experimentais. Hwang (1992) verificou que ratos adultos possuem contagens de mastócitos naturalmente mais altas nos pontos de acupuntura que em outros locais. Além disso, os acupontos possuem propriedades elétricas diversas nas áreas adjacentes: condutância elevada, menor resistência, padrões de campo organizados e diferenças de potencial elétrico (ALTMAN, 1992). Kendall (1989) verificou que, em acupontos de ratos e humanos, podem ser observadas junções entre mastócitos e fibras nervosas aferentes e eferentes imunorreativas para o neurotransmissor substância P.

Funcionalmente, os mastócitos estão intimamente relacionados às reações de hipersensibilidade imediata, inflamação neurogênica e enfermidades parasitárias. Devido à gama de estímulos e agentes capazes de ativar o mastócito, tem sido também sugerida a participação da EA como adjuvante ou amplificador de respostas inflamatórias agudas (ABEL, 1995).

Considerando que mastócitos produzem interleucina 8 (IL-8), um potente agente quimiotático para neutrófilos (MÖLLER et al., 1993), a combinação das características descritas tornam o ponto de acupuntura extremamente reativo ao pequeno estímulo causado pela inserção da agulha (KENDALL, 1989).

No tocante a parâmetros de estimulação, ainda não está claro a melhor modalidade a ser indicada para tratamento algico. Taguchi (2007) realizou estudo com diferentes frequências em modelo experimental de dor inflamatória induzido por carragenina, e obteve maior eficácia na estimulação com baixa frequência (3 Hz), resultado também encontrado em outros estudos, em diferentes modelos de dor em ratos (ALOE, 2009; HWANG, 2002). Entretanto, tanto alta como baixa frequência apresentaram resultados significativos para reversão da hiperalgesia em modelo animal de torção de tornozelo, porém apenas a baixa frequência promoveu redução do edema (HAHM, 2007).

3 OBJETIVOS

3.1. Geral

Identificar os efeitos da eletroacupuntura e acupuntura no modelo experimental de fibromialgia induzido por injeção intramuscular de salina ácida.

3.2. Específico

- a) Investigar o efeito da eletroacupuntura na hiperalgesia mecânica;
- b) Identificar o efeito da eletroacupuntura na hiperalgesia térmica;
- c) Averiguar os efeitos da eletroacupuntura no desempenho motor;
- d) Comparar o efeito da EA de 15 Hz e 100 Hz, na reversão da hiperalgesia provocada pela injeção intramuscular de salina ácida.

4 MÉTODOS

4.1 Animais

Foram utilizados 24 ratos Wistar machos (250 a 350 g; Biotério da Universidade Federal de Sergipe) para este estudo, após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa Animal desta Universidade (CEPA/UFS), conforme protocolo nº88/10, seguindo as recomendações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e da Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP). Os animais foram mantidos no Laboratório de Pesquisa em Neurociências no Prédio de Medicina Experimental do Hospital Universitário, em número de 5 por gaiola de polipropileno, em ciclo claro-escuro de 12 h com temperatura mantida em 23°C ($\pm 1^\circ\text{C}$). Comida e água e estavam disponíveis para os animais *ad libitum*.

4.2 Indução da hiperalgesia muscular

Imediatamente após a mensuração dos valores basais de hiperalgesia mecânica e térmica, e desempenho motor, os animais foram anestesiados com isoflurano (2%-5%) e um volume de 100 μL de salina estéril com pH 4.0, calibrada em pHmetro, foi injetado no músculo gastrocnêmio esquerdo no dia 0 (injeção 1) e, novamente, no dia 5 (injeção 2). Esse procedimento produziu hiperalgesia mecânica bilateral persistente no músculo e na pata, bilateralmente, por um período de até 4 semanas (SLUKA et al., 2001).

4.3 Hiperalgesia mecânica

Para a avaliação do limiar mecânico de retirada da pata, foram utilizados os filamentos de von Frey aplicados diretamente à pata traseira. Inicialmente, os animais foram aclimatados em suas caixas por 30 minutos na sala de

comportamento. Na sequência, os animais ficaram 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. Séries de filamentos com resistência crescente (11,8 a 190,9 mN), calibrados em balança semi-automática de precisão foram aplicados bilateralmente, em duplicata, na superfície plantar das patas traseiras até que o animal manifestasse o comportamento de retirar a pata mediante o estímulo (GOPALKRISHNAN e SLUKA, 2000). A menor força aplicada na qual o animal retirou a pata de uma das duas aplicações, foi registrada como limiar mecânico de retirada da pata, e interpretada como hiperalgesia mecânica secundária (cutânea). Esse método tem demonstrado confiabilidade estatística (SLUKA et al., 1999).

As mensurações de limiar mecânico foram realizadas nos seguintes momentos: antes da primeira e da segunda injeção de salina ácida, 24 horas após a segunda injeção de salina ácida, e imediatamente antes e após aplicação da EA durante os dias de tratamento (Figura 1).

4.4 Hiperalgesia térmica

O teste foi realizado com os ratos sendo colocados em estrutura transparente de acrílico, em que a sua cauda fica sobre uma lâmina aquecida a 50°C por um período máximo de 20 segundos. Então, foi cronometrado o período que o rato leva até retirar a cauda da lâmina, sendo este tempo considerado como a latência.

Para confiabilidade do teste, os ratos foram aclimatados durante dois dias antes da injeção. Foram realizadas três sessões de 5 minutos com o aparelho desligado e intervalo de 30 minutos entre as séries. A cauda do rato era mantida sobre a lâmina pelo pesquisador, com a finalidade de aclimatar o animal naquela posição.

O teste de hiperalgesia térmica foi realizado em paralelo à mensuração do limiar mecânico e ao teste motor nos seguintes momentos: antes da

primeira e da segunda injeção de salina ácida, 24 horas após a segunda injeção de salina ácida, e imediatamente antes e após aplicação de cada recurso terapêutico nos cinco dias consecutivos de tratamento após a indução da dor muscular (Figura 1).

4.5 Teste motor

Os efeitos motores promovidos pela indução da hiperalgesia muscular nos animais foram testados através da esteira Rota-rod. Especificamente, os animais foram colocados no Rota-rod rodando a uma velocidade com crescimento gradual de 1 a 18 rotações por minuto (rpm) por 120 segundos e mantida por outros 30 segundos em 18 rpm (SLUKA et al., 2001). Para resultados confiáveis, os ratos foram treinados durante dois dias antes da injeção. Foram realizadas três sessões com três tentativas cada, tendo um intervalo maior que 2 horas entre as sessões e 5 minutos entre as séries. O tempo de desempenho, em segundos, foi registrado até que o rato tivesse dificuldade de permanecer na esteira ou completasse 150 segundos.

O teste motor foi realizado em paralelo com a mensuração do limiar mecânico nos seguintes momentos: antes da primeira e da segunda injeção de salina ácida, 24 horas após a segunda injeção de salina ácida, e imediatamente antes e após aplicação de cada recurso terapêutico nos cinco dias consecutivos de tratamento após a indução da dor muscular (Figura 1).

4.6 Eletroacupuntura

Para aplicação da eletroacupuntura, foram utilizadas agulhas filiformes, de aço inoxidável, as quais foram introduzidas nos pontos de acupuntura “Zusanli” (E36) na região proximal entre a tíbia e a fíbula e no “Sanyinjiao” (Bp6) localizado posterior ao maléolo medial, pontos conhecidos pela sua aplicabilidade científica para reversão de hiperalgesia em pata trazeira de ratos, demonstrados na figura 2 (SOMERS; CLEMENTE, 2009; HUANG, 2004), enquanto os ratos estavam anestesiados com isoflurano, inicialmente com 5% e mantidos a 2%, sendo fixados ao eletrodo através do cabo ou na base das

agulhas. A programação do aparelho (NKL® portátil) EL 608, previamente calibrado, emitiu a frequência de 15 Hz ou 100 Hz. As agulhas foram retiradas ao final dos 20 minutos de eletroestimulação (KIM et al. 2011).



Figura 1. Pontos de acupuntura utilizados para o tratamento, E36 e BP6.

Fonte: Arquivos do Laboratório de Pesquisa em Neurociência (LAPENE-UFS).

4.7 Delineamento experimental

Foi avaliada a habilidade anti-hiperalgésica da eletroacupuntura aplicada nos pontos “Sanyinjiao” e “Zusanli” após a indução da hiperalgesia pela injeção de salina ácida, e a eletroacupuntura teve sua aplicação durante cinco dias consecutivos, iniciando 24 h após a segunda injeção. O limiar de retirada mecânica da pata, o teste motor e o teste de hiperalgesia térmica foram realizados imediatamente antes da primeira e segunda injeção de salina ácida e prontamente antes e após a aplicação do tratamento, sendo que o avaliador não tinha conhecimento sobre o grupo a que cada animal pertencia. O tratamento foi realizado por 5 dias consecutivos (D6 – D10) e grupos controles foram submetidos ao mesmo processo de anestesia com isoflurano por 20 minutos que o realizado nos grupos de tratamento, sendo que no grupo controle acupuntura, as agulhas foram colocadas nos mesmos pontos que os grupos eletroacupuntura, sem transmissão de corrente elétrica, enquanto que no grupo controle, os animais não receberam nenhum tipo de tratamento. Os

animais foram divididos em quatro grupos experimentais: EA Alta Frequência (100Hz; n=6), EA Baixa Frequência (15Hz; n=6), Controle Acupuntura (n=6), Controle n=6).

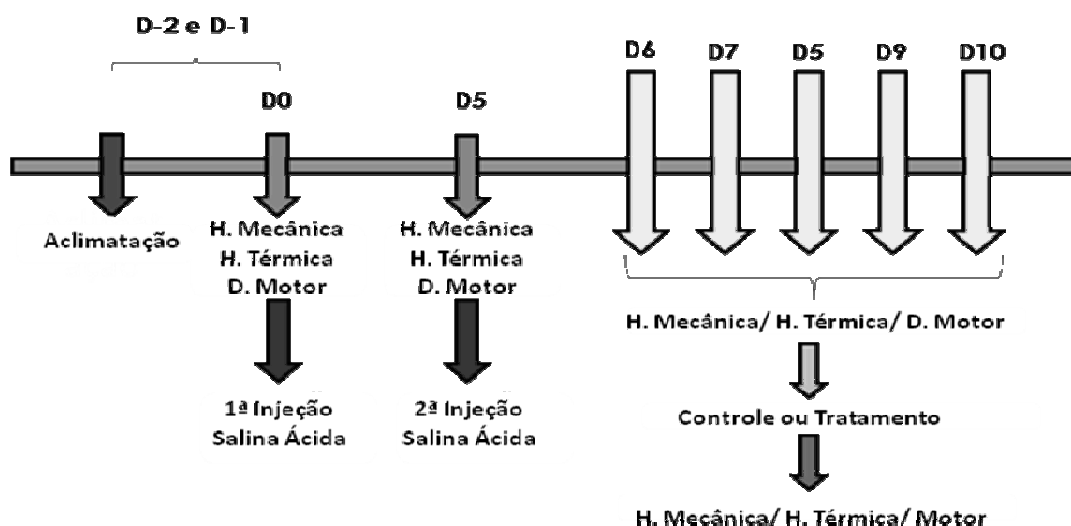


Figura 2. Linha do tempo do protocolo experimental. H: hiperalgesia. D: desempenho.

4.8 Análise Estatística

O limiar de retirada mecânica da pata foi testado para as diferenças entre grupos de tratamentos através do teste não-paramétrico Kruskal-Wallis e para as diferenças dentro do grupo com o Wilcoxon Matched Pairs. A latência e o desempenho motor foram testados para as diferenças entre grupos de tratamentos através do teste paramétrico ANOVA para medidas independentes e, para as diferenças dentro do grupo, foi usado o teste t para amostras pareadas. Post hoc teste de Tukey foi usado para múltiplas correções. Valores de p menor que 0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

5 RESULTADOS

5.1 Hiperalgesia Mecânica

Todos os grupos de animais apresentaram uma redução significativa do limiar mecânico de retirada da pata ($P < 0,03$) 24h após a segunda injeção de salina ácida. Entretanto, houve uma reversão significativa da hiperalgesia mecânica nos grupos tratados com EA 100Hz, EA 15Hz e acupuntura nos 5 dias consecutivos quando comparados ao controle e ao momento pré-tratamento ($p < 0,05$; Figura 3).

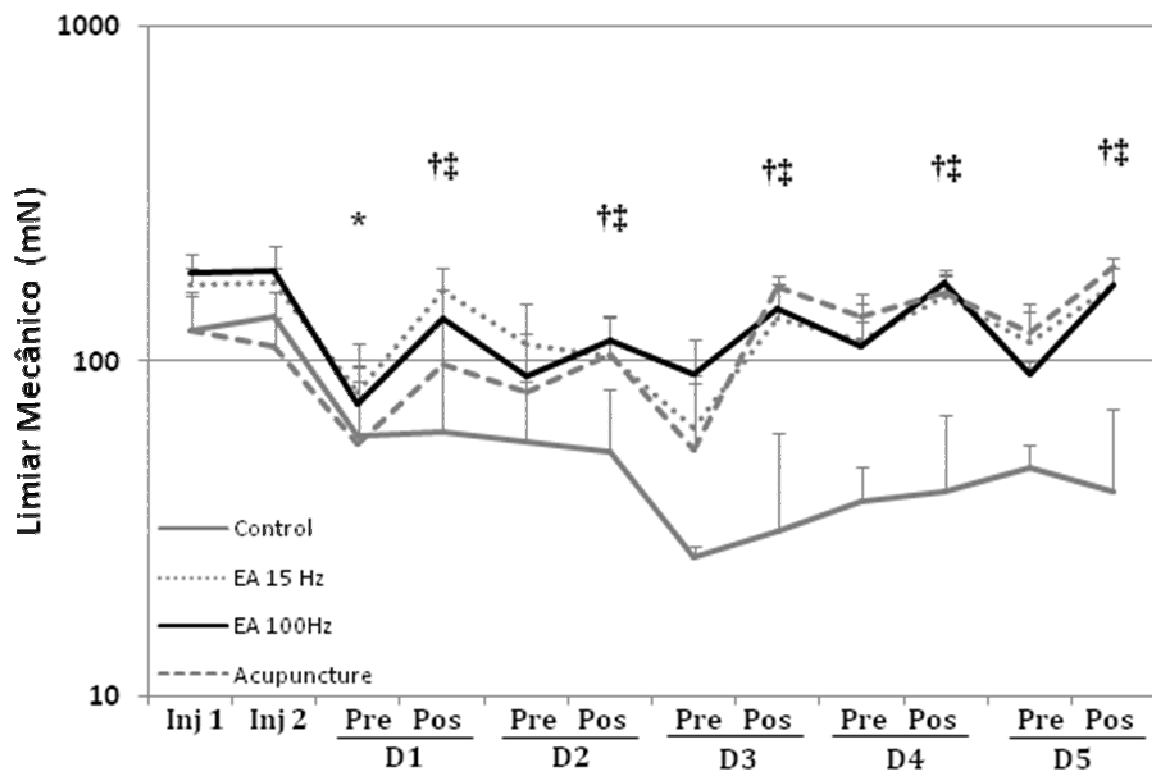


Figura 3. Gráfico de linhas representando o limiar mecânico (em mN) ipsilateral de retirada da pata nos grupos eletroacupuntura 15Hz e 100Hz, acupuntura e controle. Os valores foram apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. Inj: injeção. a: antes. d: depois. * $p < 0,03$ em relação a Inj 1 e Inj 2; † $p < 0,05$ e ‡ $p < 0,05$ em relação ao grupo controle e ao pré-tratamento, respectivamente. Teste Kruskal Wallis para medidas independentes, corrigido pelo teste Tukey, e teste Wilcoxon Matched Pairs para medidas pareadas.

5.2 Hiperalgesia Térmica

Vinte e quatro horas após indução da hiperalgesia muscular pela segunda injeção de salina ácida, a latência ($P < 0,001$) foi significativamente reduzida na cauda (Gráfico 2). Após administração dos tratamentos, houve reversão significativa da latência em todos os grupos tratados com acupuntura ou EA em relação ao controle ($P < 0,05$). Entretanto, os animais tratados com EA 15Hz apresentaram reversão da latência apenas no primeiros dois dias de tratamento ($P < 0,003$), enquanto os animais tratados com EA 100Hz e acupuntura tiveram sua latência revertida no momento imediato após a aplicação do tratamento nos primeiros 4 dias consecutivos ($P < 0,05$), perdendo, então eficácia na reversão da latência (Figura 4).

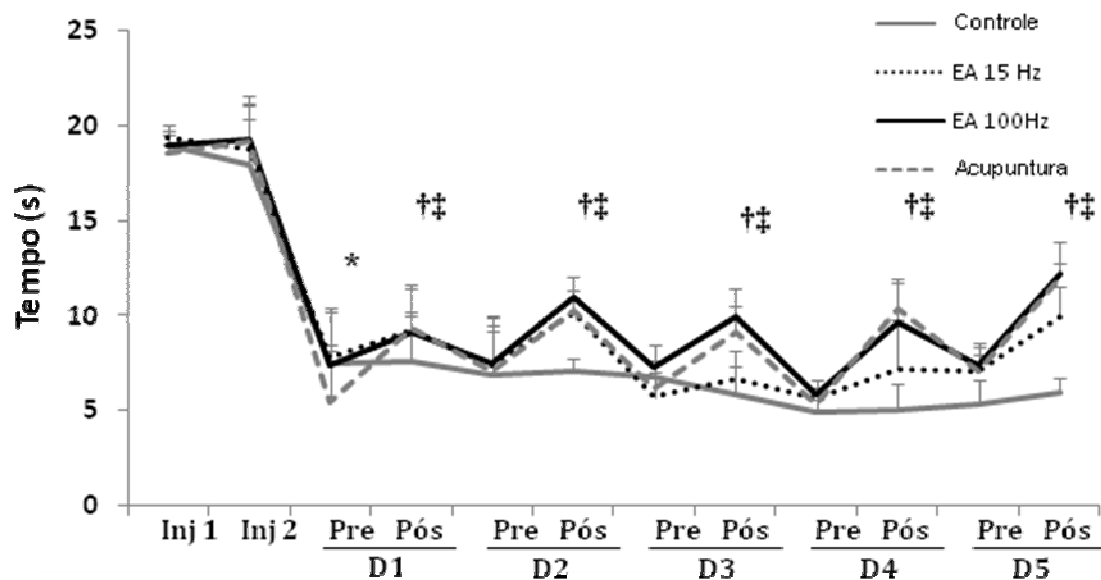


Figura 4. Gráfico de linhas representando a latência (em segundos) de retirada da cauda ipsilateral nos grupos eletroacupuntura 15Hz e 100Hz, acupuntura e controle. Os valores foram apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. Inj: injeção. a: antes. d: depois. * $p < 0,001$ em relação a Inj 1 e Inj 2; † $p < 0,05$ e ‡ $p < 0,05$ em relação ao grupo controle e ao pré-tratamento, respectivamente. Teste ANOVA para medidas pareadas e medidas independentes, corrigido pelo teste Tukey.

5.3 Teste Motor

No que concerne ao desempenho motor, houve uma redução significativa do tempo para realização do teste motor em todos os grupos de animais 24 horas após a segunda injeção de salina ácida ($P < 0,001$). Entretanto, o tempo foi significativamente superior em todos os dias de

tratamento após administração de EA 15Hz e 100Hz, bem como acupuntura somente, em relação ao grupo controle ($P < 0,05$) (Figura 5).

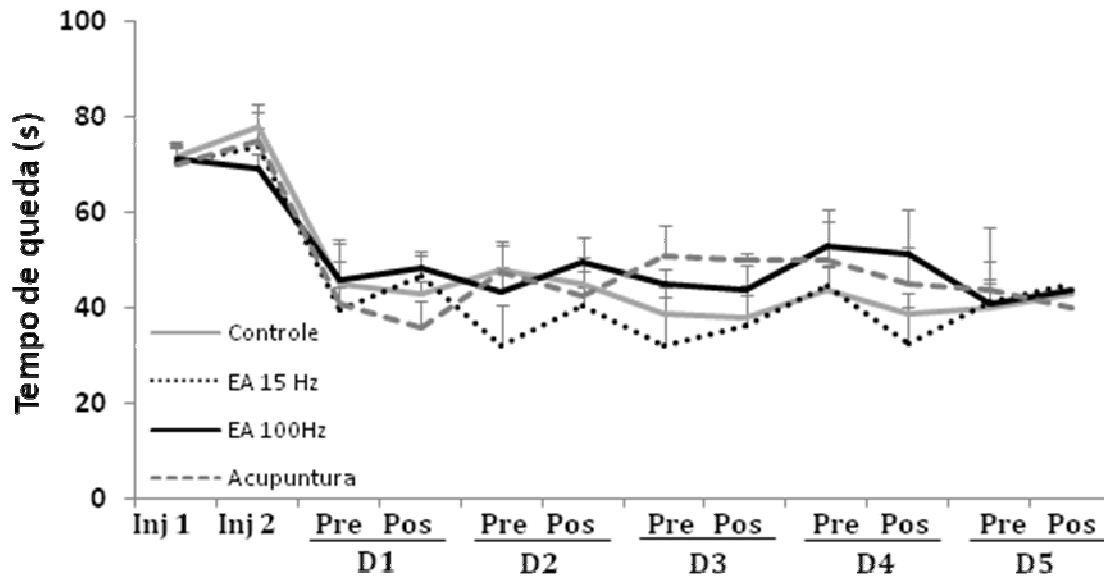


Figura 5. Gráfico de linhas representando o desempenho motor (em segundos) dos animais nos grupos eletroacupuntura 15Hz e 100Hz, acupuntura e controle. Os valores foram apresentados como média $\pm$ erro padrão da média. Inj: injeção. a: antes. d: depois. * $p < 0,001$ em relação a Inj 1 e Inj 2; † $p < 0,05$ e ‡ $p < 0,05$ em relação ao grupo controle e ao pré-tratamento, respectivamente. Teste ANOVA para medidas pareadas e medidas independentes, corrigido pelo teste Tukey.

6 DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo demonstram que a EA e acupuntura inibiram a hiperalgesia mecânica secundária e a hiperalgesia térmica associadas a dupla injeção intramuscular de salina ácida que gera hiperalgesia muscular, mimetizando, experimentalmente, a fibromialgia.

Para o nosso conhecimento, este é o primeiro trabalho de experimentação animal que investigou os efeitos da EA neste modelo animal da fibromialgia. Entretanto alguns estudos experimentais prévios encontraram resultados similares aos dados encontrados neste estudo, embora utilizando modelos de experimentação animal diferentes da FM, demonstraram que a EA promoveu redução da hiperalgesia mecânica, em modelos de dor inflamatória induzida por carragenina (TAGUCHI et al., 2010; YANG, KOO, KIM et al., 2011), fator de crescimento neural (ALOE et al., 2008), ou adjuvante de Freund (ZHANG et al. 2011a; ZHANG et al. 2011b; HUANG et al., 2004; CHEN, ZHANG, LI, et al, 2009; LI, WANG, XIN et al., 2007; ZHANG, YU, LEE et al., 2005), em modelos de dor neuropática após secção espinhal entre S3 e S4 (HWANG et al., 2002) e ligadura do nervo tibial anterior e sural (CHA et al., 2010), dor por torção do tornozelo (HAHM et al., 2007), ovariectomia em cadelas (GROPETTI et al., 2011) e em em ratas (LIU et al., 2010) e em modelo animal de indução cancerosa (LEE et al., 2009).

A acupuntura demonstrou eficiência na redução da hiperalgesia mecânica em modelo de dor neuropática (CIDRAL-FILHO, DA SILVA, MORÉ et al. 2011) modelo de dor induzida pela injeção de formalina (KIM, YEOM, YIN, et al 2010), no entanto , não houve diferença significativa entre a acupuntura e a EA em modelo de dor inflamatória induzida por adjuvante de Freund (HUANG, ZHAN, YU et al. 2009) e carragena (OH, BAI, CHO et al., 2006).

Nos primeiros 3 dias de tratamento, antes do momento de aplicação da EA ou acupuntura, foi observado que os valores do limiar mecânico tinha uma ligeira diminuição, sugerindo que o efeito anti-hiperalgesico promovido pelo

tratamento tinha declinado em comparação ao momento imediatamente após a EA, mas mantendo superior aos valores do grupo controle neste mesmo momento, entretanto nos 2 últimos dias, os valores pré e pós tratamento não apresentaram diferenças, nos permitindo identificar uma possível depleção da variação do limiar algico imediatamente antes e após a aplicação da EA ou acupuntura.

A EA e a acupuntura também foram capazes de promover redução da hiperalgesia térmica neste modelo de dor muscular não-inflamatória. Ambas as faixas de frequência da EA, bem como a acupuntura, foram capazes de manter a reversão imediata da hiperalgesia durante cinco dias consecutivos. Uma série de estudos evidenciaram efeito redutor da EA na sensibilidade térmica em modelos de dor inflamatória por injeção de adjuvante de Freund (CHEN, ZHANG, LI, et al, 2009; LI, WANG, XIN et al., 2007; ZHANG, YU, LEE et al., 2005) ou carragenina (KIM, UH, YOON et al., 2007), dor neuropática por secção entre S1 e S2 (PARK et al., 2010; PARK, KIM, KIM et al., 2009) e através do teste tail flick em ratos para verificar a eficácia de diferentes frequências de EA (SILVA, SILVA, PRADO et al., 2010). Entretanto, em estudos de dor inflamatória induzida por administração de adjuvante de Freund (HUANG et al., 2004) e dor neuropática (MA et al., 2008), não houve alterações significativas na hiperalgesia térmica entre grupos tratados com EA e controle.

No presente estudo, não foram encontradas alterações no tempo de permanência no rota-rod para os grupos tratados em relação ao momento pré-tratamento. Isso sugere que a acupuntura ou eletroacupuntura não exerceram efeito depressor do sistema nervoso central ou atuem relaxando a musculatura. A alteração no desempenho motor parece ter sido influenciada pelo desenvolvimento da hiperalgesia difusa, uma vez que houve redução do tempo de queda 24 horas após a segunda injeção, sem recuperação deste parâmetro nas demais mensurações realizadas ao longo dos cinco dias de tratamento.

Estudos que correlacionam a eletroacupuntura ao desempenho motor em modelo de hiperalgesia em ratos são escassos. Jia et al. (2010), evidenciaram melhora significativa na eficiência motora e coordenação em

ratos após indução do Parkinson por secção unilateral do feixe medial do prosencefalo, tratados com alta e baixa frequência de EA, porém apenas a alta frequência (100Hz), demonstrou melhora neste modelo para coordenação e desempenho motor.

Há poucas evidências nas ciências básica e aplicada que determinem a mais adequada faixa de frequência para aplicação da EA no manejo da dor e sua comparação com a acupuntura. Em nosso estudo, foram administrados tratamentos com eletroacupuntura de baixa (15Hz) e alta frequência (100Hz), bem como somente acupuntura, resultando em reversão da hiperalgesia mecânica secundária e térmica em todos os protocolos. Alguns estudos demonstraram a eficácia da EA de baixa frequência na reversão da hiperalgesia em modelo animal (TAGUCHI et al., 2007; ALOE et al., 2008; HWANG et al., 2002; SILVA, SILVA, PRADO, 2010; PARK, HAN, KIM et al., 2010; YANG, KOO, KIM et al., 2011; KIM et al. 2009; LI, WANG, XIN et al., 2007; ZHANG, YU, LEE et al., 2005), bem como seu efeito na redução de edema em ratos (HAHM et al., 2007; KIM, UH, YOON et al., 2008).

A EA de alta frequência demonstrou sua capacidade anti-hiperalgésica em modelo animal de torção articular (HAHM et al., 2007; KOO et al., 2002), dor inflamatória induzida por carragenina (KIM, UH, YOON et al., 2008), no teste de latência térmica mensurada através do tail flick (SILVA, SILVA, PRADO, 2010) e em modelo animal de dor orofacial (ALMEIDA, PEREZ, FRANCISCHI et al., 2008). Embora alguns estudos suportem que a utilização da EA tem vantagens analgésicas sobre a acupuntura (YIN e LIU, 2000; TIENYOU, 2000; CUI et al., 2004), nossos achados demonstraram efeito anti-hiperalgésico similar da acupuntura em comparação com a EA de 15Hz e 100Hz.

Após uso repetido da EA e acupuntura, observou-se manutenção da eficácia analgésica neste estudo. Alguns estudos demonstram o envolvimento do sistema opioide na mediação da hiperalgesia após a EA em ambas as faixas de frequência, o que poderia estimular o desenvolvimento de um efeito denominado tolerância analgésica. Similarmente aos nossos achados, aplicações consecutivas de EA por 3 dias em modelo de hipersensibilidade

visceral em ratos não desenvolveu tolerância analgésica ao tratamento com EA (TIAN, WANG, DING, 2008). Entretanto, alguns estudos demonstraram a participação do sistema opióide na anti-hiperalgesia promovida pela aplicação da eletroacupuntura através da administração de bloqueadores de receptores opióides μ e δ (TAGUCHI et al., 2010; HAN, 2004; LIU et al., 2010; YANG, KOO, KIM et al., 2011; LEE et al., 2009; KIM et al. 2009; ALMEIDA, PEREZ, FRANCISCHI et al., 2008; LI, WANG, XIN et al., 2007; ZHANG, YU, LEE et al., 2005; KIM, ROH, YOON et al., 2006).

A elevação nos níveis de β -endorfina plasmática foi evidenciado na utilização da EA em pós operatório de ovariectomia em cadelas (GROPETTI et al., 2011) e em ratas (LIU et al., 2010). O aumento dos níveis sanguíneos e cerebrais de β -endorfina foi demonstrado em modelo de indução cancerosa em ratos (LEE et al., 2009). Embora haja evidência para o envolvimento do sistema opioidérgico na mediação do efeito analgésico produzido pela EA, os presentes resultados indicaram que a hipoalgesia foi mantida pelos cinco dias, não perdendo eficácia terapêutica, demonstrando que, neste modelo de experimentação, não foi evidenciada perda da eficácia analgésica.

Já o envolvimento do sistema gabaérgico foi demonstrado por Park et al. (2010) em modelo de dor neuropática em ratos, em que o bloqueio de receptores GABA (A) e GABA (B) reverteu o efeito anti-hiperalgésico após a estimulação de EA de baixa frequência (2Hz). Em paralelo, a EA de 2Hz atua em receptores espinhais muscarínicos, visto que a administração de atropina reverteu os efeitos analgésicos produzidos pela EA (PARK, KIM, KIM et al., 2009; BAEK, CHOI, YANG et al 2005).

Os sistemas serotoninérgico e glutamatérgicos também tiveram suas participações na mediação do efeito da EA evidenciadas em estudos prévios. Em modelo de hiperalgesia induzida por adjuvante de Freund em ratos, houve liberação de serotonina e catecolaminas, demonstrando a ativação do sistema de inibição descendente da dor (LI, WANG, XIN et al., 2007). A EA demonstrou uma diminuição na fosforilação das sub-unidades espinhais de receptores NMDA (N-metil-D-aspartato), demonstrando também o envolvimento destas estruturas no processo de analgesia por estimulação da

EA (TIAN, WANG, DING, 2008; JUNG, LEE, LEE et al., 2010; CHEN, YANG, SHI, et al 2003).

Estudos investigaram efeitos anti-hiperalgésicos de estratégias terapêuticas farmacológicas e não-farmacológicas no modelo experimental da FM em ratos. A redução da hiperalgesia produzida por morfina, DAMGO e SNC80, agonistas seletivos de receptores opióides, foi prevenida pelo bloqueio de receptores opióides μ e δ , mas não κ . Assim, a ativação de receptores opióides espinhais μ e δ reduz a hiperalgesia mecânica seguindo injeção intramuscular repetida de salina ácida (SLUKA et al., 2002).

Pregabalina reduziu hiperalgesia mecânica neste modelo de FM, mas doses elevadas comprometeram o desempenho motor (YOKOHAMA et al., 2007) e a combinação de Tramadol e Milnacipran potencializaram o efeito analgésico neste modelo animal (KIM et al., 2009). A reversão da hiperalgesia mecânica secundária foi evidenciada após o exercício aeróbico de baixa intensidade (BEMENT E SLUKA, 2005, SHARMA et al., 2010). Além disso, a anti-hiperalgesia produzida pelo exercício foi revertida pela naloxona, sugerindo a ativação do sistema opióide neste modelo (BEMENT e SLUKA, 2005).

Estudos tentam demonstrar os mecanismos presentes no desenvolvimento da FM. Bloqueio de receptores NMDA na região rostro ventromedial do bulbo reverte a hiperalgesia muscular e cutânea em modelo de dor crônica, entretanto o bloqueio destes receptores no núcleo reticular gigantocelular reduz apenas a hiperalgesia cutânea (DA SILVA, DESANTANA, SLUKA, 2009). SLUKA (2009) sugeriu que a diminuição das aminas biogênicas globais pode ser um importante contribuinte para o desenvolvimento da hiperalgesia e depressão, comumente observados nos pacientes com FM. Um modelo de dor humana experimental foi desenvolvido, em que uma infusão de tampão fosfato ácido foi injetada no músculo tibial anterior (pH 5,2 ou pH 7,3), e promoveu uma hiperalgesia mecânica dose-dependente, demonstrando que a acidose muscular pode desenvolver dor local e dor referida (FREY LAW, SLUKA, MCMULLEN et al., 2008).

Clinicamente, a utilização da EA em pacientes com FM foi investigada em apenas um ensaio clínico controlado. Nesse estudo, pacientes fibromiálgicos foram tratados com seis sessões de EA durante três semanas, utilizando, como parâmetros, frequência variada entre 1 e 99Hz, com intensidade em nível de contração motora. Em comparação ao grupo controle, os sujeitos tratados apresentaram efeitos analgésicos importantes, com redução da intensidade e distribuição da dor, bem como no consumo de analgésico, aumento do limiar de dor por pressão e melhora na qualidade do sono (DELUZE, BOSIA, ZIRBS et al., 1992).

7 CONCLUSÃO

A eletroacupuntura de baixa e alta frequência, bem como a acupuntura apresentam efeito anti-hiperalgésico similar no modelo animal de dor muscular crônica difusa não-inflamatória produzida pela dupla injeção de salina ácida (pH 4.0).

A reversão da hiperalgesia mecânica e termica foi evidenciado e todos os grupos de tratamento, entretanto o desempenho motor não apresentou diferença significativa.

REFERÊNCIAS

Abel MNC. Modulação da permeabilidade vascular pela solução hipertônica de cloreto de sódio. São Paulo, 1985. 83p. Tese (Doutorado em Patologia Experimental e Comparada) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 1995.

Almeida RT, Perez AC, Francischi JN et al., Opioidergic orofacial antinociception induced by electroacupuncture at acupoint St36. Braz J Med Biol Res. 2008 Jul;41(7):621-6. Epub 2008 Jun 30.

Aloe L, Manni L. Low-frequency electro-acupuncture reduces the nociceptive response and the pain mediator enhancement induced by nerve growth factor, Neurosci Lett. 16;449(3):173-7. 2008.

Altman S. Acupuncture as an emergency treatment. California veterinarian, v.15, n.1, p.6-8, 1979.

Amestoy RDF. Eletroterapia e Eletroacupuntura. Florianópolis: Bristot, 1998. p. 8, 263-306.

Andrade ES, De Paula VRM, De Paula GM. Teorias elucidativas da redução da dor pela eletroacupuntura. Uberlândia/MG. 2003;1(3): 29-33

Baek YH, Choi DY, Yang HI, Park DS et al., Analgesic effect of electroacupuncture on inflammatory pain in the rat model of collagen-induced arthritis: mediation by cholinergic and serotonergic receptors. Brain Res. 2005 Sep 28;1057(1-2):181-5.

Bement MK, Sluka KA: Low-intensity exercise reverses chronic muscle pain in the rat in a naloxone-dependent manner. Arch Phys Med Rehabil 2005, 86:1736–1740.

Bengtsson A, Henriksson KG. The muscle in fibromyalgia- a review of Swedish studies. J Rheumatol Suppl 1989, 19:144–149

Bossut DF, Huang ZS, Sun SL, Mayer DJ. Electroacupuncture in rats: evidence for naloxone and naltrexone potentiation of analgesia. Brain Res. 1991;549:36–46.

Bowsher D. The physiology of stimulation-produced analgesia, J. Br. Med. Acupunct. Soc., 9 (1993) 58-62.

Busch AJ, Barber KA, Overend TJ, et al.: Exercise for treating fibromyalgia syndrome. Cochrane Database Syst Rev 2007, CD003786.

Cailliet R. Dor: mecanismo e tratamento. Porto Alegre: Artmed, 1999.

Carneiro NM. Fundamentos da Acupuntura Médica, Editora Sistema: 2001.

Cassar MP. Manual de massagem terapêutica. 1. ed. Editora Manole, São Paulo – SP, 2001.

Ceniceros S, Brown GR. Acupuncture: a review of its history, theories, and indications. South Med J. 1998;91(12):1121-5.

Cha MH, Bai SJ, Lee KH et al., Acute electroacupuncture inhibits nitric oxide synthase expression in the spinal cord of neuropathic rats. Neurol Res. 2010 Feb;32 Suppl 1:96-100.

Chandran P, Sluka KA. Development of opioid tolerance with repeated transcutaneous electrical nerve stimulation administration. Pain, Seattle, v. 102, n. 1-2, p. 195-201, Mar. 2003.

Chapman CR, Benedetti C, Colpitts YH, Gerlach R. Naloxone fails to reverse pain thresholds elevated by acupuncture: acupuncture analgesia reconsidered. Pain. 1983.

Chapman CR, Colpitts YM, Benedetti C, Kitaef R, Gehrig JD. Evoked potential assessment of acupunctural analgesia: attempted reversal with naloxone. Pain. 1980;9:183–197.

Chen W, Yang J, Shi J, Liu X, Guan X et al., Effects of electroacupuncture on the pain threshold and the NMDA R1 mRNA in DRG on neuropathic pain rats. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci. 2003;23(2):108-11.

Chen L, Zhang J, Li F, Qiu Y, Wang L, Li YH, et al. Endogenous anandamide and cannabinoid receptor-2 contribute to electroacupuncture analgesia in rats. J Pain. 2009 Jul;10(7):732-9. Epub 2009 May 5.

Chonghuo T. Tratado de medicina chinesa, Ed. Roca, São Paulo, 1993.

Clauw DJ, Crofford LJ. Chronic widespread pain and fibromyalgia: what we know, and what we need to know? Best Pract Res Clin Rheumatol 2003, 17:685–701.

Cidral-Filho FJ, da Silva MD, Moré AO et al. Manual acupuncture inhibits mechanical hypersensitivity induced by spinal nerve ligation in rats. Neuroscience. 2011 Oct 13;193:370-6. Epub 2011 Aug 4

Crombie IK, Croft PR, Linton SJ, LeResche L, Von Korff M, editors. Epidemiology of pain. Seattle: IASP Press; 1999.

Cui H, Hong X, Chan LH. Estudio clínico de 30 casos de depresión mental tratados mediante electroacupuntura. J Tradit Chin Med. 2004;24(3):172-6

DaSilva LF, Desantana JM, Sluka KA. Activation of NMDA receptors in the brainstem, rostral ventromedial medulla, and nucleus reticularis gigantocellularis mediates mechanical hyperalgesia produced by repeated intramuscular injections of acidic saline in rats. *J Pain*. 2010 Apr;11(4):378-87. Epub 2009 Oct 22.

Deluze C, Bosia L, Zirbs A, et al., Electroacupuncture in fibromyalgia: results of a controlled trial. *BMJ*. 1992 Nov 21;305(6864):1249-52.

DeSantana JM, Sluka KA. Central Mechanisms in the Maintenance of Chronic Widespread Noninflammatory Muscle Pain, *Curr Pain Headache Rep*. 2008 Oct;12(5):338-43.

Forth W, Beyer A, Peter K. Highly potent analgesics: opiates and opioids. In: FORTH, W.; BEYER, A.; PETER, K. *Alívio da dor: uma visão analítica das vantagens e desvantagens da moderna administração da dor*. São Paulo: Hoechst, 1995. 40-49 p.

Frey Law LA, Sluka KA, McMullen T et al., Acidic buffer induced muscle pain evokes referred pain and mechanical hyperalgesia in humans. *Pain*. 2008 Nov 30;140(2):254-64. Epub 2008 Oct 2.

Garcia MLB, Calich I. Artrites e artralguas. In: Martins MA, Bensenor IM, Atta J, (editores). *Semiologia clínica*. São Paulo: Savier; 2002. p. 566-74.

Giovengo SL, Russell IJ, Larson AA. Increased concentrations of nerve growth factor in cerebrospinal fluid of patients with fibromyalgia. *J Rheumatol*. 1999 Jul;26(7):1564-9.

Gopalkrishnan P, Sluka KA. Effect of varying frequency, intensity, and pulse duration of transcutaneous electrical nerve stimulation on primary hyperalgesia in inflamed rats. *Arch Phys Med Rehabil*. 2000 Jul;81(7):984-90.

Graven-Nielsen T, Aspegren KS, Henriksson KG et al.: Ketamine reduces muscle pain, temporal summation, and referred pain in fibromyalgia patients. *Pain* 2000, 85:483–491.

Groppetti D, Pecile AM, Sacerdote P, Bronzo V, Ravasio G. Effectiveness of electroacupuncture analgesia compared with opioid administration in a dog model: a pilot study. *Br J Anaesth*. 2011 Oct;107(4):612-8. Epub 2011 Jul 12.

Hahm TS, The effect of 2Hz and 100Hz electrical stimulation of acupoint on ankle sprain in rats, *J Korean Med Sci*. 22(2):347-51, 2007.

Han JS. Acupuncture and endorphins, *Neurosci Lett*. 2004 May 6;361(1-3):258-61.

Han JS. Terenius L., Neurochemical basis of acupuncture analgesia, *Ann. Rev. Pharmacol Toxicol.*, 22 (1982) 193-220.

Harbach H, Moll B, Boedeker RH, Vigelius-Rauch U, Otto H, Muehling J et al. Minimal immunoreactive plasma beta-endorphin and decrease of cortisol at standard analgesia or different acupuncture techniques. *Eur J Anaesthesiol.* 2006;12:1–7.

He LF, Involvement of endogenous opioid peptides in acupuncture analgesia, *Pain*, 31 (1987) 99-121.

Henriksson KG, Bengtsson A. Fibromyalgia-a clinical entity? *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 1991;69:672-677.

Hoeger-Bement MK, Sluka KA: Phosphorylation of CREB and mechanical hyperalgesia is reversed by blockade of the cAMP pathway in a time-dependent manner after repeated intramuscular acid injections. *J Neurosci* 2003, 23:5437–5445.

Holth HS, Werpen HK, Zwart JA, Hagen K Holth HS. et al. Physical inactivity is associated with chronic musculoskeletal complaints 11 years later: results from the Nord-Trondelag Health Study. *BMC Musculoskelet Disord*, v. 1, n. 9, p. 159, 2008.

Huang C, Hu ZP, Long H, Shi YS, Han JS, Wan Y, Attenuation of mechanical but not thermal hyperalgesia by electroacupuncture with the involvement of opioids in rat model of chronic inflammatory pain, *Brain Res Bull.* 15;63(2):99-103, 2004.

Huang H, Zhan R, Yu XJ et al. Effects of acupoint-nerve block on mast cell activity, manual acupuncture- and electroacupuncture-induced analgesia in adjuvant arthritis rats. *Zhen Ci Yan Jiu.* 2009 Feb;34(1):31-5, 56.

Hurley DA, Minder PM, McDonough SM, Walsh DM, Moore AP, Baxter D. Interferential therapy electrode placement technique in acute low back pain: a preliminary study. *Arch Phys Med Rehabil* 2001;82:485-93.

Hwang BG, Min BI, Kim JH, Na HS, Park DS, Effects of electroacupuncture on the mechanical allodynia in the rat model of neuropathic pain, *Neurosci Lett.* 320(1-2):49-52, 2002.

Hwang YC. Anatomy and classification of acupoints. *Problems in Veterinary Medicine*, v.4, n.1, p.12-15, 1992.

Mogil JS, Sternberg WF, Marek P, Sadowski B, Belknap JK, Liebeskind JC, The genetics of pain and pain inhibition, *Proc. Natl.Acad. Sci. USA* 93 (1996) 3048–3055.

Jia J, et al., Electro-acupuncture stimulation acts on the basal ganglia output pathway to ameliorate motor impairment in Parkinsonian model rats. *Behav Neurosci.* 2010 Apr;124(2):305-10.

Jung TG, Lee JH, Lee IS et al., Involvement of intracellular calcium on the phosphorylation of spinal N-methyl-D-aspartate receptor following electroacupuncture stimulation in rats. *Acta Histochem.* 2010 Mar;112(2):127-32. Epub 2008 Dec 3.

Kaptchuk TJ. Acupuncture: theory, efficacy, and practice. *Ann Intern Med.* 2002;136:374-83.

Kendall, DE. A scientific model for acupuncture. Part I. *American Journal of Acupuncture (California)*, v.17, n.3, p.251-268, 1989.

Kim HW, Roh DH, Yoon SY et al., The anti-inflammatory effects of low- and high-frequency electroacupuncture are mediated by peripheral opioids in a mouse air pouch inflammation model. *J Altern Complement Med.* 2006 Jan-Feb;12(1):39-44.

Kim HW, Uh DK, Yoon SY et al., Low-frequency electroacupuncture suppresses carrageenan-induced paw inflammation in mice via sympathetic post-ganglionic neurons, while high-frequency EA suppression is mediated by the sympathoadrenal medullary axis. *Brain Res Bull.* 2008 Mar 28;75(5):698-705. Epub 2007 Dec 26.

Kim HY, Wang J, Lee I, Kim HK, Chung K, Chung JM. Electroacupuncture suppresses capsaicin-induced secondary hyperalgesia through an endogenous spinal opioid mechanism. *Pain.* 2009 Oct;145(3):332-40. Epub 2009 Jul 30.

Kim JH, Kim HY, Chung K, Chung JM. Electroacupuncture reduces the evoked responses of the spinal dorsal horn neurons in ankle-sprained rats. *J Neurophysiol.* 2011 May;105(5):2050-7. Epub 2011 Mar 9.

Kim JH, Kim HY, Chung K, Chung JM et al. Electroacupuncture reduces the evoked responses of the spinal dorsal horn neurons in ankle sprained rats. *J Neurophysiol*, 2011:00853.2010.

Kim GH, Yeom M, Yin CS, et al, Acupuncture manipulation enhances anti-nociceptive effect on formalin-induced pain in rats. *Neurol Res.* 2010 Feb;32 Suppl 1:92-5.

Konrad K, Cordeiro SM, Coeli M. Dor. Fisiopatologia e tratamento. In: LIANZA, S. *Medicina de Reabilitação*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 137-150 p.

Koo ST, Park YI, Lim KS, Chung K, Chung JM. Acupuncture analgesia in a new rat model of ankle sprain pain. *Pain.* 2002;99:423–431.

Koo ST, Park YI, Lim KS, et al. Acupuncture analgesia in a new rat model of ankle sprain pain. *Pain* 2002; 99: 423–431.

Kosek E, Hansson P: Modulatory influence on somatosensory perception from vibration and heterotopic noxious conditioning stimulation (HNCS) in fibromyalgia patients and healthy subjects. *Pain* 1997, 70:41–51.

Labrada A, Jiménez-García Y. Preventive multimodal analgesia: a comparative study. *Revista de la Sociedad Española del Dolor*, Madrid, v. 11, n. 3, p. 122-128, abr. 2004.

Lapper GL, Biedermann HJ, Hemtesd JJ. Acupuncture analgesia for postoperative dental pain. *Source J Can Dent Assoc*, 1987 Jun, 53:6, 479-80.

Lee HJ, Lee JH, Lee EO et al., Substance P and beta endorphin mediate electroacupuncture induced analgesic activity in mouse cancer pain model. *Acupunct Electrother Res*. 2009;34(1-2):27-40.

Lee MH, Liao SJ.. Acupuntura em Fisiatria. In: Kottke, F. J.; Lehmann, J. F. *Tratado de Medicina Física e Reabilitação de Krusen*. v.1, 4ªed. Manole: São Paulo, 1994.

LeResche L. Epidemiologic perspectives on sex differences in pain. In Fillingim RB, editor. *Sex, gender, and pain. Progress in pain research and management*, Vol. 17. Seattle: IASP Press; 2000. p. 233-49.

Lewith GT, White PJ, Pariente J. Investigating acupuncture using brain imaging techniques: the current state of play. *Evidencebased Complementary and Alternative Medicine*. 2005;2(3):315-9. 7.

Li A, Wang Y, Xin J et al., Electroacupuncture suppresses hyperalgesia and spinal Fos expression by activating the descending inhibitory system. *Brain Res*. 2007 Dec;1186:171-9. Epub 2007 Oct 22.

Lima AB, Oliveira F. Abordagem Psicossocial da LER: Ideologia da culpabilização e grupos de qualidade de vida. In: Almeida, M.C. & Codo, W. (Orgs). *LER: Diagnostico, tratamento e prevenção: uma abordagem interdisciplinar*. Petrópolis: Vozes, 1995. p. 136-159.

Lindgren, H, Bergman S. Chronic musculoskeletal pain predicted hospitalisation due to serious medical conditions in a 10 year follow up study. *BMC Musculoskeletal Disorders*, v. 18, n. 11, p. 127, 2010.

Liu JL, Chen SP, Gao YH, Meng FY, Wang SB, Wang JY. Effects of repeated electroacupuncture on beta-endorphin and adrenocorticotrophic hormone levels in the hypothalamus and pituitary in rats with chronic pain and ovariectomy. *Chin J Integr Med*. 2010 Aug;16(4):315-23. Epub 2010 Aug 10.

Löfgren M, Norrbrink C. Pain relief in women with fibromyalgia: a cross-over study of superficial warmth stimulation and transcutaneous electrical nerve stimulation. *J Rehabil Med*. 2009 Jun;41(7):557-62.

Low J, Reed A. Eletroterapia explicada. 3. ed. São Paulo: Manole, 2001. 472 p.

Ma C et al. Effects of electroacupuncture on glutamate and aspartic acid contents in the dorsal root ganglion and spinal cord in rats with neuropathic pain. Zhen Ci Yan Jiu. 2008 Aug;33(4):250-4.

Main CJ, Williams AC. Musculoskeletal pain. BMJ 2002;325(7363):534-7.

Manica J. Anestesiologia: principios e técnicas. 3a edição, Porto Alegre: Artmed. 2004.

Mao-Liang Q. Acupuntura Chinesa e Moxabustão. São Paulo: Roca, 2001.

Martinez JE, Atra E, Ferraz MB, Silva PSB: Fibromialgia: aspectos clínicos e socioeconômicos. Rev Bras Reumatol 32: 225-230, 1992.

Martinez JE, Ferraz MB, Sato EI, et al. Fibromyalgia versus rheumatoid arthritis: a longitudinal comparison of quality of life. J Rheumatol 1995;22(2):270-4.

Martinez JE, Santos BZC, Fasolin RP, et al. Perfil de pacientes com queixa de dor músculo-esquelética em unidade básica em Sorocaba. Rev Bras Clin Med 2008;6(5):167-71.

McLennan H, Gilfillan K, Heap Y. Some pharmacological observations on the analgesia induced by acupuncture in rabbits. Pain. 1977;3:229–238.

Melzack R. WALL, P. D. Textbook of Pain. 4.ed. Londres: Churchill Livingstone, v. 18, 1999.

Mersky YH. Classification of chronic pain. Descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms. Prepared by the International Association for the Study of Pain, Subcommittee on Taxonomy. Pain Suppl, Amsterdam, v.3, p.S1-S226, 1986.

Moller A, Lippert U, Lessman et al. Human mast cells produce IL-8. The Journal of Immunology, v.151, n.6, p.3261-3266, 1993.

National Research Council & Institute of Medicine (NRC & IM) Musculoskeletal disorders and the workplace: low back and upper extremities. Panel on musculoskeletal disorders and the workplace. Commission on behavioral and social sciences and education. Washington, DC: National Academy Press, 2001.

Nielsen AN, Mathiesen C, Blackburn-Munro G: Pharmacological characterisation of acid-induced muscle allodynia in rats. Eur J Pharmacol 2004, 487:93–103.

Oh JH, Bai SJ, Cho ZH, Han HC, Min SS, Shim I, Lee HJ, Lee H, Lee BH, Pain-relieving effects of acupuncture and electroacupuncture in an animal model of arthritic pain. *Int J Neurosci*. 2006 Oct;116(10):1139-56.

Park JH, Han JB, Kim SK et al., Spinal GABA receptors mediate the suppressive effect of electroacupuncture on cold allodynia in rats. *Brain Res*. 2010 Mar 31;1322:24-9. Epub 2010 Feb 6.

Park JH, Kim SK, Kim HN et al., Spinal cholinergic mechanism of the relieving effects of electroacupuncture on cold and warm allodynia in a rat model of neuropathic pain. *J Physiol Sci*. 2009 Jul;59(4):291-8. Epub 2009 Apr 3.

Park HJ et al. Acupuncture prevents 6-hydroxydopamine-induced neuronal death in the nigrostriatal dopaminergic system in the rat Parkinson's disease model. *Experimental Neurology*. Noruega, v.180, 2003.

Pereira KS, Preemptive analgesia with peripheral neural stimulation (acupuncture) for patients of surgery of third molar inferiors with osteotomy. *Rev. Dor*, 9(3): 1283-1289, 2008.

Pomeranz B, Naloxone blockade of acupuncture analgesia: endorphin implicated, *Life Sci*, 19 (1976) 1757-1762.

Pontes RMC, Prado WA. Presurgical ketoprofen, but not morphine, dipyrone, diclofenac, preempts post-incisional mechanical allodynia in rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, Ribeirão Preto, v. 35, n. 1, p. 11-119, jan. 2002.

Radhakrishnan R, Sluka KA: Spinal muscarinic receptors are activated during low or high frequency TENS-induced antihyperalgesia in rats. *Neuropharmacology* 2003, 45:1111–1119.

Robison AJ, Mackler LS. *Eletrofisiologia clinica: eletroterapia e testes eletrofisiológicos*, 2ª ed. Porto Alegre: Art. Merd. 2001.

Roux CH, Guillemin F, Boini S et al. Impact of musculoskeletal disorders on quality of life: an inception cohort study. *Ann Rheum Dis* 2005;64(4):606-11.

Ruof J, Hulsemann J, Stucki G: Evaluation of costs in rheumatic diseases: a literature review. *Curr Opin Rheumatol* 11: 104-111, 1999.

Russell IJ, Orr MD, Littman B, Vipraio GA, Alboukrek D, Michalek JE et al. Elevated cerebrospinal fluid levels of substance P in patients with the fibromyalgia syndrome. *Arthritis Rheum*. 1994 Nov;37(11):1593-601.

Sato L et al. Atividade em grupo com portadores de LER e achados sobre a dimensão psicossocial. *Revista Brasileira de Saúde Ocupacional*, São Paulo, v. 21, n. 79, p 49-62, 1993.

Seda H: Reumatismo, conceito, historia, nomenclatura, classificação, epidemiologia. In H. Seda. Reumatologia, 2ª ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 3-24, 1982.

Silva JR, Silva ML, Prado WA, Analgesia induced by 2- or 100Hz electroacupuncture in the rat tail-flick test depends on the activation of different descending pain inhibitory mechanisms. *J Pain*. 2011 Jan;12(1):51-60. Epub 2010 Jun 16.

Siqueira JTT, Teixeira MJ. Dor Orofacial: Diagnóstico, Terapêutica & Qualidade de Vida; Editora Maio: 2002.

Skyba DA, King EW, Sluka KA: Effects of NMDA and non-NMDA ionotropic glutamate receptor antagonists on the development and maintenance of hyperalgesia induced by repeated intramuscular injection of acidic saline. *Pain* 2002, 98:69–78.

Skyba DA, Lisi TL, Sluka KA: Excitatory amino acid concentrations increase in the spinal cord dorsal horn after repeated intramuscular injection of acidic saline. *Pain* 2005, 119:142–149.

Sluka KA, Wright A. Knee joint mobilization reduces secondary mechanical hyperalgesia induced by capsaicin injection into the ankle joint. *Eur J Pain* 2001;5:81–7.

Sluka KS. Is it possible to develop an animal model of fibromyalgia. *Pain*. 2009 November; 146(1-2): 3–4.

Sluka KA, Kalra A, Moore SA: Unilateral intramuscular injections of acidic saline produce a bilateral, long-lasting hyperalgesia. *Muscle Nerve* 2001, 24:37–46.

Sluka KA, Kalra A, Moore SA: Unilateral intramuscular injections of acidic saline produce a bilateral, long-lasting hyperalgesia. *Muscle Nerve* 2001, 24:37–46.

Sluka KA, Rohlwing JJ, Bussey RA, et al.: Chronic muscle pain induced by repeated acid injection is reversed by spinally administered mu- and delta-, but not kappa-, opioid receptor agonists. *J Pharmacol Exp Ther* 2002, 302:1146–1150.

Sluka KA: Stimulation of deep somatic tissue with capsaicin produces long-lasting mechanical allodynia and heat hypoalgesia that depends on early activation of the cAMP pathway. *J Neurosci* 2002, 22:5687–5693.

Sluka KA et al. Spinal blockade of opioid receptors prevents the analgesia produced by TENS in arthritic rats. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, Bethesda, v. 289, n. 2, p. 840-846, May. 1999.

Smith GR, Monson RA, Ray DC. Patients with multiple unexplained symptoms. Their characteristics, functional health, and health care utilization. Archives of Internal Medicine, v.146, n.1, p.69-72, Jan. 1986.

Sofaer B. Assessing pain. In: Pain: a handbook for nurses. 2. ed. New York: Chapman & Hall, 1994. 44-57 p.

Sokka T. Assessment of pain in patients with rheumatic diseases. Best Pract Clin Rheumatol 2003;17(3):427-49.

Somers DL, Clemente FR. Contralateral high or a combination of high- and low-frequency transcutaneous electrical nerve stimulation reduces mechanical allodynia and alters dorsal horn neurotransmitter content in neuropathic rats. The Journal of Pain 2009 pp221-229.

Sörensen J, Graven-Nielsen T, Henriksson KG et al.: Hyperexcitability in fibromyalgia. J Rheumatol 1998, 25:152–155.

Sprott, H. What Can Rehabilitation Interventions Achieve in Patients With Primary Fibromyalgia? Curr Opin Rheumatol 15(2):145-150, 2003.

Starkey C. Agentes elétricos. In: Recursos terapêuticos em fisioterapia. São Paulo: Manole, 2001. 176-276 p.

Staud R, Carl KE, Vierck CJ et al.: Repetitive muscle stimuli result in enhanced wind-up of fibromyalgia patients. Arthritis Rheum 2001, 44:S395.

Staud R, Rodriguez ME: Mechanisms of disease: pain in fibromyalgia syndrome. Nat Clin Pract Rheumatol 2006, 2:90–98.

Staud R, Vierck CJ, Cannon RL, et al.: Abnormal sensitization and temporal summation of second pain (wind-up) in patients with fibromyalgia syndrome. Pain 2001, 91:165–175.

Staud R, Vierck CJ, Robinson ME, et al.: Effects of the N-methyl-D-aspartate receptor antagonist dextromethorphan on temporal summation of pain are similar in fibromyalgia patients and normal control subjects. J Pain 2005, 6:323–332.

Stux G. Pomeranz B. Bases da Acupuntura. São Paulo: Ed. Premier, 2004.

Sunshine W, Field TM, Quintino O et al., Fibromyalgia benefits from massage therapy and transcutaneous electrical stimulation. J Clin Rheumatol. 1996 Feb;2(1):18-22.

Taguchi R, Taguchi T, Kitakoji H. Involvement of peripheral opioid receptors in electroacupuncture analgesia for carrageenan-induced hyperalgesia, Brain Res. 8;1355:97-103. 2010.

Taguchi T, Taguchi R. Effect of varying frequency and duration of electroacupuncture stimulation on carrageenan-induced hyperalgesia, *Acupunct Med.* Sep;25(3):80-6, 2007.

Teixeira MJ, Pimenta CAM. Epidemiologia da dor. In: Teixeira MJ, (editor). *Dor: conceitos gerais*. 1ª ed. São Paulo: Limay; 1995. p. 61.

Teixeira MJ, Souza ACF. Dor — evolução histórica dos conhecimentos. In: TEIXEIRA, M. J.; FIGUEIRÓ, J. A. B. *Dor: epidemiologia, fisiopatologia, avaliação, síndromes dolorosas e tratamento*. São Paulo: Grupo Editorial Moreira Jr., 2001. 8-13 p.

Thorat SN, Hammond DL. Modulation of nociception by microinjection of delta-1 and delta-2 opioid receptor ligands in the ventromedial medulla of the rat. *J Pharmacol Exp Ther.* 1997;283(3):1185-92.

Tian SL, Wang XY, Ding GH. Repeated electro-acupuncture attenuates chronic visceral hypersensitivity and spinal cord NMDA receptor phosphorylation in a rat irritable bowel syndrome model. *Life Sci.* 2008 Aug 29;83(9-10):356-63. Epub 2008 Jul 22.

Tienyou H. The principle of acupuncture's pain management. *World Journal Acupuncture and Moxibustion.* 2000;10(3):47-51.

Tillu DV, Gebhart GF, Sluka KA: Descending facilitatory pathways from the RVM initiate and maintain bilateral hyperalgesia after muscle insult. *Pain* 2008, 136:331–339.

Vale FM. Dor. Novos aspectos fisiopatológicos e conseqüentes estratégias farmacológicas. *Revista da Faculdade de Medicina de Lisboa, Lisboa*, v. 5, n. 5, p. 291- 304, set-out. 2000.

Vale, N. B. Analgesia Adjuvante e Alternativa. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, V.56, n.5, p.230-255, 2006.

Vierck CJ Jr, Staud R, Price DD, et al.: The effect of maximal exercise on temporal summation of second pain (windup) in patients with fibromyalgia syndrome. *J Pain* 2001, 2:334–344.

Walsh IAP, Corral S, Franco RN, Canetti EEF, Alem MER, Coury HJCG. Capacidade para o trabalho em indivíduos com lesão músculo-esquelética crônica. *Revista de Saúde Pública*, 38 (2): 149-56, 2004.

Wolfe F, Smythe HA, Yunus MB, et al. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of fibromyalgia. Report of the multicenter criteria committee. *Arthritis Rheum* 1990, 33:160–172.

Wolfe TA, Bruusgaard D, Henriksson KG, Littlejohn G, Raspe H, Vaeroy H: Fibromyalgia and disability. *Scan J Rheumatol* 24: 112- 118, 1995.

Wood L. Fisiologia da dor. In: KITCHEN, S.; BAZIN, S. Eletroterapia de Clayton. 10. ed. São Paulo: Manole, 1998. 80-85 p.

Yang EJ, Koo ST, Kim YS et al., Contralateral electroacupuncture pretreatment suppresses carrageenan-induced inflammatory pain via the opioid-mu receptor. Rheumatol Int. 2011 Jun;31(6):725-30. Epub 2010 Feb 4

Yin GL, Liu ZH. Advanced modern chinese acupuncture therapy. Beijing: New World Press; 2000.

Yokoyama T, Lisi TL, Moore SA, et al.: Muscle fatigue increases the probability of developing hyperalgesia in mice. J Pain 2007, 8:692–699.

Yokoyama T, Maeda Y, Audette KM, Sluka KA: Pregabalin reduces muscle and cutaneous hyperalgesia in two models of chronic muscle pain in rats. J Pain 2007, 8:422–429.

Yunus B. et. al. Primary fibromyalgia (fibrositis): clinical study of 50 patientes with matched normal controls. Seminary Arthritis Rheumatology, n. 11, p. 151-171, 1981.

Zhang GG, Yu C, Lee W et al. Involvement of peripheral opioid mechanisms in electroacupuncture analgesia. Explore (NY). 2005 Sep;1(5):365-71.

Zhang Y, et. Al. Acupuncture alleviates the affective dimension of pain in a rat model of inflammatory hyperalgesia, Neurochem Res. 36(11):2104-10. 2011.

Zhang Y, et. Al. Involvement of spinal serotonin receptors in electroacupuncture anti-hyperalgesia in an inflammatory pain rat model, Neurochem Res. ;36(10):1785-92. 2011.