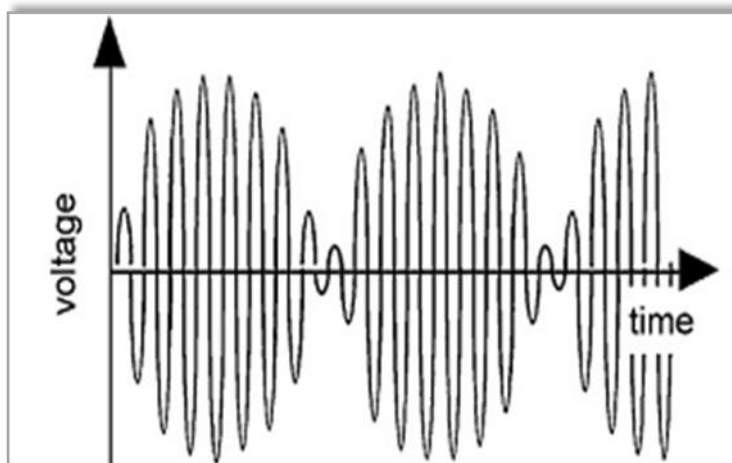




UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
MESTRADO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

KAMILLA MAYARA LUCAS DA CRUZ

**O EFEITO ANTINOCICEPTIVO DA CORRENTE
INTERFERENCIAL NÃO É MEDIADO POR RECEPTORES
OPIOIDES MU E DELTA ESPINHAIS E SUPRAESPINHAIS
EM RATOS ARTRÍTICOS**



Fonte: Ward et al., 2009

SÃO CRISTÓVÃO

2014

KAMILLA MAYARA LUCAS DA CRUZ

**O EFEITO ANTINOCICEPTIVO DA CORRENTE
INTERFERENCIAL NÃO É MEDIADO POR
RECEPTORES OPIOIDES MU E DELTA ESPINHAIS E
SUPRAESPINHAIS EM RATOS ARTRÍTICOS**

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

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

SÃO CRISTÓVÃO

2014

Cruz, Kamilla M. L.

O efeito antinociceptivo da corrente interferencial não é mediado por receptores opioides mu e delta espinhais e supraespinhais em ratos artríticos--São Cristóvão, 2014.

60f.

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

Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de Sergipe, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas.

1. Estimulação Elétrica 2. Corrente Interferencial 3. Dor 4. Nocicepção 5. Analgesia 6. Receptores Opióides I. Título

KAMILLA MAYARA LUCAS DA CRUZ

**O EFEITO ANTINOCICEPTIVO DA CORRENTE
INTERFERENCIAL NÃO É MEDIADO POR
RECEPTORES OPIOIDES MU E DELTA ESPINHAIS E
SUPRAESPINHAIS EM RATOS ARTRÍTICOS**

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

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

1º Examinador: Prof. Dr. Richard Eloin Liebano

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

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me dar pela capacidade física, cognitiva e emocional para execução deste trabalho e me encher de paz com seu imenso amor e cuidado.

Aos meus pais (Simões e Natália), pelos conselhos, incentivos, confiança e amor ao longo de toda essa trajetória. Como se não já fosse o bastante, não mediram esforços, não puseram empecilhos para manutenção de algum equipamento ou materiais que faltassem para os experimentos. Às minhas irmãs, Thamyres e Marynna, que, com paciência, me aguentaram nos dias difíceis, por manter nosso lar um ambiente de alegria e união.

Ao meu noivo Paulo que esteve ao meu lado indo ao laboratório nos fins de semana e aproveitando cada minuto durante seu horário de trabalho para revisar vírgulas, concordância e erros que eram imperceptíveis aos meus olhos. Obrigada por todo amor e cuidado que tem por mim.

Aos meus familiares, avôs, tias, tios, primas, primos, sogros, cunhada, cunhados e amigos agradeço a confiança em mim, com uma família tão grande, amor e o carinho são uma constante em minha vida.

À minha orientadora, Josimari DeSantana, pelos ensinamentos, orientações, paciência, dedicação, confiança.

Aos professores André Sales, Anselmo Domingues, Daniel Badauê, Diogo Garção, Eduardo Caldas, Iura Gonzalez, Jader Neto, Miburge Bolívar, Valter Joviniano, Waldecy de Lucca e Walderi Monteiro, não apenas pelos ensinamentos teórico-práticos ou científicos, mas pelo exemplo diário de excelência e ética profissional.

Ao amigos do Lapene que fizeram parte dessa trajetória e sempre contribuíram para o crescimento de todo o grupo e aos professores e amigos que a fisioterapia me proporcionou ter.

Aos animais que dispuseram de suas vidas para a execução desse trabalho.

Muito Obrigada!

RESUMO

O efeito antinociceptivo da corrente interferencial não é mediado por receptores opioides mu e delta espinhais e supraespinhais em ratos artríticos, Kamilla Mayara Lucas da Cruz, São Cristóvão, 2014.

A corrente interferencial (CI) tem sido amplamente utilizada para controle de diversas condições dolorosas na prática clínica. Entretanto, nenhum estudo investigou o mecanismo de ação neurobiológica dessa corrente analgésica até o momento. O objetivo deste estudo foi investigar o efeito da CI na hipernocicepção causada após indução de inflamação articular e se o sistema opioidérgico está envolvido no mecanismo de ação para produção de antinocicepção na região rostroventromedial do bulbo (RVM) e na medula espinhal. Foram utilizados 63 ratos Wistar, divididos em três séries experimentais: Série comportamental, subdivida nos grupos Interferencial, Morfina e Controle; Série para bloqueio espinhal, subdivida em CI+Naltrindole, CI+Naloxona, CI+Salina e CI inativa; e a série para bloqueio supraespinhal, subdivida em CI+Naltrindole, CI+Naloxona, CI+Salina e CI inativa. A cirurgia intracerebral foi realizada de 3 a 5 dias antes da indução da inflamação articular. A injeção de antagonistas dos receptores opioide mu e delta por via intratecal (naloxona 20 µg/10 µL; natrindole 5 µg/10 µL) e intracerebral (naloxona 20 µg/1 µL; natrindole 5 µg/1 µL) foi realizada 15 minutos antes da administração do tratamento. A estimulação elétrica foi aplicada 24 horas após a indução da inflamação. Os testes de sensibilidade mecânica (von Frey) e força de preensão (grip strength meter) foram realizados antes, 24 horas após a indução da inflamação e após aplicação da CI. Foi utilizado o teste ANOVA para avaliar as diferenças intergrupo e teste ANOVA bicaudal para analisar medidas repetidas, seguidos pelo teste de Bonferroni para múltiplas comparações. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. Os animais tratados com CI apresentaram limiar mecânico de retirada da pata significativamente maior em relação ao pré-tratamento ($p < 0,001$) e ao grupo controle ($p < 0,002$). Após o bloqueio farmacológico dos receptores opioides mu e delta, tanto por via intratecal como intracerebral, a CI promoveu aumento significativo do limiar mecânico ($p < 0,002$), promovendo efeito antinociceptivo sem que houvesse diminuição significativa da força de preensão em nenhum dos grupos estudados. A CI demonstrou efeito antinociceptivo em modelo animal de dor inflamatória e sua ação não foi mediada por receptores opióides mu e delta espinhais e supraespinhais.

Descritores: Estimulação Elétrica, Corrente Interferencial, Dor, Nocicepção, Analgesia, Receptores opioides

ABSTRACT

The antinociceptive effect of Interferencial Current Therapy (IFC) is not mediated by spinal or supraspinal mu and delta opioid receptors in arthritic mice, Kamilla Mayara Lucas da Cruz, São Cristóvão, 2014.

Interferencial Current therapy (IFC) has been widely used to manage different pain conditions in clinical practice. However, to this date, no studies have investigated the neurobiological mechanisms of action of this analgesic current. This study aimed to investigate the effects of IFC on hypernociception caused after joint inflammation induction and whether the opioid system is involved in the nociception produced at the rostral ventral medulla (RVM) and spinal cord. Were utilized 63 wistar rats, split into three experimental series: Behavioral serie: Interferencial current; Morphine; Control. Spinal blockade serie: IFC+Naltrindole; IFC+Naloxone; IFC+Vehicle; Inactive IFC. Supraspinal blockade serie: IFC+Naltrindole; IFC+Naloxone; IFC+Vehicle; Inactive IFC. Intracerebral surgery was carried 3 to 5 days before joint inflammation induction. Injection of μ and δ opioid receptor antagonists intrathecally (naloxone 20 $\mu\text{g}/10 \mu\text{L}$; natrindole 5 $\mu\text{g}/10 \mu\text{L}$) and intracerebrally (naloxone 20 $\mu\text{g}/1 \mu\text{L}$; natrindole 5 $\mu\text{g}/1 \mu\text{L}$) was performed 15 minutes before treatment. Electrical stimulation was applied 24 hours after inflammation induction. Mechanical sensitivity (Von Frey) and grip strength (Grip Strength Meter) Tests were performed before, 24 hours after inflammation induction and after IFC application. ANOVA test was used to analyze intergroup samples and two-way ANOVA test was used to evaluate repeated measures, followed by Bonferroni test for multiple comparisons. P values $< 0,05$ were considered significant. Animals treated with IFC showed significant greater mechanical threshold for paw withdrawal compared to pretreatment ($p < 0.001$) and to control group ($p < 0.002$). After pharmacological blockade of μ and δ opioid receptors either intrathecally and intracerebrally, IFC promoted significant increase in mechanical threshold ($p < 0.002$), promoting antinociceptive effect without significant decrease in grip strength in any experimental group. IFC promoted antinociceptive effect in an animal model of inflammatory pain and its action was not mediated by spinal or supraespal μ and δ opioid receptors.

Key-words: Electric Stimulation Therapy, Interferencial Current, Pain, Nociception, Analgesia, Opioid Receptors

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. O “quadrado mágico”, criação de Benjamin Franklin (Macdonald, 1993).....	5
Figura 2: Galvani conectou os nervos lombares ao tríceps sural de um sapo com um circuito bimetálico (Macdonald, 1993).....	5
Figura 3. Corrente resultante produzida por duas correntes senóides de frequências diferentes. (Adaptado de Ozcan et al., 2004)	10
Figura 4. A: Injeção de carragenina (seta vermelha); B. Local de inflamação e edema (em vermelho); C. Eletrodos e local de aplicação da corrente interferencial (CI).	17
Figura 5. Delineamento experimental da série comportamental.	20
Figura 6. Delineamento experimental da série de bloqueio espinal.	21
Figura 7. Delineamento experimental da série de bloqueio supraespinal.	24
Figura 8. Limiar mecânico de retirada da pata (mN) nos grupos tratados com corrente interferencial, morfina e controle (salina) nos períodos antes da indução da inflamação, antes (pré-tratamento) e após tratamento (pós-tratamento). * $p < 0,005$ em relação ao momento antes da inflamação; Friedman seguido por Tukey. † $p < 0,001$ em relação ao momento pré-tratamento; Friedman seguido pelo teste de Tukey. ‡ $p < 0,002$ em relação ao controle; Kruskal Wallis seguido pelo teste de Tukey.	25
Figura 9. Força muscular (g) nos grupos tratados com corrente interferencial, morfina e controle (salina) nos períodos antes da indução da inflamação, antes (pré-tratamento) e após tratamento (pós-tratamento). Não houve diferença estatisticamente significativa.	26
Figura 10. Limiar mecânico de retirada da pata (mN) nos grupos tratados com corrente interferencial e no controle (salina) nos períodos antes da indução da inflamação, antes (pré-tratamento) e após tratamento (pós-tratamento). A: administração intracerebral de antagonistas de receptores opióides (naltrindole e naloxona). B: administração intratecal de antagonistas de receptores opióides (naltrindole e naloxona). * $p < 0,001$ em relação ao momento antes da inflamação; Friedman seguido pelo teste de Tukey. † $p < 0,002$ em relação ao momento pré-tratamento; Friedman seguido pelo teste de Tukey. ‡ $p < 0,001$ em relação ao controle; Kruskal Wallis seguido pelo teste de Tukey.	27
Figura 11. Força muscular (g) nos grupos tratados com corrente interferencial e no controle	

(salina) nos períodos antes da indução da inflamação, antes (pré-tratamento) e após tratamento (pós-tratamento). A: administração intracerebral de antagonistas de receptores opióides (naltrindole e naloxona). B: administração intratecal de antagonistas de receptores opióides (naltrindole e naloxona). Não houve diferença estatisticamente significativa.28

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Grupos, número de animais e doses dos antagonistas opióides e veículo da série experimental de bloqueio espinhal.	21
Quadro 2. Grupos, número de animais e doses dos antagonistas opióides e veículo da série experimental de bloqueio espinhal	23

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μg – Micrograma

μl – Microlitro

aC – Antes de Cristo

ANOVA – Análise de Variância

CA – corrente alternada

CCK - Colescistoquinina

CEPA – Comitê de Ética em Pesquisa Animal

CFMA – Correntes de Frequência Média Alternada

CI – Corrente Interferencial

D – Dia

d.C. – Depois de Cristo

FAM – Frequência de Amplitude Modulada

g – Grama

h – Horas

Hz – Hertz

i.p. – Intraperitoneal

kg – Quilograma

kHz – Quilohertz

mg – Miligrama

ml – Mililitro

mm – Milímetro

mN – Milinewton

ms – Milissegundos

mV – Milivolts

nm – Nanômetro

NMDA - Receptor N-metil-D-Aspartato

OA – Osteoartrite

p – nível de significância

pH – Potencial Hidrogeniônico

ROD – Receptor opioide delta

ROK – Receptor opioide kappa

ROM – Receptor opioide mu

RVM – Parte rostroventromedial do bulbo

SCP – Substância Cinzenta Periaquedutal

TENS – Estimulação Elétrica Nervosa Transcutânea

vlSCP – região ventrolateral da SCP

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	3
2.1. Conceitos básicos sobre correntes elétricas	3
2.2. Histórico da eletroterapia	3
2.3. Efeito biológico das correntes elétricas	6
2.3.1. O potencial elétrico da célula.....	6
2.3.2. Influência da eletroterapia na eletricidade celular	7
2.3.3. Influência da eletroterapia nos tecidos	7
2.4. Estimulação elétrica periférica.....	8
2.4.1 Eletroterapia como recurso analgésico	9
2.5. Corrente Interferencial	10
2.5.1. Características da corrente interferencial	10
2.5.2. Terapia baseada em evidências para a corrente interferencial.....	12
2.6. Sistema opioide em analgesia	13
2.7. Considerações finais.....	14
3. OBJETIVOS.....	15
3.1. Objetivo geral	15
3.2. Objetivos específicos.....	15
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
4.1. Animais.....	16
4.2. Indução da inflamação articular	16
4.3. Aplicação da corrente interferencial	16
4.4. Testes comportamentais	17

4.4.1. Sensibilidade mecânica cutânea.....	17
4.4.2. Força de apreensão.....	18
4.5. Séries experimentais.....	18
4.5.1. Série comportamental.....	19
4.5.1.1. Injeção intraperitoneal de morfina	19
4.5.1.2. Delineamento experimental	19
4.5.2. Série experimental para bloqueio espinhal	20
4.5.2.1. Injeção intratecal	20
4.5.2.2. Delineamento experimental	20
4.5.3. Série experimental para bloqueio supraespinhal.....	22
4.5.3.1. Cirurgia para implante da cânula intracerebral	22
4.5.3.2. Delineamento experimental	22
4.6. Análise estatística.....	24
5. RESULTADOS	25
6. DISCUSSÃO	29
7. CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS	36

1. INTRODUÇÃO

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 a 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 a nível sensorial ou motor (Low et al., 1994).

A corrente interferencial (CI) é uma modalidade eletroterapêutica bastante utilizada na prática clínica e tem recebido pouca atenção no âmbito da pesquisa (Robertson et al. 2006). Sugere-se que com frequência de amplitude modulada em 100 Hz há melhor analgesia e superioridade em relação à estimulação elétrica nervosa transcutânea (TENS), embora não haja consenso na literatura (Shanahan et al., 2006).

O mecanismo de ação analgésico da TENS foi elucidado por diversos estudos experimentais que confirmaram a ativação de vias opióides endógenas (King et al., 2005). O bloqueio de receptores opióides delta e mu espinhais ou supraespinhais (bulbo) previne a analgesia produzida por TENS de alta e baixa frequência, respectivamente (Kalra et al., 2001). 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). No mesencéfalo, a substância cinzenta periaquedutal, promove analgesia mediada por opiáceos, assim como na parte rostroventromedial do bulbo (RVM), essas regiões participam do mecanismo de analgesia da TENS (DeSantana et al., 2009).

Apesar de existir comparação entre a TENS e a CI (Adedoyin et al., 2005; Atamaz et al., 2012), há uma carência em estudos que evidenciem os mecanismos pelo qual a corrente interferencial promove analgesia, diferentemente da TENS que tem evidências comprovadas. 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). Estudos com modelos pré-clínicos para controle da extensão da lesão, medidas comportamentais objetivas e remoção do componente afetivo motivacional de dor podem contribuir para determinar a eficácia de uma terapia (Sluka et al., 1998). Dessa forma foi realizado no presente estudo pré-clínico com o

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 verificar o potencial antinociceptivo da CI comparada com a administração de morfina sistêmica, bem como o bloqueio farmacológico de receptores opióides espinhais e supraespinhais a fim de investigar possíveis mecanismos de ação da terapia interferencial.

Nenhum estudo com experimentação animal foi encontrado na literatura pesquisada até o presente momento verificando o mecanismo antinociceptivo da CI. Assim hipotetizamos que CI promova redução da hipernocicepção no modelo pré-clínico da osteoartrite pela ativação de vias opióides espinhais e supraespinais pela ativação de receptores mu e delta opióides.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Conceitos básicos sobre correntes elétricas

Um fluxo ordenado de carga de um lado para o outro através da matéria é chamado de corrente (Gussow, 1985). A unidade de intensidade da corrente é o ampère (A), definido como a taxa de passagem de fluxo de cargas em relação a secção transversal do condutor. Um ampère é igual a um Coulomb (C) por segundo, unidade que indica o número de elétrons, na medida em que o ampère corresponde à quantidade de fluxo de elétrons da corrente. Um ampère é uma unidade muito grande e, em se tratando de eletroterapia, é frequentemente usada a unidade de miliampère (mA) (Okuno et al., 1982).

A resistência é a propriedade de um material resistir ou se opor ao fluxo de corrente que passa por ele. Diferentes materiais possuem uma capacidade de resistência intrínseca diferente, dependendo de suas características químicas (Young e Freedman, 2009). O termo impedância se refere à oposição das correntes alternadas e a resistência, que, por sua vez, está relacionada às correntes contínuas. Quando se trata de estimulação elétrica, é mais apropriado usar o termo impedância e, em geral, quanto maior for a frequência de estimulação, menor será a impedância dos tecidos, sendo a sua unidade padrão, o ohm (Nelson et al., 2003).

A frequência, expressa em Hertz (Hz) ou ciclos por segundo (cps), caracteriza as correntes pulsadas (CP) e as correntes alternadas (CA), à medida que a frequência aumenta, a duração da fase diminui (Haar 2003). As correntes contínuas ou diretas não apresentam uma frequência, porque o seu fluxo de corrente não varia (Nelson et al., 2003).

2.2. Histórico da eletroterapia

A energia elétrica para o alívio da dor é utilizada desde a antiguidade (Dolhem, 2008; Heidland et al., 2012; Macdonald, 1993). Há indícios de que os egípcios antigos usavam peixes elétricos para o tratamento de condições dolorosas graves (Dolhem, 2008; Heidland et

al., 2012; Macdonald, 1993; Steinberg, 2011). De maneira similar, Hipócrates (420 a.C.) usou a ação entorpecente do peixe torpedo preto; o médico romano Scribonius Largus (d.C. 47) prescreveu o contato direto com o peixe elétrico para alívio da dor em pacientes com gota, artrite ou dores de cabeça (Dolhem, 2008). Esse peixe gera descargas de menos de 8 volts até 220 volts, dependendo da espécie. A média atual é de, aproximadamente, 50 volts (Heidland et al., 2012). Nos séculos XVIII ao XIX, o tratamento da dor por eletricidade natural foi substituída pela eletricidade gerada por meio de dispositivos elétricos inventados pelo homem (Heidland et al., 2012).

A divisão da evolução histórica da eletroterapia dividida em quatro fases foi proposta por Turrell (1969), a primeira fase baseada na aplicação de eletricidade estática ou atmosférica, chamada Franklinismo; A segunda fase, o Galvanismo que permitiu o contato direto da eletricidade dinâmica ao longo dos nervos; E o Faradismo, considerado a terceira fase da eletroterapia que consiste na descoberta de que o fluxo de eletricidade poderia ser induzido de forma intermitente (interrompido) e em direções alternadas. A quarta fase foi o Darsonvalismo, marcada pela descoberta de correntes de alta frequência (Heidland et al., 2012)

O Franklinismo se caracterizou por alta tensão e correntes baixas que foram derivadas de uma máquina de fricção que induziu choques repentinos e faíscas (Dolhem, 2008; Heidland et al., 2012). Mais tarde, o armazenamento da carga elétrica foi possível graças a invenção do frasco Leiden (o precursor do capacitor elétrico). O primeiro uso médico da eletricidade estática na Europa foi realizado em 1744 pelo médico alemão Christian Kratzenstein (Dolhem, 2008; Heidland et al., 2012). Alguns anos mais tarde (1752), o cientista americano e político Benjamin Franklin inventou o "quadrado mágico", uma forma simples de um condensador capaz de dar choques fortes para o tratamento de várias doenças (Macdonald, 1993) (Figura 1).

O Galvanismo (1800) permitiu o contato direto da eletricidade dinâmica ao longo dos nervos, sem choques e faíscas (Heidland et al., 2012). A eletricidade contato foi precedida pela descoberta de Galvani (1780), mostrando que as pernas decepadas de um sapo morto chutaram para fora quando estimuladas por correntes elétricas (Heidland et al., 2012; Macdonald, 1993; Steinberg, 2011) (Figura 2).

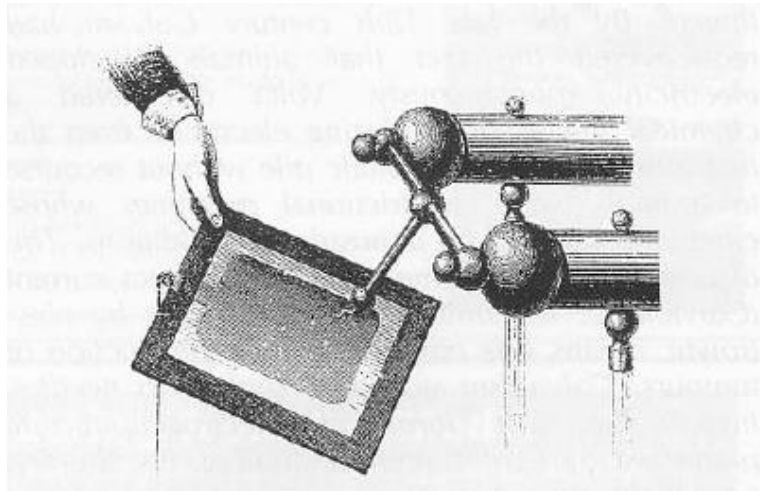


Figura 1. O “quadrado mágico”, criação de Benjamin Franklin (Macdonald, 1993).

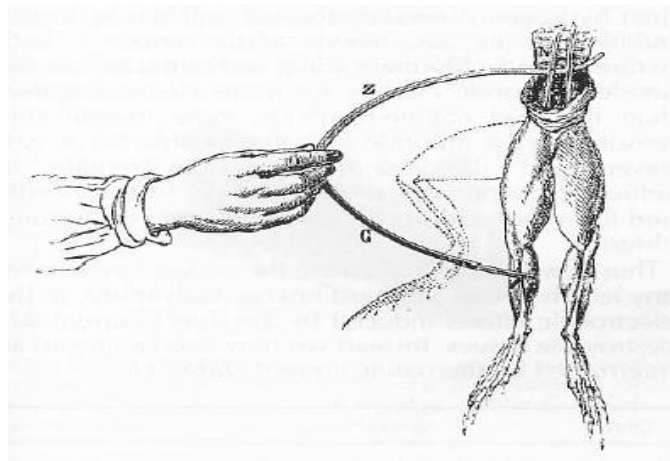


Figura 2: Galvani conectou os nervos lombares ao tríceps sural de um sapo com um circuito bimetálico (Macdonald, 1993).

O Galvanismo foi utilizado para a gestão de várias doenças, incluindo a depressão (Macdonald, 1993). A aplicação de corrente galvânica tinha efeitos colaterais, seu uso prolongado levou a alterações necróticas nos tecidos (Heidland et al., 2012; Macdonald, 1993). Essa ação prejudicial, posteriormente, foi empregada para a destruição de tumores superficiais, incluindo câncer de útero (Macdonald 1993) e de próstata (Heidland et al., 2012).

Em 1832 o cientista britânico Michael Faraday descobriu que o fluxo de eletricidade poderia ser induzido de forma intermitente (interrompido) e em direções alternadas (Dolhem, 2008; Heidland et al., 2012; Macdonald, 1993). As estimulações foram realizadas com uma duração de pulso curta (<1 milésimo de segundo) impedindo, assim, qualquer risco de danos

nos tecidos (Heidland et al., 2012; Macdonald, 1993). Mas o pesquisador mais importante do Faradismo, em meados do século XIX, foi o médico francês Guillaume Duchenne ("pai da eletroterapia"), que utilizou esta técnica em particular para a estimulação muscular (Heidland et al., 2012).

O efeito das correntes de alta frequência tem sido chamado de "Darsonvalismo" devido ao nome de seu fundador, o médico francês Jacques Arsène d'Arsonval (Dolhem, 2008; Heidland et al., 2012; Pinchuk, 2006). O século XIX foi a "idade de ouro" da eletroterapia, período no qual a mesma era utilizada para inúmeros distúrbios dentários, neurológicos, psiquiátricos e ginecológicos. No entanto, no início do século XX, esse tratamento foi inutilizado por falta de evidências científicas. Além disso, o desenvolvimento de drogas analgésicas eficazes diminuiu o interesse na eletroterapia. Apenas na segunda metade do século XX a eletroterapia voltou a ser utilizada (Heidland et al., 2012) sendo aplicada como uma terapia complementar ou alternativa.

2.3. Efeito biológico das correntes elétricas

2.3.1. O potencial elétrico da célula

Basicamente todas as células são eletricamente ativas, pois suas membranas apresentam um potencial elétrico em toda a sua estrutura com cerca de -70 mV, embora possa ser de até -90 ou -100 mV em nervos, com a face interna da célula a ser mantido num estado mais negativo em comparação com o ambiente extracelular. O potencial da membrana celular é relacionado com os mecanismos de transporte celular, principalmente de íons (partículas eletricamente carregadas) para dentro e para fora da célula por uma grande variedade de bombas e canais (Watson, 2000).

Embora o potencial de membrana seja pequeno (em termos absolutos), é substancial em relação à espessura da membrana. A espessura da membrana média é de cerca de 7 ± 10 nm, aproximadamente um milésimo de um milionésimo de metro (Alberts 1998). A tensão equivalente é da ordem de 10 ± 14 milhões de volts através de um medidor. O gradiente de tensão ou diferença de potencial (volts por metro) através da membrana é um componente essencial no transporte celular. As alterações na tensão irão influenciar os mecanismos de

transporte e, por outro lado, as mudanças nos mecanismos de transporte irão influenciar o gradiente de voltagem (Charman, 1990; Watson, 2000).

2.3.2. Influência da eletroterapia na eletricidade celular

A eletroterapia influencia a estreita relação entre eletricidade celular e química celular. A liberação de energia através da membrana força uma mudança de comportamento por despolarização ou hiperpolarização da membrana. Terapias de estimulação elétrica (como corrente interferencial, TENS) são bons exemplos dessa abordagem. A corrente elétrica passa através do tecido nervoso e força a despolarização, assim, faz com que os nervos disparem (Watson, 2000; Watson, 2002; Ward, 2009). O tipo de nervo influenciado dessa forma e a taxa à qual a fibra é despolarizada determinam as respostas fisiológicas e, portanto, o efeito terapêutico conseguido (Watson, 2000).

2.3.3. Influência da eletroterapia nos tecidos

É importante entender os efeitos de cargas elétricas nos tecidos orgânicos em termos gerais. A extensão das alterações fisiológicas dependerá da intensidade da corrente, sendo que correntes de intensidades mais altas causam maiores efeitos. A intensidade também determinará se o pulso elétrico tem energia suficiente para provocar um impulso nervoso. Assim, uma determinada velocidade de subida da corrente, duração e queda do pulso podem ser muito rápidos para causar estimulação tecidual numa baixa intensidade de corrente, mas podem fazê-lo em uma intensidade mais elevada (Low et al., 1994).

É conveniente descrever a unidade de estimulação atual como um "pulso" da corrente, o que causará um ou dois impulsos nervosos. Se o aumento for rápido ou se houver uma alta taxa de mudança, então ocorrerá estimulação do tecido nervoso e um impulso nervoso. Da mesma forma, os nervos motores seriam estimulados, conduzindo a uma série de contrações musculares individuais. Se esses estímulos são repetidos a cada 10 milissegundos, é causada uma sensação de parestesia firme devido a estimulação dos nervos sensoriais e uma contração muscular pela estimulação dos nervos motores (Low et al., 1994).

A força real de contração muscular ou efeito sensorial dependerá do número de fibras nervosas estimuladas, o que depende da intensidade da corrente. Maior intensidade de corrente vai se espalhar ainda mais nos tecidos e, portanto, ativar mais nervos (Low et al., 1994).

2.4. Estimulação elétrica periférica

Todos os estimuladores periféricos (exceto estimuladores implantados) são, na verdade, estimulação elétrica nervosa transcutânea (TENS), mas este termo é aplicado somente para baixa intensidade, geralmente os estimuladores de nervos sensoriais são utilizados, principalmente, para o controle da dor (Low et al., 1994).

Estimulação em nível sensorial referida como "TENS convencional" corresponde a uma corrente pulsada de baixa frequência (geralmente inferior a 200 Hz) e com duração de pulso entre 20 e 200 microssegundos (Low et al., 1994; Ward, Lucas-Toumbourou e McCarthy, 2009). As correntes 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. Os pulsos de CA são aplicados em baixas frequências (abaixo de 200 Hz) correspondentes às frequências utilizadas para a estimulação de TENS (Ozcan et al., 2004; Ward, 2009; Low et al., 1994). A CFMA pode ser emitida em trens de pulso retangulares (corrente Russa e Aussie) ou senoidal modulada (corrente interferencial premodulada) (Ward et al., 2009; Ward, 2009).

A literatura relata que a corrente interferencial (CI) é uma modalidade bastante usada na prática clínica (Robertson e Spurrirt, 1998; Robertson, 2006). 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; Robertson, 2006; Watson, 2002). Entretanto, outros autores têm refutado esta ideia (Alon 1987; Johnson e Tabasam 2003b; Johnson, 1999; Robertson, 2006; Shanahan et al., 2006). Sugere-se o uso da corrente interferencial para tratar diferentes condições clínicas e que frequências com amplitude modulada de 100 Hz produzem analgesia mais eficiente (Shanahan et al., 2006; Goats, 1990). Há dificuldade em estabelecer os melhores parâmetros da corrente interferencial visto que essa intervenção tem recebido pouca atenção no âmbito da pesquisa (Johnson, 1999; Robertson et al., 2006; Ward et al., 2009).

2.4.1 Eletroterapia como recurso analgésico

Similarmente a CI, a TENS é uma técnica analgésica não-invasiva que reduz a dor em uma variedade de condições clínicas tais como dor lombar (Buchmuller et al., 2012; Poitras e Brosseau, 2008), osteoartrite de joelho (Adedoyin et al., 2005a; Atamaz et al., 2012), síndrome da fibromialgia (Dailey et al., 2013; Löfgren e Norrbrink, 2009), dismenorréia primária (Lewers et al., 1989; Tugay et al., 2007) e dor pós-operatória (Desantana et al., 2009). O uso da TENS é amplamente difundido entre os profissionais da saúde, e os pacientes relatam satisfação com os resultados do tratamento (Buchmuller et al., 2012; Oosterhof et al., 2008). Em relação à TENS, vários estudos experimentais têm mostrado que a hiperalgesia mecânica primária e secundária induzidas por inflamação do músculo gastrocnêmio ou da articulação do joelho são reduzidas por TENS de alta ou baixa frequência (Sluka et al., 1998; Sluka et al., 1999; Sabino et al., 2008; DeSantana et al., 2008; DeSantana et al., 2009).

Tanto baixa como alta frequência de TENS produzem analgesia através da ativação de vias opióides endógenas (Sluka et al., 1998; King et al., 2005). Especificamente, administração espinhal ou supraespinhal (bulbo) de antagonista do receptor opioide delta (naltrindole) e mu (naloxona) previne a analgesia produzida por TENS de alta e baixa frequência, respectivamente (Sluka et al., 1999; Kalra et al., 2001). Além disso, TENS de alta frequência reduz liberação espinhal de neurotransmissores excitatórios, glutamato e aspartato, através da ativação de receptores opioides delta (Sluka et al., 2005). A substância cinzenta periaquedutal é uma região que promove analgesia mediada por receptores opioides, assim como na parte rostroventromedial do bulbo (RVM) e estão envolvidas na hipoalgesia produzida pela TENS. A redução da hipernocicepção primária e secundária produzida por alta e baixa frequência de TENS é prevenida pelo bloqueio da região ventrolateral da SCP com cloreto de cobalto. Assim, a região ventrolateral da SCP envia projeções através do bulbo para a medula espinhal e produz analgesia através da ativação de receptores opióides (DeSantana et al. 2009).

Embora mecanismos de ação da TENS tenham sido mais extensivamente investigados nos últimos anos, não há quaisquer dados na literatura sobre os mecanismos de ação da corrente interferencial. A elucidação dos efeitos analgésicos e dos mecanismos de ação destas duas terapias possuem implicações importantes na prática clínica e no manejo da dor. Adiante, serão explanadas as características específicas da corrente interferencial que geram

controvérsias em relação à similaridade dessas duas correntes.

2.5. Corrente Interferencial

2.5.1. Características da corrente interferencial

A corrente interferencial é diferente da estimulação elétrica nervosa transcutânea (TENS), uma vez que apresenta a frequência de batida, uma frequência de amplitude modulada (FAM). A frequência de batida 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 em baixa frequência (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 para uso clínico (Robertson e Spurrirt, 1998; Robertson, 2006). A amplitude da intensidade do estímulo resultante varia sistematicamente quando dois picos ou depressões coincidem, o que gera a interferência construtiva ou, quando as correntes se anulam mutuamente, ocasionando a interferência destrutiva (Ozcan et al., 2004) (Figura 3).

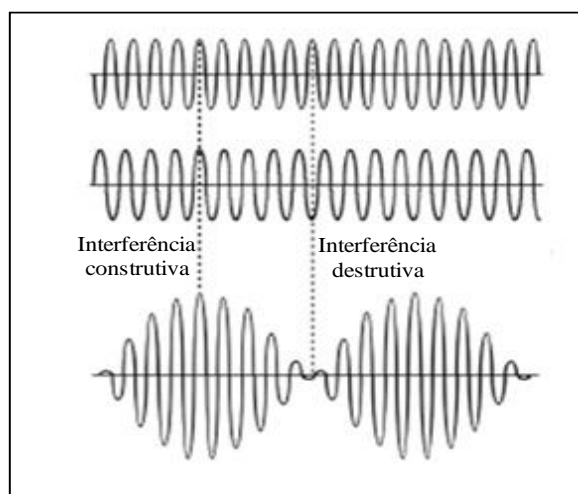


Figura 3. Corrente resultante produzida por duas correntes senóides de frequências diferentes. (Adaptado de Ozcan et al., 2004)

A corrente de média frequência individualmente não promove excitação do tecido nervoso (Johnson, 1999; Low et al., 1994), sendo a FAM considerada o componente eficaz da CI (Goats, 1990; Johnson, 1999; Ganne, 1976). Em contrapartida, evidências indicam que a frequência de 4000 Hz é realmente de fundamental importância para estimular os tecidos excitáveis mais profundos (Palmer et al., 1999; Johnson, 1999).

A informação mais difundida no meio científico é a de que a pele oferece menor resistência à CI, que, por ser uma corrente de média frequência, penetra tecidos biológicos mais profundos (Adedoyin et al., 2002; Cheing e Hui-Chan, 2003; Goats, 1990; Hansjuergens, 1986; Jarit et al., 2003; Johnson e Tabasam, 2002; Low et al., Pope 1994; Taylor et al., 1987). O estrato córneo, camada mais externa da pele, age como um isolante. Assim, a pele age como uma barreira capacitiva para o fluxo da corrente e sua impedância fica inversamente proporcional à frequência alternada da corrente. Portanto, em baixas frequências, a impedância da pele é alta, enquanto que em altas frequências, a impedância da pele é mais baixa (Low et al., 1994). Os pesquisadores reproduzem essa informação com a finalidade de justificar os estudos clínicos realizados (Atamaz et al., 2012; Fuentes et al., 2010; Johnson e Tabasam, 2003).

Em contrapartida, alguns autores usaram argumentos diferentes em relação às correntes de frequência média alternadas (CFAM) (Alon, 1987; Ward et al., 2009). A informação de que apenas o uso de frequência média diminui a resistência da pele não foi comprovada (Alon, 1987). A redução da resistência da pele depende não somente da frequência, mas da duração da fase da corrente (Burton et al., 1974; Lane, 1970). Assim, quando a duração da fase for de 125 microssegundos, qualquer dispositivo de estimulação elétrica nervosa transcutânea fornecerá a mesma resistência da pele, assim como a CI (Alon, 1987; Burton et al., 1974). Uma menor impedância da pele não significaria menos estimulação de fibras sensoriais e analgesia (Ward, 2009).

As altas frequências de CA podem reduzir a resposta nervosa porque estímulos sucessivos dentro do período refratário relativo ou absoluto do potencial de ação prejudicam a repolarização das fibras nervosas (Goats, 1990). A sensibilidade das fibras nervosas diminui e uma intensidade de corrente maior é necessária para despolarizar a membrana nervosa. Estimulação prolongada com altas frequências faz com que o axônio cesse a condução, e esse fenômeno é conhecido como inibição de Wedensky (Adedoyin et al., 2002; Goats, 1990).

Há a possibilidade de que nas CFMAs ocorra a soma de despolarizações subliminares, um fenômeno conhecido como efeito Gildemeister (Robertson et al., 2006; Ward e Oliver, 2007; Ward, 2009). A somação ocorre quando trens de pulso CA com frequências altas são

usadas como o estímulo. Durante cada trem de pulso, a membrana da fibra nervosa é empurrada para mais perto do limiar excitatório e a fibra nervosa não tem tempo para se recuperar entre os pulsos até que um potencial de ação seja produzido (Ward, Lucas-Toumbourou e McCarthy, 2009). Isso diminui a resposta da fibra nervosa devido ao elevado número de potenciais de ação e causa fadiga sináptica (Ward, Lucas-Toumbourou e McCarthy, 2009; Ward, 2009).

A teoria do portão da dor postulada por Melzack e Wall (1965) propõe que os potenciais de ação na forma de impulsos ao longo de fibras de grande diâmetro concorrem para acessar o centro ascendente das vias sensoriais no corno dorsal da medula espinhal com impulsos nociceptivos ao longo das fibras nociceptivas de menor diâmetro. As fibras largas conduzem o impulso nervoso mais rapidamente, portanto, seus potenciais de ação se sobrepõem aos impulsos nociceptivos, fechando “as portas” contra os potenciais de ação nociceptivos que, por conseguinte, não conseguem alcançar o nível consciente (Adedoyin et al., 2002; Goats, 1990).

Apesar de vários autores sugerirem um meio pelo qual a terapia interferencial promova analgesia, as evidências sobre o uso da CI para diminuir a dor continuam insuficientes (Corrêa et al., 2013).

2.5.2. Terapia baseada em evidências para a corrente interferencial

Corrente Interferencial (CI) é um tipo de estimulação elétrica clinicamente usada para o alívio da dor (Almeida et al., 2003; Corrêa et al., 2013; Johnson e Tabasam, 2002; Walker et al., 2006). Esta terapia se constitui um método não-farmacológico e não-invasivo que reduz a dor em pacientes com lombalgia (Corrêa et al., 2013; Werners et al., 1999; Hurley et al., 2001; Hurley et al., 2004), artrite (Walker et al., 2006), osteoartrite (Gundog et al., 2012), dismenorréia primária (Tugay et al., 2007), dor pós-operatória (Jarit et al., 2003); promove, ainda, aumento do fluxo sanguíneo (Noble et al., 2000), redução de incontinência urinária (Demirtürk et al., 2008; Kajbafzadeh et al., 2009; Mauroy et al., 2001; Lee e Park, 2013), melhoria da função intestinal na constipação (Chase et al., 2005; Kajbafzadeh et al., 2009; Coban et al., 2012), e, conseqüentemente, melhor qualidade de vida destes pacientes (Clarke et al., 2009; Demirtürk et al., 2008; Hurley et al., 2004; Coban et al., 2012).

A frequência de batida resultante entre 1 e 150 Hz promove efeitos benéficos através da redução da dor, menor edema e maior amplitude de movimento (Jarit et al., 2003). Cheing e Hui-Chan (2003) sugerem que o efeito analgésico produzido pela CI é mais prolongado do que a Estimulação Elétrica Nervosa Transcutânea (TENS). No entanto, em outros estudos, a CI não foi diferente da TENS (Atamaz et al., 2012; Johnson e Tabasam, 2003a).

Estudos experimentais evidenciam que a CI tem efeito antinociceptivo em modelos de dor inflamatória (Jorge et al., 2006) e de dor muscular crônica não-inflamatória (DeSantana et al., 2011). Como a TENS e a CI tem sido frequentemente comparadas, este estudo visa verificar se a CI promove redução da dor por mecanismos opióides assim como é comprovado na TENS.

2.6. Sistema opioide em analgesia

Substâncias opioides têm sido usadas há milhares de anos para o tratamento da dor (Kieffer e Gavériaux-Ruff, 2002). Pert e Snyder (1973) usaram um composto radioativo de morfina para identificar a localização de ação da morfina e verificaram que o fármaco estava relacionado a áreas muito específicas do cérebro, chamadas de "receptores de morfina". Opióide é o termo usado de forma ampla para descrever todos os compostos que atuam nos receptores de opioides (Trescot et al., 2008; Kieffer e Gavériaux-Ruff, 2002).

O sistema opioidérgico dispõe de receptores no sistema nervoso central (Pert e Snyder, 1973; Trigo et al., 2010), bem como ao longo dos tecidos periféricos (Li et al., 2012; Trescot et al., 2008; Trigo et al., 2010). Estes receptores são normalmente estimulados por peptídeos endógenos (endorfinas, encefalinas, dinorfinas) produzidos em resposta a um estímulo nocivo (Kieffer e Gavériaux-Ruff, 2002). Os receptores opioides clássicos são divididos em três subtipos, o receptor μ ou mu (ROM), o receptor δ ou delta (ROD) e o receptor κ ou kappa (ROK) (McCleane e Smith, 2007; Trigo et al., 2010; Li et al., 2012).

A morfina é o agonista do receptor mu, que está distribuído no tálamo medial e principalmente no tronco cerebral (região cinzenta periaquedutal) (Trescot et al., 2008; Li et al., 2012). Os ROM promovem analgesia supraespinal, depressão respiratória, euforia, sedação, diminuição da motilidade gastrointestinal e dependência física (Trescot et al., 2008). A ativação repetida ou prolongada desses receptores resulta em adaptações que se manifestam

como tolerância e dependência física, o que complica ainda mais a gestão da dor crônica, por exemplo (Li et al., 2012).

O receptor delta tem como agonista a delta-alanina-delta-leucina-encefalina (Trescot et al., 2008). É amplamente distribuído, sendo encontrado nas mesmas áreas anatômicas do ROM (Li et al., 2012). Embora contribuam para analgesia, euforia e dependência física, os agonistas dos ROD possuem eficácia analgésica com possibilidade reduzida para produzir efeitos colaterais (Pradhan et al., 2011).

O receptor kappa tem como agonista da ketociclazocina. Esses receptores estão distribuídos nas áreas límbicas e outras regiões do diencefalo, tronco cerebral e medula espinhal. São responsáveis pela analgesia espinhal, sedação, dispneia, dependência, disforia e depressão respiratória (Trescot et al., 2008). É menos estudado que os receptores mu e delta e geralmente associada com a disforia e efeitos psicotomiméticos (Li et al., 2012).

Os opióides atuam por meio da ativação de seus receptores acoplados à proteína G (GPCRs) (Snyder, 2004; McCleane e Smith, 2007; Trescot et al., 2008; Li et al., 2012). Os GPCRs consistem em sete domínios helicoidais transmembrana ligados a peptídeos extracelulares (Lagerström e Schiöth, 2008). Uma vez que o receptor é ativado, há inibição da atividade da adenilato ciclase que induz um aumento de AMPc (adenosina 3',5'-monofosfato cíclico) e resulta indiretamente na inibição dos canais de cálcio dependentes de voltagem em neurônios pré-sinápticos, bloqueando assim a liberação de neurotransmissores da dor, resultando na analgesia (McCleane e Smith, 2007).

2.7. Considerações finais

Em suma, a corrente interferencial tem efeito analgésico comprovado por estudos clínicos em diferentes tipos de dor. A FAM com frequência de 100 Hz tem sido comparada com a TENS de alta frequência, embora não haja consenso sobre a similaridade entre as correntes ou a superioridade de uma delas. A TENS promove analgesia mediada, principalmente, por receptores mu e delta espinhais e supraespinhais. A CI não tem estudos que comprovem seu mecanismo de ação, sendo este estudo o primeiro experimento pré-clínico que investiga um possível mecanismo de ação nociceptivo para a terapia interferencial.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Investigar o efeito antinociceptivo da corrente interferencial e seu mecanismo de ação no sistema nervoso central em modelo animal de inflamação articular.

3.2. Objetivos específicos

- Investigar se a corrente interferencial interfere na sensibilidade mecânica após indução de inflamação na articulação do joelho.
- Determinar se o possível aumento do limiar mecânico produzido pela corrente interferencial é revertido pela administração intratecal (medula espinhal) de antagonistas de receptores opióides.
- Verificar se o possível aumento do limiar mecânico produzido pela corrente interferencial é revertido pela administração intracerebral de antagonistas de receptores opióides no RVM.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Animais

Foram utilizados 63 ratos *Wistar* (250 a 350 g; Biotério da Universidade Federal de Sergipe) para este estudo, após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal desta Universidade (CEPA/UFS nº 21/2009). 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 dentro do joelho esquerdo enquanto o rato estava anestesiado com isoflurano (Baxter), 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 é usado para a estimulação com TENS (DeSantana, Santana-Filho, e Sluka 2008). Os eletrodos 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) e a largura de pulso foi de 125

microssegundos.

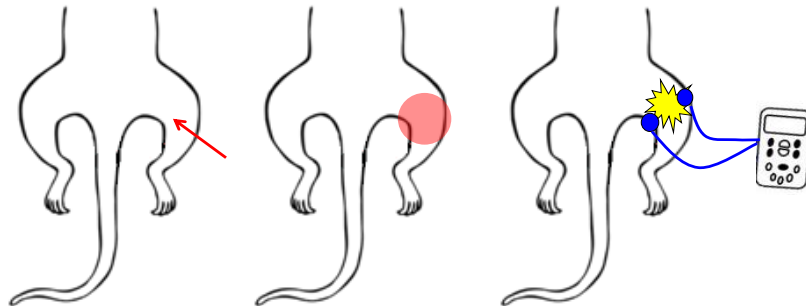


Figura 4. A: Injeção de carragenina (seta vermelha); B. Local de inflamação e edema (em vermelho); C. Eletrodos e local de aplicação da corrente interferencial (CI).

Os equipamentos de CI usadas neste estudo são similares aos utilizados clinicamente (EMPI Inc., IF 3WAVE®, South Dakota, USA). Os eletrodos têm 0,5 polegadas de diâmetro e foram fixados à pele do rato 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.

4.4. Testes comportamentais

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 os procedimentos publicados 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. Os filamentos de von Frey (Ugo Basile®, Milão, Itália) calibrados em

balança semi-automática de precisão (Bel Engineering, Piracicaba, SP, Brasil) de forças de tensão variáveis (de 13,03 a 250,97 mN) foram aplicados perpendicularmente à superfície plantar das patas traseiras do animal enquanto ele se manteve apoiado nos quatro membros para testar a resposta de retirada da pata. Cada filamento foi aplicado duas vezes. A menor força à qual o rato retirou sua pata em pelo menos uma de duas aplicações foi registrada como o limiar de retirada da pata, ou seja, hiperalgesia cutânea secundária. Este método de teste tem mostrado significativa confiabilidade teste-reteste (Sluka et al., 1999).

4.4.2. Força de preensão

Os possíveis efeitos na força de preensão (em gramas) promovidos pelo tratamento com corrente interferencial foram avaliados nos animais através do Grip Strength Meter (Insight®, Ribeirão Preto, SP, Brasil). O teste de força de preensão constitui um método não invasivo projetado para avaliar a força dos membros do animal. Tal método tem sido frequentemente utilizado para investigar os efeitos dos fármacos e de doenças neuromusculares (Mahmood et al., 2010; Ishiyama et al., 2004; Alves et al., 2013)

Este teste se baseia na tendência natural do animal de se agarrar quando suspenso pela cauda. O animal agarra uma barra de metal horizontal enquanto é levemente puxado pela cauda. A barra ou grade é acoplada a um transdutor de força que mede o pico da força de tração (em gramas), que pode ser visualizado em uma tela digital. O objetivo deste teste é avaliar o tônus dos animais e/ou a força dos membros anteriores e posteriores ao mesmo tempo ou separadamente. Este método pode ser útil para medir a progressão de uma disfunção neuromuscular em ratos (Maurissen et al. 2003) e para verificar efeitos adicionais não esperados em recurso terapêutico analgésico (Almeida et al., 2013).

O teste foi realizado com um animal por vez, sendo obtidas, para cada animal, três medidas com intervalos de 5 minutos entre as mensurações. Para cada animal, foi escolhido o melhor valor alcançado entre as três medidas.

4.5. Séries experimentais

Esse estudo foi esquematizado em três séries experimentais, sendo a primeira delas um estudo comportamental para identificar o efeito da CI no modelo de inflamação articular, comparando-a com o tratamento farmacológico da morfina sistêmica. A segunda e terceira séries experimentais foram realizadas para verificar a influência dos receptores opióides (μ e δ) presentes na medula espinhal e no RVM na antinocicepção gerada pela CI.

4.5.1. Série comportamental

4.5.1.1. Injeção intraperitoneal de morfina

Uma dose de morfina (5 mg/kg) foi administrada nos animais por via intraperitoneal (Skyba et al., 2005). Os testes comportamentais foram realizados uma hora após o tratamento assim como foi realizado nos demais grupos.

4.5.1.2. Delineamento experimental

A primeira série de experimentos avaliou a habilidade da CI aplicada no joelho esquerdo para produzir aumento do limiar mecânico após indução da inflamação. A inflamação do joelho foi induzida no Dia 0. No dia 1, foi realizado o tratamento nos grupos CI e morfina em única administração 24 h após a injeção de caolina/carrageína, momento em que a hiperalgesia e a inflamação são máximas. Animais controles foram similarmente anestesiados por 20 minutos e os eletrodos foram colocados no joelho inflamado, mas sem passagem de corrente elétrica. Quinze ratos foram igualmente divididos em três grupos: CI (n=5), morfina (n=5) e controle (n=5).

Todos os testes foram feitos com o experimentador cego para o tipo de estimulação. O limiar mecânico foi medido antes e 24 h após indução da inflamação e, novamente, após a aplicação do tratamento (Figura 5).

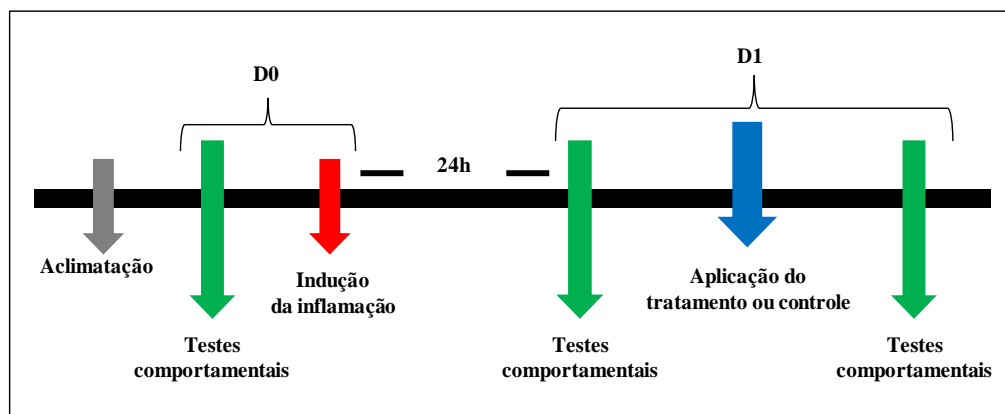


Figura 5. Delineamento experimental da série comportamental.

4.5.2. Série experimental para bloqueio espinal

4.5.2.1. Injeção intratecal

A injeção intratecal se caracteriza por ser de rápida execução, com alta reprodutibilidade, fácil aplicabilidade e exige pequenas doses de fármacos para sua utilização (Hylden e Wilcox, 1980). É uma técnica segura que não causa efeitos colaterais ao animal (Almeida et al., 2000).

Os animais foram inicialmente anestesiados com isoflurano (2%-5%). A injeção intratecal consistiu em introduzir uma agulha hipodérmica (13x4,5, BD®) no espaço intervertebral entre as vértebras L5 e L6, próximo ao final da medula espinal e início da cauda equina. Usualmente há um reflexo de retirada da cauda indicando sucesso no procedimento de introdução da agulha nesta região (Hylden e Wilcox, 1980).

4.5.2.2. Delineamento experimental

A série experimental de bloqueio espinal determina a habilidade dos antagonistas de receptores opióides seletivos administrados intratecalmente para bloquear os possíveis efeitos provocados pela CI no limiar mecânico. Naloxona (20 µg, 10 µL) (Aimone e Gebhart 1986)

ou naltrindole (5 µg, 10 µL) (Rossi, Pasternak, e Bodnar 1994) foram injetados na medula espinhal 15 minutos antes da estimulação ativa com CI ou controle (Thorat e Hammond 1997). Estes experimentos avaliam diretamente o papel dos receptores opióides espinhais na analgesia produzida pela CI. Os animais foram aclimatados e o tratamento foi administrado 24 h após indução da inflamação. Os ratos foram injetados com veículo (solução salina estéril - 10 µL) ou um antagonista de receptor opióide (naltrindole ou naloxona) na medula espinhal 15 minutos antes da aplicação de CI. No quadro 1, são apresentados os grupos, número de animais e doses dos fármacos utilizados.

Quadro 1. Grupos, número de animais e doses dos antagonistas opióides e veículo da série experimental de bloqueio espinhal.

Grupo	Animais (n)	Dose/Volume
CI + Naloxona	6 ratos	20 µg/ 10 µL
CI + Naltrindole	6 ratos	5 µg/ 10 µL
CI + Veículo	6 ratos	10 µL
CI inativa + Veículo	6 ratos	10 µL

Todos os testes foram feitos com o experimentador cego para a droga injetada. O limiar mecânico foi mensurado antes e 24 h após injeção de caolina/carragenina e, novamente, após aplicação da CI (Figura 6).

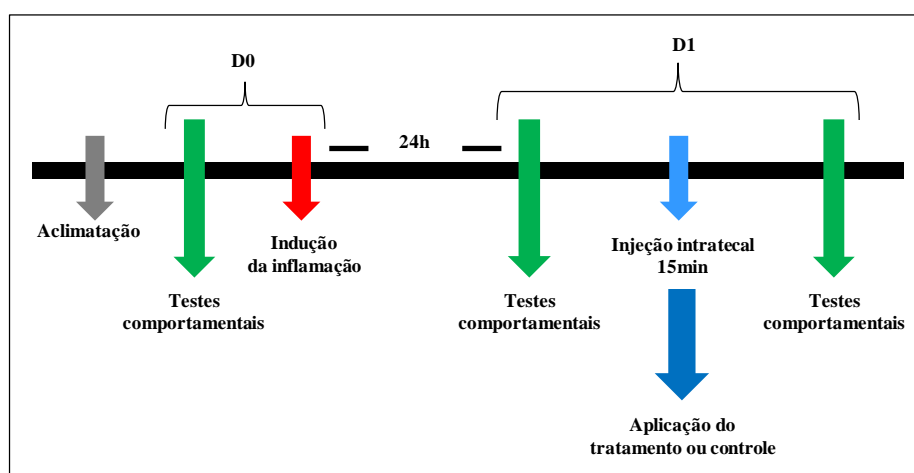


Figura 6. Delineamento experimental da série de bloqueio espinhal.

Animais controles foram similarmente anestesiados com isoflurano (2%-5%) por 20 minutos e os eletrodos foram colocados no joelho inflamado, mas nenhuma corrente elétrica foi liberada. Todos os testes foram feitos com o experimentador cego para a estimulação.

4.5.3. Série experimental para bloqueio supraespinal

4.5.3.1. Cirurgia para implante da cânula intracerebral

Cânula guia intracerebral foi estereotaxicamente implantada no RVM 3 a 5 dias antes da indução da inflamação por injeção de caolina/carragenina. Os ratos foram anestesiados com uma injeção de tiopental sódico (Cristália, 50 mg/Kg, i.p.) e fixos em um capacete de acrílico (cimento acrílico) sobre a calota craniana para implantar a cânula guia (17,5 mm de extensão; 13x4,5, BD®). Depois da incisão na linha média da cabeça, o crânio foi exposto, e um pequeno orifício feito para a colocação da cânula guia. A cânula foi colocada 3 mm dorsalmente a região do RVM, usando as seguintes coordenadas: intra-aural: -2,0 mm; mediolateral: 0,0 mm; e dorsoventral: -7,5 mm (Paxinos e Watson, 1998). Fixou-se a cânula no crânio através de cimento acrílico e dois pequenos parafusos estéreis. Uma cânula com mandril (Plastics One) foi inserida na cânula guia para manter a sua abertura para passagem da droga. Todos os animais tiveram um período de recuperação pós-operatória antes de iniciar os testes (3 a 5 dias).

Para examinar a colocação da cânula no RVM, um volume equivalente de azul de metileno foi injetado ao final do experimento. Os ratos foram submetidos à eutanásia e perfundidos transcardialmente com 4% de paraformaldeído em capela de exaustão. Após isto, o cérebro foi removido e armazenado em solução de 30% de sacarose. Então, o cérebro foi seccionado em fatias de 40 µm no criostato e examinado sob luz de microscópio ótico para confirmação do local de colocação da cânula.

4.5.3.2. Delineamento experimental

A série experimental para bloqueio supraespinal determina a habilidade de antagonistas seletivos de receptores opióides injetados intracerebralmente para bloquear possíveis efeitos provocados pela CI no limiar mecânico. Estes experimentos testam diretamente o papel dos receptores opióides supraespinhais. Os animais foram implantados com cânula intracerebral guia no RVM 3 a 5 dias antes da injeção de caolina/carragenina no joelho. A CI foi administrada 24 h após indução da inflamação. Os ratos foram injetados com veículo ou um antagonista de receptor opióide no bulbo 15 minutos antes da aplicação do tratamento. Nesta série experimental, foram utilizados os antagonistas opióides naloxona (20 µg, 1 µL) (Aimone e Gebhart, 1986) ou naltrindole (5 µg, 1 µL) (Rossi et al., 1994) microinjetados no RVM 15 minutos antes da aplicação de CI ativa ou controle (Thorat e Hammond, 1997). Um volume equivalente de veículo foi injetado no bulbo ao invés de naloxona ou naltrindole para os animais que receberam CI ativa ou controle. No quadro 2, são apresentados os grupos, número de animais e doses dos fármacos utilizados.

Quadro 2. Grupos, número de animais e doses dos antagonistas opióides e veículo da série experimental de bloqueio supraespinal

Grupo	Animais (n)	Dose/Volume
CI + Naloxona	6 ratos	20 µg/ 1 µL
CI + Naltrindole	6 ratos	5 µg/ 1 µL
CI + Veículo	6 ratos	1 µL
CI inativa + veículo	6 ratos	1 µL

Todas as injeções foram feitas enquanto os animais estavam conscientes. Para a microinjeção, uma cânula injetora foi conectada a uma seringa de Hamilton (10µL, Hamilton®) através de um tubo de polietileno 10 preenchido com salina estéril. A microinjeção (0,5 µL) foi realizada durante um período de 2 minutos e a passagem da bolha de ar no tubo foi cuidadosamente observada para assegurar que a solução da droga entrou na cânula injetora com o auxílio de uma bomba de infusão (Insight®, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil).

Todos os testes foram feitos com o experimentador cego para a droga injetada. Os testes comportamentais foram realizados antes e 24 h após a indução de inflamação e, novamente, após a aplicação do tratamento com a CI (Figura 7). Animais controles foram anestesiados com isoflurano (2%-5%) por 20 minutos e os eletrodos foram colocados no

joelho inflamado, mas nenhuma corrente elétrica foi liberada.

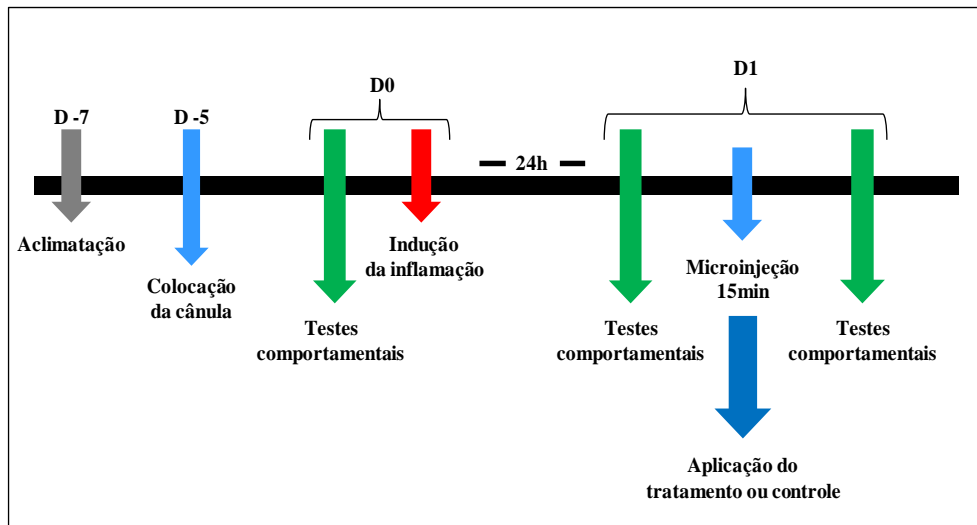


Figura 7. Delineamento experimental da série de bloqueio supraespinhal.

4.6. Análise estatística

Em todas as séries experimentais, foi utilizado o teste não paramétrico Kruskal Wallis para diferenças entre grupos e para diferenças intra-grupo, o teste de Friedman, seguido pelo post hoc de Tukey para analisar a sensibilidade mecânica. Para analisar a força de preensão, foram utilizados os testes análise de variância (ANOVA) para testar a diferença entre grupos, e o ANOVA bicaudal para analisar medidas repetidas. Para comparações múltiplas, foi utilizado o teste de Bonferroni. O valor de p menor que 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

5. RESULTADOS

Após 24 horas da injeção intraarticular, a mistura de carragenina e caolina induziu hipernocicepção visto que o limiar mecânico da pata reduziu significativamente em todos os grupos ($p < 0,05$). Além disso, os animais apresentaram alteração comportamental, mantendo posição antálgica com flexão do membro e proteção da pata que teve a articulação do joelho inflamada. Observou-se aumento significativo do limiar mecânico de retirada da pata imediatamente após intervenção com CI ou morfina quando comparado aos animais não tratados ($p < 0,02$) e ao momento pré-tratamento ($p < 0,01$) (Figura 8).

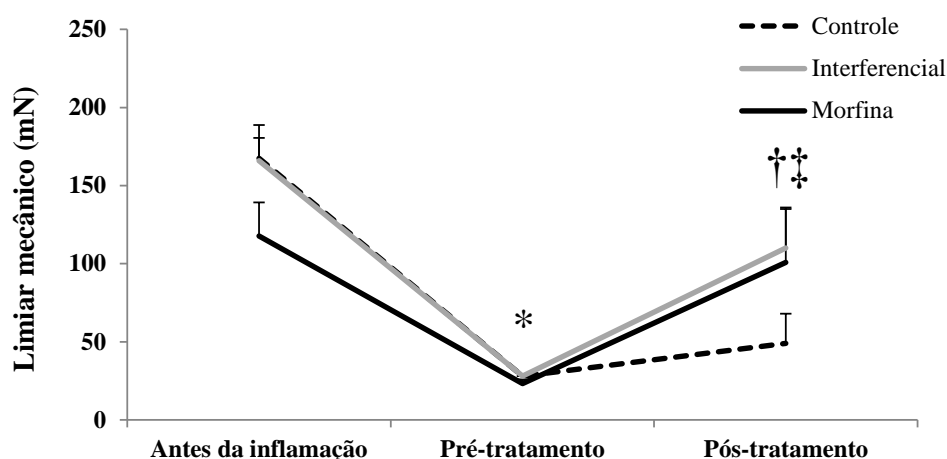


Figura 8. Limiar mecânico de retirada da pata (mN) nos grupos tratados com corrente interferencial, morfina e controle (salina) nos períodos antes da indução da inflamação, antes (pré-tratamento) e após tratamento (pós-tratamento). * $p < 0,005$ em relação ao momento antes da inflamação; Friedman seguido por Tukey. † $p < 0,001$ em relação ao momento pré-tratamento; Friedman seguido pelo teste de Tukey. ‡ $p < 0,002$ em relação ao controle; Kruskal Wallis seguido pelo teste de Tukey.

Em relação à força de preensão os animais não sofreram variações estatisticamente significativas após a indução e não houve mudança dos parâmetros nos animais tratados com CI, morfina nem em relação ao grupo controle (Figura 9).

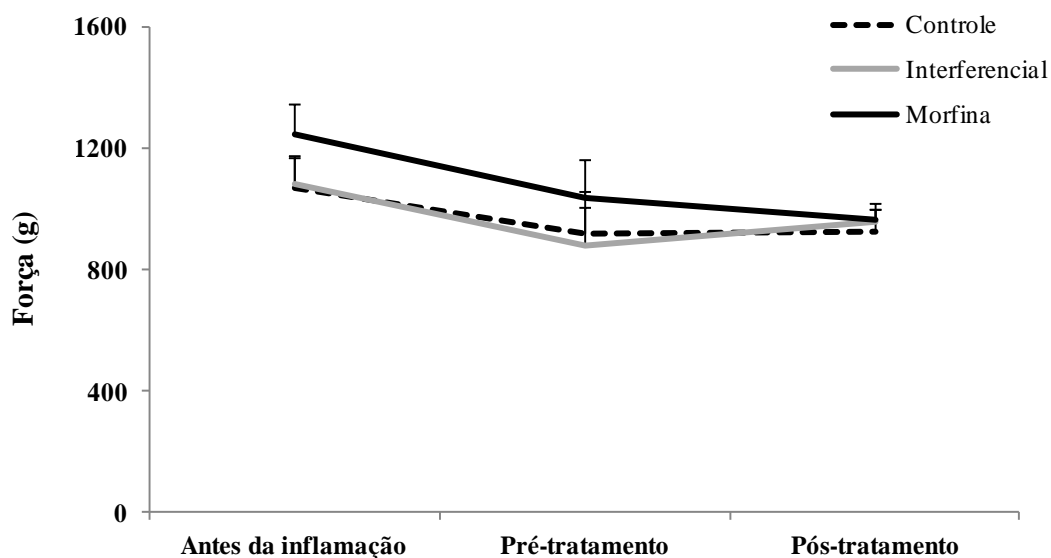


Figura 9. Força muscular (g) nos grupos tratados com corrente interferencial, morfina e controle (salina) nos períodos antes da indução da inflamação, antes (pré-tratamento) e após tratamento (pós-tratamento). Não houve diferença estatisticamente significativa.

Em todos os grupos da segunda e terceira séries experimentais houve redução significativa do limiar mecânico após a injeção intraarticular de carragenina e caolina ($p < 0,001$). Os animais também mantiveram posição antálgica com flexão do membro e proteção da pata em que foi induzida inflamação articular. Houve aumento significativo do limiar mecânico de retirada da pata nos grupos tratados com CI e nos grupos em que houve administração de antagonistas dos receptores opióides mu e delta (naloxona e naltrindole, respectivamente) antes do tratamento com CI quando comparados com os animais não tratados ($p < 0,001$) e ao momento pré-tratamento ($p < 0,002$), tanto na série experimental para bloqueio espinhal como supraespinhal (Figura 10).

A força de prensão dos animais não sofreu variação estatisticamente significativa após a indução e nem promoveu mudança após tratamento com CI nem nos grupos em que houve administração de antagonistas dos receptores opióides mu e delta (naloxona e naltrindole, respectivamente) antes do tratamento com CI (Figura 11).

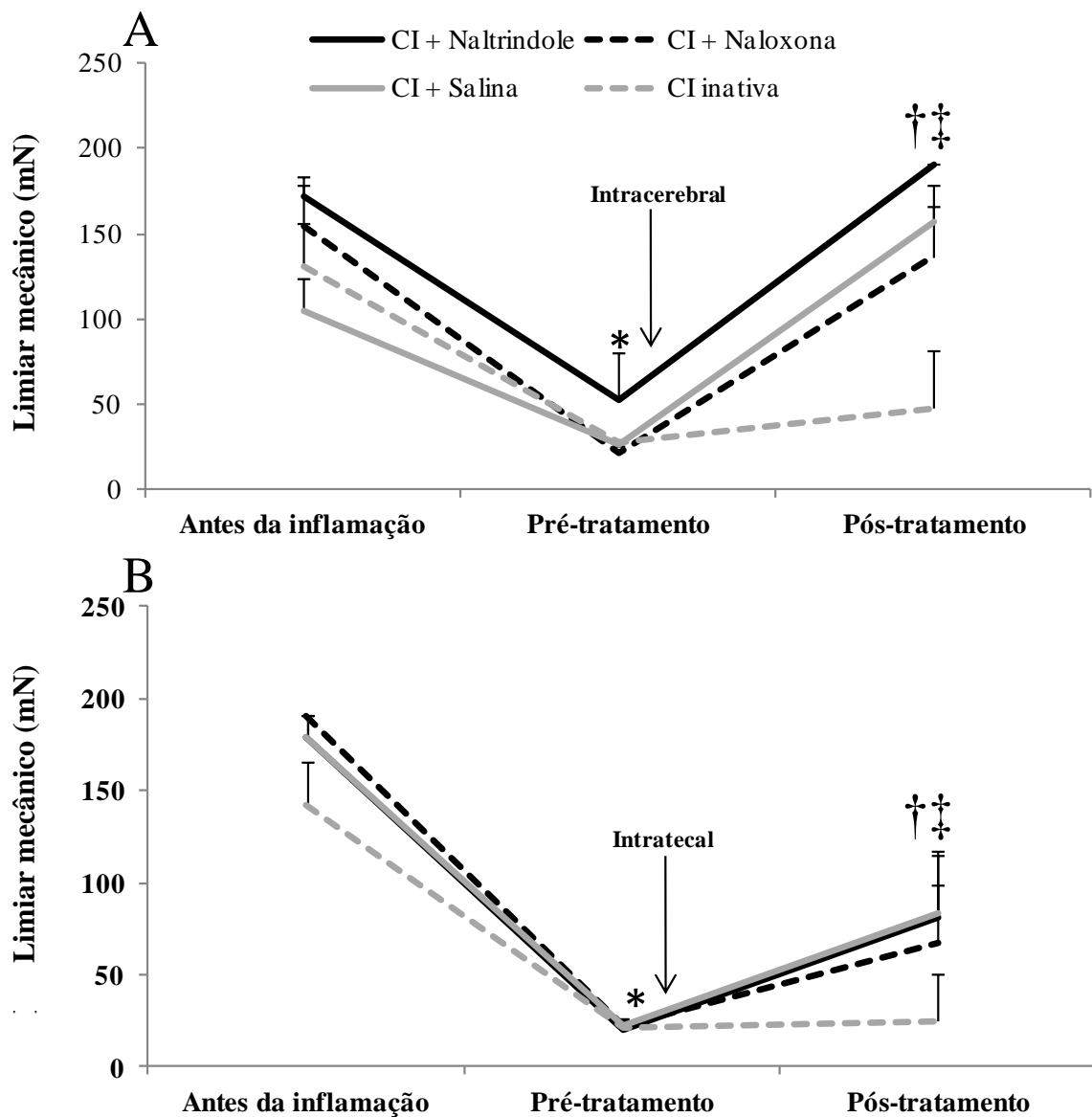


Figura 10. Limiar mecânico de retirada da pata (mN) nos grupos tratados com corrente interferencial e no controle (salina) nos períodos antes da indução da inflamação, antes (pré-tratamento) e após tratamento (pós-tratamento). A: administração intracerebral de antagonistas de receptores opióides (naltrindole e naloxona). B: administração intratecal de antagonistas de receptores opióides (naltrindole e naloxona). * $p < 0,001$ em relação ao momento antes da inflamação; Friedman seguido pelo teste de Tukey. † $p < 0,002$ em relação ao momento pré-tratamento; Friedman seguido pelo teste de Tukey. ‡ $p < 0,001$ em relação ao controle; Kruskal Wallis seguido pelo teste de Tukey.

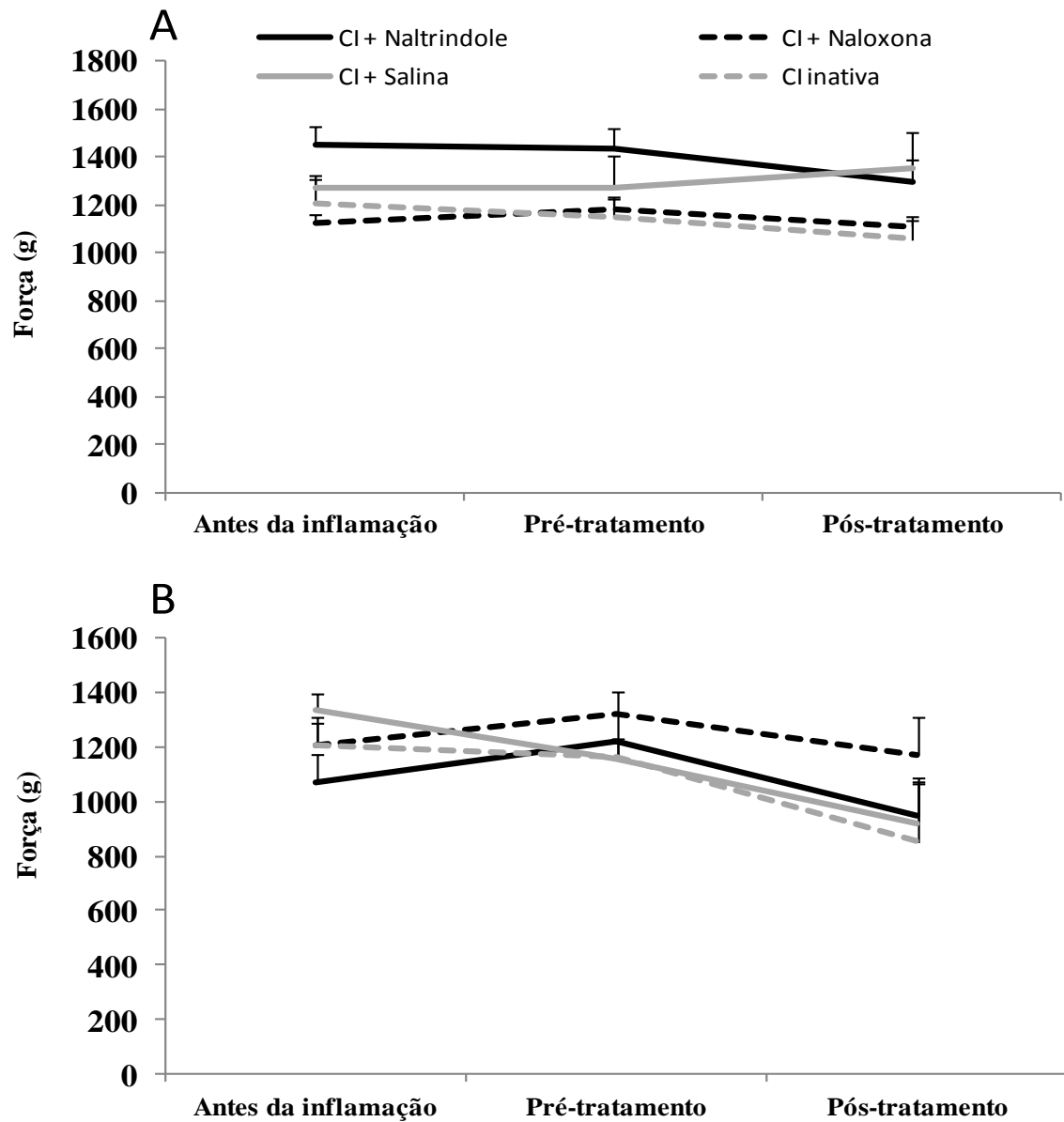


Figura 11. Força muscular (g) nos grupos tratados com corrente interferencial e no controle (salina) nos períodos antes da indução da inflamação, antes (pré-tratamento) e após tratamento (pós-tratamento). A: administração intracerebral de antagonistas de receptores opióides (naltrindole e naloxona). B: administração intratecal de antagonistas de receptores opióides (naltrindole e naloxona). Não houve diferença estatisticamente significativa.

6. DISCUSSÃO

O presente estudo evidenciou que a corrente interferencial é efetiva para reduzir a hipernocicepção induzida por carragenina e caolina, assim como a morfina. Além disso, foi observado que a antinocicepção promovida pela CI não é mediada por receptores opióides mu e delta, visto que, após bloqueio farmacológico desses receptores por via intracerebral e intratecal, a terapêutica manteve o efeito de reduzir a hipernocicepção. A corrente interferencial tem sido pouco investigada pelos pesquisadores, sendo este o primeiro estudo que avaliou mecanismo de ação na tentativa de elucidar o meio pela qual a CI promove analgesia.

Há algumas décadas, estudos clínicos evidenciam que a CI é efetiva na redução da dor (Ganne, 1976; Johnson e Wilson, 1997; Robertson e Spurrirt, 1998; Hurley, et al. 2001; Jarit et al., 2003; Adedoyin et al., 2005; Venancio et al., 2013). No presente estudo, verificou-se que a CI promoveu redução da hipernocicepção em modelo animal de osteoartrite (OA) de joelho. Uma série de ensaios clínicos também obtiveram resultados de alívio clínico da dor após utilização da CI em sujeitos com OA (Adedoyin et al., 2002; Adedoyin et al., 2005b; Atamaz et al., 2012; Gundog et al., 2012). Além disso, foram utilizados basicamente os mesmos parâmetros de administração da estimulação elétrica, caracterizada por duração de 20 minutos, intensidade sensorial (até que os pacientes relatassem sensação de parestesia confortável), FAM entre 80 e 100 Hz e eletrodos colocados diretamente no joelho acometido (Adedoyin et al., 2002; Adedoyin et al., 2005; Atamaz et al., 2012).

Em estudos clínicos para o manejo da dor causada por OA de joelho, Gundog et al. (2012) verificaram que a terapia interferencial reduz a dor e a incapacidade com efeitos similares produzidos por protocolos que utilizaram diferentes FAMs, tais como 40, 100 e 180 Hz. Em outro ensaio clínico, Atamaz et al. (2012) compararam o efeito de CI, TENS e ondas curtas associados a exercícios e programa educativo em pacientes com OA de joelho. O tratamento foi realizado por cinco dias na semana, durante três semanas. Em todos os grupos de tratamento, houve redução da dor e diminuição no tempo de caminhada. Pacientes tratados com CI usaram uma menor quantidade de paracetamol durante seis meses em comparação ao grupo controle, enquanto que nos demais grupos houve redução do consumo de fármacos apenas por três meses após a terapia (Atamaz et al., 2012). Diante do exposto, maior tempo para introduzir fármacos para alívio da dor após descontinuação do tratamento com CI indica

que essa estratégia pode ter efeito mais duradouro que TENS e ondas curtas, visto que o paciente com OA se manteve sem o uso de fármacos analgésicos. De forma similar aos estudos clínicos citados anteriormente, Adedoyin et al. (2005) compararam o efeito da TENS e da CI associados com exercícios; em todos os protocolos de tratamento, houve redução da dor e da incapacidade funcional física ao longo do tempo, ou seja, CI e TENS apresentaram efeitos semelhantes ao grupo tratado somente com exercício.

A CI também tem efeito analgésico comprovado em estudos clínicos relacionados a condições dolorosas como dor aguda (pós-operatória) (Jarit et al., 2003); dores crônicas somática localizada (lombalgia e artrite) (Corrêa et al., 2013; Hurley et al., 2001; Hurley et al., 2004; Walker et al., 2006; Werners et al., 1999) ou difusa (fibromialgia) (Almeida et al., 2003); e dor visceral (dismenorréia primária) (Tugay et al., 2007). Em estudos pré-clínicos, a CI reduz a hipernocicepção em modelos animais de artrite e fibromialgia, que são exemplos de dores aguda inflamatória e crônica difusa, respectivamente (Jorge et al., 2006; DeSantana et al., 2011).

Embora haja uso frequente da CI e o efeito analgésico seja comprovado, revisões sistemáticas recentes sobre CI evidenciaram a escassez de ensaios clínicos randomizados de boa qualidade metodológica para investigar o seu efeito terapêutico, sugerindo que os estudos são limitados, contraditórios e fornecem provas inconclusivas para a sua utilização com o objetivo de reduzir a dor (Beatti et al., 2010; Fuentes et al., 2011). Para especular a padronização dos parâmetros de tratamento das correntes terapêuticas e garantir segurança na indicação do tratamento, são necessários estudos prévios em ciência básica para subsidiar a aplicabilidade clínica.

Com a finalidade de investigar efeitos e mecanismos de ação de um tratamento específico, é importante a utilização de um modelo animal bem controlado, pois permite medidas objetivas do comportamento nociceptivo, assim como eliminação do componente motivacional afetivo da dor para determinar a eficácia da terapêutica estudada (Sluka et al., 1998). Neste estudo, assim como realizado por Jorge et. al (2006), foi utilizado o modelo experimental de inflamação articular induzida por carragenina, um agente inflamatório que preenche os critérios para mimetizar dor inflamatória em seres humanos (Jorge et al., 2006).

O presente estudo mostrou que a CI foi eficaz na redução da nocicepção mecânica secundária em ratos com joelhos inflamados por mistura de carragenina e caolina. Similarmente, um único estudo prévio com roedores verificou que a CI reduz a resposta nociceptiva evocada por formalina injetada subcutaneamente na pata e que a administração de CI 2 horas após injeção de carragenina impediu um aumento na hiperalgesia mecânica

induzida por carragenina imediatamente após a descontinuação da aplicação da corrente elétrica. Este efeito não pareceu ser resultado de uma ação anti-inflamatória, visto que houve redução da nocicepção sem efeito concomitante sobre o edema da pata (Jorge et al., 2006).

A CI aplicada com os mesmos parâmetros utilizados no presente estudo também foi efetiva para reduzir a hiperalgesia mecânica em modelo pré-clínico da fibromialgia (FM) (DeSantana et al., 2011). Diferentemente da dor inflamatória induzida pela carragenina, esse é um modelo de dor muscular generalizada não inflamatória, modelo pré clínico da fibromialgia, em que se desenvolve hipernocicepção primária e secundária bilateral e visceral após uma dupla injeção de salina unilateral no gastrocnêmio (Sluka et al., 2001). Neste modelo, há sensibilização central devido a ativação dos núcleos magno da rafe e gigantocelulares, os quais estão situados no RVM (Tillu et al., 2008). Além disso, é importante salientar que a hipernocicepção desenvolvida nesse modelo está associada ao desequilíbrio no balanço entre neurotransmissores excitatórios e inibitórios (DeSantana et al., 2013) e que o tratamento com CI possivelmente promoveu antinocicepção pela ativação do sistema descendente inibitório. Visto que esse sistema se origina no mesencéfalo, na região da PAG, a qual envia projeções para o RVM e termina no corno dorsal da medula espinhal. O sistema inibitório descendente tem, como uma de suas funções, promover analgesia através de receptores opioides, adrenérgicos e serotoninérgicos (Campos e Basbaum, 1999). Um estudo que avaliou o efeito da CI com frequências portadoras entre 1 kHz, 8 kHz e 10 kHz verificou que a frequência de 1 kHz promoveu melhor efeito hipoalgésico em modelo de dor experimental (Venancio et al., 2003). Os autores supõem que o uso de frequências de 8 kHz e 10 kHz pode ter impedido a ativação de circuitos inibitórios neurais localizados no corno posterior da medula espinhal (teoria do controle do portão de dor) (Venancio et al., 2013) ou, partindo do pressuposto de que houve ativação espinhal, poderiam participar do processo de hipoalgesia nos centros superiores do sistema inibitório descendente.

Em comparação com a TENS de alta, TENS de baixa frequência e CI, foi identificado que tanto a CI como a TENS de baixa frequência não produziram tolerância analgésica em 5 dias consecutivos de tratamento no modelo animal da FM (DeSantana et al., 2011). Em contrapartida, no modelo animal de artrite, desenvolvido após injeção intratricular de carragenina e caolina, a TENS de alta e baixa frequência promovem tolerância analgésica no quinto dia de tratamento consecutivo (Chandran e Sluka, 2003) com mecanismos comprovados em relação ao desenvolvimento da tolerância pelo bloqueio dos receptores NMDA (N-metil D-aspartato) (Hingne e Sluka, 2008) e ativação dos receptores de colecistoquinina (CCK) (DeSantana et al., 2010). Essas informações, sugerem que no modelo

da FM, a baixa frequência da TENS e a CI podem ter mecanismos não opióides para produzir a antinocicepção sem que haja tolerância analgésica. Considerando que se a CI realmente não tiver mecanismo de ação mediado pelo sistema opioidérgico, essa informação tem relevância clínica devido ao potencial uso da CI para promover analgesia sem diminuição ou perda do efeito pelo seu uso contínuo e não estaria associada aos efeitos colaterais causados pela ativação do sistema opioidérgico. Foi identificado que a morfina reverteu a nocicepção gerada pela inflamação articular, corroborando com a informação de que o modelo de dor inflamatória induzida pela carragenina é completamente bloqueado pela morfina, um agonista seletivo de receptor opióide mu (Tonussi e Ferreira, 1994; Sluka, 2000; Skyba et al., 2005). Assim, esse modelo é válido para testar a eficácia dos agentes farmacológicos e pode ser igualmente usado para testar a eficácia de agentes não-farmacológicos (Sluka, 2000; Cowan, 2003). A TENS, por exemplo, é um tratamento não-farmacológico com mecanismos bem definidos a partir de estudos experimentais com modelo de inflamação articular (Sluka et al., 1998; Sluka et al., 1999; Sluka, 2000; Radhakrishnan et al., 2003; King et al., 2005; Sabino et al., 2008; DeSantana et al., 2008).

Os achados deste estudo indicam que a CI, similarmente a morfina, não provocou alteração na força de prensão muscular. Os resultados foram similares nas séries experimentais comportamental e de bloqueio farmacológico espinhal e supraespinhal. Este resultado sugere que a antinocicepção é modulada por mecanismos especificamente analgésicos, já que foi evidenciado efeito antinociceptivo do borneol (monoterpeno bicíclico) em estudo com modelo animal de peritonite induzida por carragenina sem comprometimento da força de prensão (Almeida et al., 2013). Esse teste é usado para avaliar parâmetros de força muscular e identificar efeito relaxante muscular em tratamentos farmacológicos (Nevins et al., 1993), nesse estudo foi usado para comprovar que o efeito antinociceptivo não foi decorrente de sedação ou relaxamento muscular. Estudos pré-clínicos em eletroterapia analgésica geralmente não têm avaliado essas variáveis. Portanto, a avaliação de força muscular foi incluída nos procedimentos deste estudo no intuito de minimizar os vieses provenientes de teste comportamentais, bem como assegurar que o aumento do limiar mecânico seria consequente a um real efeito antinociceptivo.

O bloqueio farmacológico dos receptores opióides mu e delta a nível espinhal e supraespinhal não preveniu a antinocicepção promovida pela CI, corroborando a especulação de Salisbury e Johnson (1995) de que os mecanismos de ação dessas duas modalidades de estimulação elétrica podem diferir entre si embora estudos encontraram igual efeito da TENS e CI (Tabasam e Johnson, 1999; Johnson e Tabasam, 2003a; Atamaz et al., 2012)

contrariando a hipótese de que a terapia interferencial e a TENS possuem mecanismos analgésicos semelhantes (Cheing e Hui-Chan, 2003). A maioria dos estudos não conseguiu demonstrar diferenças nos efeitos da IFC e TENS (Tabasam e Johnson, 1999; Alves-Guerreiro et al., 2001; Johnson e Tabasam, 2002; Johnson e Tabasam, 2003a) mas é possível que diferentes mecanismos de ação promovam o mesmo desfecho clínico em diferentes estratégias terapêuticas.

Diversos estudos experimentais foram realizados para elucidar o mecanismo de ação responsável pela produção da analgesia promovida pela TENS de baixa e alta frequência. Especificamente, TENS de baixa frequência ativa receptores opióides mu, serotoninérgicos e colinérgicos na medula espinhal, além de receptores opióides mu supraespinhais (Sluka et al., 1999; Kalra et al., 2001; Radhakrishnan et al., 2003; Radhakrishnan e Sluka, 2003). Em paralelo, a antinocicepção produzida pela TENS de alta frequência ativa receptores opióides delta, colinérgicos subaracnoideos e os receptores delta-opióides supraespinhais (Sluka et al., 1999; Kalra et al., 2001; Radhakrishnan et al., 2003; Radhakrishnan e Sluka, 2003). Os dados do presente estudo sugerem que a CI não age em receptores opióides mu e delta espinhais e supraespinhais.

Apesar de a CI ter uma FAM de 100 Hz, foi avaliado tanto o receptor mu, responsável pela analgesia na TENS de frequência baixa (entre 2 e 10 Hz), como o receptor delta, que promove analgesia da TENS de alta frequência (100 Hz). Desse modo, refuta-se a ideia de que a CI seria uma unidade redundante da TENS (Alon, 1987), visto que o mecanismo de ação mais explorado na literatura científica sobre a TENS não foi comprovado na terapia interferencial.

O presente estudo apresentou uma discussão em paralelo a TENS, visto que existe a comparação clínica e científica entre esses dois recursos elétricos com finalidade analgésica. Estudos que investigam os mecanismos de ação das correntes de forma mais aprofundada são escassos, sendo a TENS a única corrente elétrica com propriedade analgésica com mecanismo de ação elucidado com evidências científicas bem documentada há mais de uma década. As correntes que mais se assimilam à interferencial são as correntes russa e aussie, porque elas também possuem frequências em kilohertz. A CI possui formato de onda senóide e tem sido amplamente utilizada para redução da dor (Ganne, 1976; Johnson e Wilson, 1997; Venancio et al., 2013; Ward, 2009) e as correntes russa e aussie, que têm formato retangular, têm uso clínico objetivando fortalecimento muscular, principalmente (Ward, Oliver, Bucela, 2006; Ward e Oliver, 2007; Ward, 2009). Sabe-se que as CAs com frequências em kilohertz são mais confortáveis e eficazes que as CPs (Ward et al, 2006). Mas é possível que haja outros

fatores associados com a estimulação de alta frequência, como depleção de neurotransmissores ou tempo de recuperação insuficiente, devido ao período refratário relativo das fibras nervosas (Ward e Oliver, 2007). Apesar do amplo uso clínico das CFMAs para analgesia e ganho de força muscular, o mecanismo de ação dessas correntes ainda não foi elucidado.

Como perspectiva para estudos futuros, o envolvimento de diferentes sistemas inibitórios descendentes de dor podem elucidar o mecanismo de ação da CI, visto que estes promovem analgesia por circuitos que se originam no mesencéfalo e terminam no corno dorsal da medula, compostos pelas vias noradrenérgicas e serotoninérgicas (Radhakrishnan et al., 2003). A investigação pode ser realizada por meio do bloqueio central de receptores muscarínicos (Radhakrishnan, Sluka, 2003), serotoninérgicos ou adrenérgicos (Radhakrishnan et al., 2003).

7. CONCLUSÃO

A corrente interferencial, assim como a morfina, tem potencial antinociceptivo em modelo pré-clínico de artrite do joelho induzido por carragenina. No entanto, esse efeito não é mediado por receptores opioides mu e delta em regiões supraespinhal e espinhal.

REFERÊNCIAS

Adedoyin, R A; Olaogun, MOB; Fagbeja, O O. 2002. “Effect of Interferential Current Stimulation in Management of Osteo-arthritic Knee Pain”. *Physiotherapy* 88 (8): 493–99.

Adedoyin, R A; Olaogun, M O B; Oyeyemi, A L. 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.

Aimone, L D; Gebhart G F. 1986. “Stimulation-Produced Spinal Inhibition from the Midbrain in the Rat Is Mediated by an Excitatory Amino Acid Neurotransmitter in the Medial Medulla”. *The Journal of Neuroscience* 6 (6): 1803–13.

Alberts, B. 1998. *Essential Cell Biology*. Garland Science.

Ali, A A; Sabbahi, M A. 2000. “H-reflex changes under spinal loading and unloading conditions in normal subjects”. *Clinical Neurophysiology* 111 (4): 664–70.

Almeida, F R; Schivo, I R; Lorenzetti, B B; Ferreira, S H. 2000. “Chronic Intrathecal Cannulation Enhances Nociceptive Responses in Rats”. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research = Revista Brasileira de Pesquisas Médicas E Biológicas / Sociedade Brasileira de Biofísica. [et Al.]* 33 (8): 949–56.

Almeida, G R S; Silva, J C; Saraiva, S R G L; Junior, R G O; Quintans, J S S; Barreto, R S S; Bonjardim, L B; Cavalcanti, S C H; Quintans Junior, L J. 2013. “Borneol, a Bicyclic Monoterpene Alcohol, Reduces Nociceptive Behavior and Inflammatory Response in Mice”. *The Scientific World Journal* 2013.

Almeida, T F; Roizenblatt, S; Benedito-Silva, A A; Tufik, S. 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.

Alves, I G N, da Cruz, K M L; Mota, C M D; Santana, D S; Gaujac, D P; Carvalho, et al. 2013. “Experimental Hypothyroidism during Pregnancy Affects Nociception and Locomotor Performance of Offspring in Rats”. *European Journal of Pain (London, England)*.

Alves-Guerreiro, J, Noble, JG; Lowe, A S; Walsh, D M. 2001. “The Effect of Three Electrotherapeutic Modalities upon Peripheral Nerve Conduction and Mechanical Pain Threshold”. *Clinical Physiology* 21 (6): 704–11.

Atamaz, F C; Durmaz, B; Baydar, M; Demircioglu, O Y et al. 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.

Beatti, A; Rayner, A; Souvlis, T; Chipchase, L. 2010. “The analgesic effect of interferential therapy on clinical and experimentally induced pain”. *Physical Therapy Reviews* 15 (4): 243–52.

Buchmuller, A, Navez, M; Milletre-Bernardin, M; Pouplin,S; Presles, E; et al. Camdessanché, e Lombotens Trial Group. 2012. “Value of TENS for relief of chronic low back pain with or without radicular pain: Value of TENS for relief of chronic low back pain”. *European Journal of Pain* 16 (5): 656–65.

Burton, C E; David, R M; Portnoy, W M; Akers, L A. 1974. “The Application of Bode Analysis to Skin Impedance”. *Psychophysiology* 11 (4): 517–25.

Chandran, P; Sluka, KA. 2003. “Development of Opioid Tolerance with Repeated Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation Administration”. *Pain* 102 (1-2): 195–201.

Charman, R A. 1990. “Part 1: The Electric Cell”. *Physiotherapy* 76 (9): 503–8.

Chase, J; Robertson, V J; Southwell, B; Hutson, J; Gibb, S. 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.

Cheing, G L Y; Hui-Chan, C W Y. 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, M C C, Chase, J W; Gibb, S; Hutson, J M; Southwell, B R. 2009. “Improvement of Quality of Life in Children with Slow Transit Constipation after Treatment with Transcutaneous Electrical Stimulation”. *Journal of Pediatric Surgery* 44 (6): 1268–1272.

Coban, Ş; Akbal, E; Köklü, S; Köklü, K; Ulaşlı, M A; Erkeç, S; et al. 2012. “Clinical

Trial: Transcutaneous Interferential Electrical Stimulation in Individuals with Irritable Bowel Syndrome - a Prospective Double-Blind Randomized Study". *Digestion* 86 (2): 86–93.

Corrêa, J; Costa, L O; Oliveira, N T B; Sluka, K A; Liebano, R E. 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 (1): 195.

Cowan, A. 2003. "Buprenorphine: New Pharmacological Aspects". *International Journal of Clinical Practice. Supplement* (133): 3–8.

Da Silva, L F, DeSantana, J M; Sluka, K A. 2010. "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". *The Journal of Pain* 11 (4): 378–87.

Dailey, D L; Rakel, B A; Vance, C G T; Liebano, R E; Amrit, A S; Bush, H M; et al. 2013. "Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation Reduces Pain, Fatigue and Hyperalgesia While Restoring Central Inhibition in Primary Fibromyalgia". *Pain* 154 (11): 2554–62.

Demirtürk, F, Akbayrak, T; Karakaya, I C; Yüksel, I; Kirdi, N; Demirtürk, F; Kaya, S; et al. 2008. "Interferential Current versus Biofeedback Results in Urinary Stress Incontinence". *Swiss Medical Weekly* 138 (21-22): 317–21.

DeSantana, JM; Cruz, K M L; Quintans Jr., L; Bonjardim, L R; Lucca Jr., W; Badaue-Passos, D; Santana-Filho, V. 2011. "Electrical stimulation reduces secondary mechanical hyperalgesia in a non-inflammatory pain model in rats". *The Journal of Pain* 12 (4, Supplement): P72.

DeSantana, J M; Da Silva, L F S; Resende M A; Sluka, K A. 2009. "Transcutaneous electrical nerve stimulation at both high and low frequencies activates ventrolateral periaqueductal grey to decrease mechanical hyperalgesia in arthritic rats". *Neuroscience* 163 (4): 1233–41.

Desantana, J M; Sluka, K A; Lauretti, G R. 2009. "High and Low Frequency TENS Reduce Postoperative Pain Intensity after Laparoscopic Tubal Ligation: A Randomized Controlled Trial". *The Clinical Journal of Pain* 25 (1): 12–19.

DeSantana, J M; da Silva, L F; Sluka, K A. 2010. "Cholecystokinin receptors mediate tolerance to the analgesic effect of TENS in arthritic rats". *PAIN* 148 (1): 84–93.

DeSantana, J M, Santana-Filho, V J; Sluka, K A. 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.

Desantana, J M; da Cruz, K M; Sluka, K A. 2013. Animal models of fibromyalgia. *Arthritis Res Ther* 15(6):222.

Dolhem, R. 2008. "Histoire de l'électrostimulation en médecine et en rééducation". *Annales de Réadaptation et de Médecine Physique* 51 (6): 427–31.

Fuentes, C J; Armijo-Olivo, S; Magee, D J; Gross, D. 2010. "Does amplitude-modulated frequency have a role in the hypoalgesic response of interferential current on pressure pain sensitivity in healthy subjects? A randomised crossover study". *Physiotherapy* 96 (1): 22–29.

Fuentes, J; Armijo-Olivo, S; Magee, D J; Gross, D P. 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.

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

Gundog, M; Atamaz, F; Kanyilmaz, S; Kirazli, Y; Celepoglu, G. 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.

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

Heidland, A; Gholamreza, F; Klassen, A; Sebekova, K; Hennemann, H; Bahner, U; Iorio, B D. 2012. "Neuromuscular electrostimulation techniques: historical aspects and current possibilities in treatment of pain and muscle waisting". *Clinical Nephrology*.

Hingne, P M, Sluka, K A. 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.

Hurley, D A, Minder, P M; McDonough, S M, Walsh, D M; Moore, A P; Baxter, D G.

2001. “Interferential Therapy Electrode Placement Technique in Acute Low Back Pain: A Preliminary Investigation”. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation* 82 (4): 485–93.

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

Hylden, J L; Wilcox, GL. 1980. “Intrathecal Morphine in Mice: A New Technique”. *European Journal of Pharmacology* 67 (2-3): 313–16.

Ishiyama, T; Okada, R; Nishibe, H; Mitsumoto, H; Nakayama, C. 2004. “Riluzole Slows the Progression of Neuromuscular Dysfunction in the Wobbler Mouse Motor Neuron Disease”. *Brain Research* 1019 (1-2): 226–36.

Ganne, J M. 1976. “Interferential Therapy”. *Interferential Therapy*, setembro, 3 edição.

Jarit, G J; Mohr, K J; Waller, R; Glousman, R E. 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, M I; Tabasam, G. 2002. “A Single-Blind Placebo-Controlled Investigation into the Analgesic Effects of Interferential Currents on Experimentally Induced Ischaemic Pain in Healthy Subjects”. *Clinical Physiology and Functional Imaging* 22 (3): 187–96.

Johnson, M I; Wilson, H. 1997. “The Analgesic Effects of Different Swing Patterns of Interferential Currents on Cold-induced Pain”. *Physiotherapy* 83 (9): 461–67.

Johnson, M I. 1999. “The Mystique of Interferential Currents When Used to Manage Pain”. *Physiotherapy* 85 (6): 294–97.

Johnson, M I.; Tabasam, G. 2003a. “An Investigation Into the Analgesic Effects of Interferential Currents and Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation on Experimentally Induced Ischemic Pain in Otherwise Pain-Free Volunteers”. *Physical Therapy* 83 (3): 208–23.

———. 2003b. “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.

Jorge, S; Parada, C A; Ferreira, S H; Tambeli, C H. 2006. “Interferential Therapy

Produces Antinociception during Application in Various Models of Inflammatory Pain”. *Physical Therapy* 86 (6): 800–808.

Kajbafzadeh, A; Sharifi-Rad, L; Baradaran, N; Nejat, F. 2009. “Effect of Pelvic Floor Interferential Electrostimulation on Urodynamic Parameters and Incontinency of Children with Myelomeningocele and Detrusor Overactivity”. *Urology* 74 (2): 324–29.

Kalra, A, Urban, M O; Sluka, K A. 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.

Kieffer, B L; Gavériaux-Ruff, C. 2002. “Exploring the opioid system by gene knockout”. *Progress in Neurobiology* 66 (5): 285–306.

King, E W.; Audette, A; Gwendolyn, A; Athman, H; Oanh, X N; Sluka, K A; Fairbanks, C A. 2005. “Transcutaneous electrical nerve stimulation activates peripherally located alpha-2A adrenergic receptors”. *Pain* 115 (3): 364–73.

Lagerström, M C; Schiöth, H B. 2008. “Structural Diversity of G Protein-Coupled Receptors and Significance for Drug Discovery”. *Nature Reviews Drug Discovery* 7 (4): 339–57.

Lane, J F. 1970. “Electrical Impedances of Superficial Limb Tissues: Epidermis, Dermis, and Muscle Sheath*”. *Annals of the New York Academy of Sciences* 170 (2): 812–25.

Lee, H; Park, K. 2013. “Efficacy of Salvage Interferential Electrical Stimulation Therapy in Patients with Medication-Refractory Enuresis: A Pilot Study”. *International Neurourology Journal* 17 (3): 139–44.

Lewers, D; Clelland, J A; Jackson, J R; Varner, R E; Bergman, J. 1989. “Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation in the Relief of Primary Dysmenorrhea”. *Physical Therapy* 69 (1): 3–9.

Li, Y; Lefever, M R; Muthu, M; Bidlack, J M; Bilsky, E J; Polt, E R. 2012. “Opioid glycopeptide analgesics derived from endogenous enkephalins and endorphins”. *Future Medicinal Chemistry* 4 (2): 205–26.

Löfgren, M; Norrbrink, C. 2009. “Pain relief in women with fibromyalgia: A cross-over study of superficial warmth stimulation and transcutaneous electrical nerve stimulation”. *Journal of Rehabilitation Medicine* 41 (7): 557–62.

Low, J; Reed, A; Pope, G D. 1994. "Physical Principles Explained". *Physiotherapy* 80 (12): 869.

Macdonald, A J R. 1993. "A Brief Review of the History of Electrotherapy and Its Union with Acupuncture". *Acupuncture in Medicine* 11 (2): 66–75.

Mahmood, D; Akhtar, M; Vohora, D; Khanam, R. 2010. "Comparison of Antinociceptive and Antidiabetic Effects of Sertraline and Amitriptyline on Streptozotocin-Induced Diabetic Rats". *Human & Experimental Toxicology* 29 (10): 881–86.

Maurissen, J P J; Marable, B R; Andrus, A K; Stebbins, K E. 2003. "Factors Affecting Grip Strength Testing". *Neurotoxicology and Teratology* 25 (5): 543–53.

Mauroy, B, E G; Bonnal, J L; Devillers, P; Soret, R; Ametepe, B. 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.

McCleane, G; Howard, S S. 2007. "Opioids for Persistent Noncancer Pain". *Anesthesiology Clinics* 25 (4): 787–807.

Nevins, M E; Nash, S A; Beardsley, P M. 1993. "Quantitative Grip Strength Assessment as a Means of Evaluating Muscle Relaxation in Mice". *Psychopharmacology* 110 (1-2): 92–96.

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

Oosterhof, J, Samwel, H J A; Boo, T M; Oliver, H. G; Wilder-Smith, R A B; Oostendorp; Ben. J P C. 2008. "Predicting outcome of TENS in chronic pain: A prospective, randomized, placebo controlled trial". *PAIN* 136 (1–2): 11–20.

Ozcan, J; Ward, A R; Robertson, V J. 2004. "A comparison of true and premodulated interferential currents 1". *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation* 85 (3): 409–15.

Palmer, S T; Martin, D J; Steedman, W M; Ravey, J. 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.

Pert, C B; Snyder, S H. 1973. "Opiate Receptor: Demonstration in Nervous Tissue".

Science (New York, N.Y.) 179 (4077): 1011–14.

Pinchuk, N; Tsvetkova, E A; Goldade; V A. 2006. “Chapter 7. Simulation of biopotentials in joints”. In *Tribology and Interface Engineering Series*, Volume 50:269–310. Tribology and Interface Engineering Series. Elsevier.

Poitras, S; Brosseau, L. 2008. “Evidence-informed management of chronic low back pain with transcutaneous electrical nerve stimulation, interferential current, electrical muscle stimulation, ultrasound, and thermotherapy”. *The Spine Journal* 8 (1): 226–33.

Pradhan, A A; Befort, K; Nozaki, C; Gavériaux-Ruff, C; Kieffer, B L. 2011. “The delta opioid receptor: an evolving target for the treatment of brain disorders”. *Trends in Pharmacological Sciences* 32 (10): 581–90.

Radhakrishnan, R; King, E W; Dickman, J K; Herold, C A; Johnston, N F; Spurgin, M L; Sluka, K A. 2003. “Spinal 5-HT₂ and 5-HT₃ receptors mediate low, but not high, frequency TENS-induced antihyperalgesia in rats”. *Pain* 105 (1-2): 205–13.

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

Robertson, V J; Spurrirt, D. 1998. “Electrophysical Agents: Implications of their Availability and Use in Undergraduate Clinical Placements”. *Physiotherapy* 84 (7): 335–44.

Robertson, V. 2006. *Electrotherapy Explained: Principles and Practice*. Edinburgh. Elsevier Butterworth Heinemann.

Robertson, V; Ward, A; Low, J; Reed, A. 2006. “Electrotherapy Explained : Principles and Practice”. 4th ed. Oxford, United Kingdom. Butterworth Heinemann.

Rossi, G C; Pasternak, G W; Bodnar, R J. 1994. “Mu and Delta Opioid Synergy between the Periaqueductal Gray and the Rostro-Ventral Medulla”. *Brain Research* 665 (1): 85–93.

Sabino, G S; Santos, C M F; Francischi, J N; Resende, M A R. 2008. “Release of Endogenous Opioids Following Transcutaneous Electric Nerve Stimulation in an Experimental Model of Acute Inflammatory Pain”. *The Journal of Pain* 9 (2): 157–63.

Salisbury; Johnson. 1995. “The Analgesic Effects of Interferential Therapy Compared with TENS on Experimental Cold Induced Pain in Normal Subjects”. *Physiotherapy* 81 (12):

471.

Shanahan, C; Ward, A R; Robertson, V J. 2006. "Comparison of the analgesic efficacy of interferential therapy and transcutaneous electrical nerve stimulation". *Physiotherapy* 92 (4): 247–53.

Skyba, D A; Radhakrishnan, R; Sluka, K A. 2005. "Characterization of a method for measuring primary hyperalgesia of deep somatic tissue". *The Journal of Pain* 6 (1): 41–47.

Sluka, K A. 2000. "Systemic morphine in combination with TENS produces an increased antihyperalgesia in rats with acute inflammation". *The Journal of Pain* 1 (3): 204–11.

Sluka, K A; Deacon, M; Stibal, A; Strissel, S; Terpstra, A. 1999. "Spinal Blockade of Opioid Receptors Prevents the Analgesia Produced by TENS in Arthritic Rats". *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 289 (2): 840–46.

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

Sluka, K A; Bailey, K; Bogush, J; Olson, R; Ricketts, A. 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.

Sluka, K A, Vance, C G T; Lisi, T L. 2005. "High-frequency, but not low-frequency, transcutaneous electrical nerve stimulation reduces aspartate and glutamate release in the spinal cord dorsal horn". *Journal of Neurochemistry* 95 (6): 1794–1801.

Sluka, K A; Kalra, A; Moore, S A. 2001. "Unilateral Intramuscular Injections of Acidic Saline Produce a Bilateral, Long-Lasting Hyperalgesia". *Muscle & Nerve* 24 (1): 37–46.

Sluka, K A; Lisi, T L; Westlund, K N. Increased release of serotonin in the spinal cord during low, but not high, frequency transcutaneous electric nerve stimulation in rats with joint inflammation. *Arch Phys Med Rehabil* 2006;87:1137–1140.

Snyder, Solomon H. 2004. "Opiate receptors and beyond: 30 years of neural signaling research". *Neuropharmacology* 47, Supplement 1: 274–85. doi:10.1016/j.neuropharm.2004.06.006.

Steinberg, H. 2011. "Electrotherapeutic Disputes: The 'Frankfurt Council' of 1891".

Brain: A Journal of Neurology 134 (Pt 4): 1229–43. doi:10.1093/brain/awr040.

Tabasam, G; Johnson, M I. 1999. “Electrotherapy for painrelief: does it work? A laboratory-based study to examine the analgesic effects of electrotherapy on cold-induced pain in healthy individuals”. *Clinical Effectiveness in Nursing* 3 (1): 14–24.

Taylor, K; Newton, R A; Personius, W J; Bush, F M. 1987. “Effects of Interferential Current Stimulation for Treatment of Subjects with Recurrent Jaw Pain”. *Physical Therapy* 67 (3): 346–50.

Thorat, S N; Hammond, D L. 1997. “Modulation of Nociception by Microinjection of Delta-1 and Delta-2 Opioid Receptor Ligands in the Ventromedial Medulla of the Rat”. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 283 (3): 1185–92.

Tillu, D V; Gebhart, G F; Sluka, K A. 2008. “Descending facilitatory pathways from the RVM initiate and maintain bilateral hyperalgesia after muscle insult”. *PAIN* 136 (3): 331–39.

Tonussi, C R; Ferreira, S F. 1994. “Mechanism of diclofenac analgesia: direct blockade of inflammatory sensitization”. *European Journal of Pharmacology* 251 (2–3): 173–79.

Trescot, A M; Datta, S; Lee, M.; Hansen, H. 2008. “Opioid Pharmacology”. *Pain Physician* 11 (2 Suppl): S133–153.

Trigo, J M; Martin-García, H; Berrendero, F; Robledo, P; Maldonado, R. 2010. “The endogenous opioid system: A common substrate in drug addiction”. *Drug and Alcohol Dependence* 108 (3): 183–94.

Tugay, N; Akbayrak, T; Demirtürk, F.; Karakaya, I C; Kocaacar, O; Tugay, U; Karakaya, M G; Demirtürk, F. 2007. “Effectiveness of Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation and Interferential Current in Primary Dysmenorrhea”. *Pain Medicine (Malden, Mass.)* 8 (4): 295–300.

Turrell, W J. 1969. “The Landmarks of Electrotherapy”. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation* 50 (3): 157–60.

Venancio, R C; Pelegrini, P; Gomes, D Q; Nakano, E Y; Liebano, R E. 2013. “Effects of Carrier Frequency of Interferential Current on Pressure Pain Threshold and Sensory Comfort in Humans”. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation* 94 (1): 95–102.

Walker, U A; Uhl, M; Weiner, SM; Warnatz, K; Lange-Nolde, A; Dertinger, H; Peter, H H; Jurenz, S A. 2006. "Analgesic and Disease Modifying Effects of Interferential Current in Psoriatic Arthritis". *Rheumatology International* 26 (10): 904–7.

Ward, A R. 2009. "Electrical Stimulation Using Kilohertz-Frequency Alternating Current". *Physical Therapy* 89 (2): 181–90.

Ward, A R.; Lucas-Toumbourou, S; McCarthy, B. 2009. "A comparison of the analgesic efficacy of medium-frequency alternating current and TENS". *Physiotherapy* 95 (4): 280–88.

Ward, A R; Oliver, W G. 2007. Comparison of the hypoalgesic efficacy of lowfrequency and burst-modulated kilohertz frequency currents. *Physical Therapy* 87:1056-63.

Ward AR, Oliver W, Buccella D. Wrist extensor torque production and discomfort associated with low frequency and burst modulated kHz frequency currents. 2006. *Physical Therapy* 86:1360–7.

Watson, T. 2000. "The Role of Electrotherapy in Contemporary Physiotherapy Practice". *Manual Therapy* 5 (3): 132–41.

Watson, T. 2002. "Current Concepts in Electrotherapy". *Haemophilia* 8 (3): 413–18.

Werners, R; Pynsent, P B; Bulstrode, C J. 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.