

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

STÉPHANIE KLAUDAT PANDOLFO

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS AGUDOS DE UMA ÚNICA SESSÃO DE
ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA COM CORRENTE CONTÍNUA (ETCC) NA
SENSIBILIDADE MECÂNICA DE RATOS *NAIVE*

Porto Alegre

2018

STÉPHANIE KLAUDAT PANDOLFO

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS AGUDOS DE UMA ÚNICA SESSÃO DE ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA COM CORRENTE CONTÍNUA (ETCC) NA SENSIBILIDADE MECÂNICA DE RATOS *NAIVE*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Cirurgiã-Dentista.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Silva de Quevedo

Porto Alegre

2018

CIP - Catalogação na Publicação

Pandolfo, Stephanie Klaudat
AVALIAÇÃO DOS EFEITOS AGUDOS DE UMA ÚNICA SESSÃO
DE ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA COM CORRENTE CONTÍNUA
(ETCC) NA SENSIBILIDADE MECÂNICA DE RATOS NAIVE

Stephanie Klaudat Pandolfo. -- 2018.
36 f.

Orientador: Alexandre Silva de Quevedo.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade
de Odontologia, Curso de Odontologia, Porto Alegre,
BR-RS, 2018.

1. Analgesia. 2. Estimulação Transcraniana por
Corrente Contínua (ETCC). 3. Neuromodulação. 4. Dor
crônica. I. Quevedo, Alexandre Silva de, orient. II.
Título.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à Deus, pelas imensas bênçãos concedidas à minha vida.

Aos meus pais, parentes e amigos pelo incentivo, paciência e colaboração.

Ao Professor Doutor Alexandre Silva de Quevedo, meu orientador e professor, que desde as minhas primeiras extrações dentárias, até a conclusão deste trabalho, sempre me ensinou com paciência, humor e dedicação.

À Farmacêutica, Mestre em Ecologia e Cirurgiã-Dentista Lisandra Eda Fusinato Zin Ciapparini, grande profissional e pessoa incrível, que me orientou durante toda essa trajetória, do projeto e experimentos, ao Trabalho de Conclusão de Curso.

A todos do Grupo de Estudos em Neurociências, colegas e professores com os quais adquiri muito conhecimento e amizade.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul, ao Programa de Pós-Graduação, ao Hospital de Clínicas de Porto Alegre à Financiadora de Estudos e Projetos (Finep) por possibilitarem a realização deste projeto.

RESUMO

A dor é definida como “Experiência sensitiva e emocional desagradável associada ou relacionada a lesão real ou potencial dos tecidos. Cada indivíduo aprende a utilizar esse termo através das suas experiências anteriores.” (*IASP- International Association for the Study of Pain*). Uma das queixas principais de 40% dos pacientes que buscam atendimento médico/odontológico está relacionada à dor, e a permanência dessas dores pode causar alterações neurológica que levam à presença de dores crônicas, o que influenciam na qualidade de vida dos pacientes. As terapias disponíveis para o tratamento de dores crônicas não são eficazes em todos os casos, sendo necessária a busca por novas modalidades terapêuticas. A neuromodulação tem se mostrado um tratamento promissor para prevenção da dor, sendo a Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua (ETCC), uma das técnicas que atua modulando a síntese de neurotransmissores o que pode acarretar na analgesia da dor. Estudos em animais têm sugerido a eficácia na reversão da alodinia, hiperalgesia e inflamações. Em humanos a ETCC pode ser importante para a prevenção de processos dolorosos, presentes em procedimentos cirúrgicos. Portanto poderá ser uma alternativa para prevenir o desenvolvimento de processos dolorosos em pacientes submetidos a procedimentos invasivos como, por exemplo, cirurgias. O presente estudo avaliou os efeitos agudos de uma única sessão de ETCC na sensibilidade mecânica de ratos *naive*.

Palavras chave: Analgesia. Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua – ETCC. Neuromodulação. Dor crônica.

ABSTRACT

Pain is defined as "Unpleasant sensory and emotional experience associated with or related to actual or potential tissue injury. Each individual learns to use this term through their previous experiences. "(IASP International Association for the Study of Pain). One of the main complaints of 40% of patients seeking medical / dental care is related to pain, and the permanence of these pains can cause neurological changes that lead to the presence of chronic pain, which influences patients' quality of life. The therapies available for the treatment of chronic pain are not effective in all cases, being necessary the search for new therapeutic modalities. Neuromodulation has been shown to be a promising treatment for pain prevention, with Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS), one of the techniques that which acts modulating the synthesis of neurotransmitters, which can lead to pain analgesia. Animal studies have suggested efficacy in reversion of allodynia, hyperalgesia, and inflammation. In humans the tDCS can be important for the prevention of painful processes present in surgical procedures. The presente project evaluated the acute effects of tDCS with von Frey test in naive rats.

Keywords: Analgesia. Neuromodulation. Transcranial Direct Simulation (tDCS). Chronical pain.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	6
2	ARTIGO CIENTÍFICO.....	8
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	29
	REFERÊNCIAS.....	31

1 INTRODUÇÃO

Em tratamentos médicos/odontológicos que envolvem técnicas invasivas, uma analgesia adequada é crucial para evitar a presença de dor, pois interfere na qualidade do procedimento e em aspectos emocionais (REY et al., 2017) ou cognitivos (MARQUES FILHO et al., 2016; TRACEY; WALKER, 1995) do paciente. A dor também pode causar alterações somatossensoriais e comportamentais (HINRICHS-ROCKER et al., 2009; SESSLE, 2010). Por esses motivos, o entendimento dos diferentes mecanismos fisiopatológicos e das estratégias para o controle da dor se faz necessário (ROCHA et al., 2007).

É observado em 80% dos pacientes submetidos a cirurgias, desconforto pós-operatório (APFELBAUM et al., 2003), possivelmente devido a uma analgesia inadequada, gerando um quadro agudo de dor, a qual pode se tornar crônica (KRAYCHETE et al., 2016), o que é observado em 14,8% dos pacientes, os quais relatam presença de dor durante, pelo menos, 2 anos após a cirurgia (HINRICHS-ROCKER et al., 2009). Dentre os estágios crônicos da dor, a neuroplasticidade tem sido observada como o principal mecanismo das alterações na excitabilidade da membrana, o que reduz os mecanismos inibitórios otimizando as sinapses excitatórias (LATREMOLIERE; WOOLF, 2009; REDDI; CURRAN, 2014). Sendo assim, a prevenção da instalação do quadro doloroso deve iniciar precocemente.

Uma vez que, as terapias disponíveis para o tratamento da dor, não são eficazes em todos os casos, a busca por novas modalidades terapêuticas é necessária (BENHAMOU et al., 2008). A neuromodulação tem se mostrado um tratamento promissor para prevenção da dor. Uma das técnicas que utilizam de seus princípios é a ETCC (JACKSON et al., 2017), eficaz não somente no tratamento da dor, mas também em casos de depressão, Parkinson, distonia focal, cefaléia e epilepsia. A ETCC é uma modalidade de estimulação cerebral não-invasiva que atua modulando diversas respostas biológicas, regulando os níveis de endorfinas e neurotransmissores no sistema nervoso central. Estudos em animais têm sugerido a eficácia na reversão da alodinia, hiperalgesia e inflamações. Estudos mostram que a aplicação da ETCC em pacientes com dor neuropática pode reduzir a sintomatologia por semanas (BIKSON et al., 2016). Assim, a ETCC pode ser importante para a prevenção de processos dolorosos, presentes em procedimentos cirúrgicos. O tratamento com ETCC é realizado a partir da aplicação de corrente direta constante de baixa intensidade (1-2 mA) no escalpo, através de eletrodos (20-35 cm²) para modular a excitabilidade de áreas corticais, alterando a excitabilidade neuronal espontânea em regiões corticais (MACHADO et al., 2013). Estudos têm sugerido que os efeitos da ETCC em um curto prazo (imediate) são devido a diminuição ou aumento do potencial de repouso neuronal (RUSCHEWEYH et al., 2011), já os efeitos a longo prazo têm o envolvimento da plasticidade sináptica (FERTONANI et al., 2010). A ETCC pode atuar, também, como estimulação exógena do sistema descendente modulatório da dor, atuando em diferentes níveis do sistema nervoso, podendo alterar a atividade no eixo nervoso, modulando a percepção da dor causada pelo estímulo nociceptivo (SPEZIA ADACHI et al., 2012).

O uso da ETCC no pós-operatório mostrou reduzir a necessidade da administração de opióides em pacientes submetidos à cirurgia de joelho (BORCKARDT et al., 2013). Portanto, o uso desse tratamento pode ser de grande

importância, sendo uma possível alternativa na prevenção e no tratamento da dor pós-operatória e neuropática. Contudo, estudos adicionais com ênfase nas mudanças neuroquímicas e moleculares devem ser realizados para confirmar essas hipóteses. Assim, o presente estudo tem como objetivo a avaliação sistemática temporal dos efeitos comportamentais agudos da aplicação de uma única sessão da ETCC em ratos naïve (sem prévia manipulação terapêutica ou de modelos experimentais).

2 ARTIGO CIENTÍFICO

(manuscrito em preparação para submissão a Journal of Pain).

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS AGUDOS DA ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA COM CORRENTE CONTÍNUA (ETCC) COM O VON FREY EM RATOS NAIVE

EVALUATION OF THE ACUTE EFFECTS OF TRANSCRANIAL DIRECT
CURRENT STIMULATION (tDCS) WITH VON FREY IN NAIVE RATS

Stéphanie Klaudat Pandolfo, Acadêmica em Odontologia, UFRGS, Grupo de Estudos em Neurociências, Departamento de Cirurgia e Ortopedia, Porto Alegre, RS, Brasil.

Lisandra Eda Fusinato Zin Ciapparini. Cirurgiã – Dentista, Mestranda em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial, UFRGS, Grupo de Estudos em Neurociências, Departamento de Cirurgia e Ortopedia, Porto Alegre, RS, Brasil.

Jamile Boff. Acadêmica em Odontologia, UFRGS, Grupo de Estudos em Neurociências, Departamento de Cirurgia e Ortopedia, Porto Alegre, RS, Brasil.

Alexandre Silva de Quevedo. Professor Adjunto UFRGS, Grupo de Estudos em Neurociências, Departamento de Cirurgia e Ortopedia, Porto Alegre, RS, Brasil.

Endereço para correspondência:

Alexandre Silva de Quevedo, D.D.S. Ph.D.

R. Ramiro Barcelos, 2492 – Santa Cecília, Porto Alegre – RS, Brasil, 90035-004

Telefone: +51- 3308-5010E-mail: alexandre.quevedo@ufrgs.br

RESUMO

OBJETIVO: A neuromodulação tem se mostrado promissora na prevenção da dor, sendo a Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua (ETCC), responsável pela modulação dos níveis de neurotransmissores, o que pode acarretar na analgesia. O presente projeto testará a hipótese que a ETCC pode induzir a modulação da percepção da sensibilidade mecânica em ratos *naive*. **MÉTODOLOGIA:** Ratos *Wistar* machos (n=90) foram avaliados segundo o limiar de dor mecânica (dados basais). Após uma semana, foram submetidos a uma única sessão de ETCC (0.5mA/20min), seguido de novo teste nociceptivo, de acordo com seus grupos (30min, 60min, 120min, 24hs). Os dados foram normalizados segundo a fórmula (Basal/Pós-tratamento) e comparados usando a Análise de Variância (ANOVA) de uma via seguida pelo *post hoc* LSD de Fisher. **RESULTADOS:** Houve diferença entre o Grupo Controle e o Grupo 30 minutos ($P<0.05$), indicando que a ETCC causa analgesia aos estímulos mecânicos trinta minutos após a aplicação. **CONCLUSÃO:** Estes dados podem sugerir a utilização do ETCC como terapia preventiva da dor trans/pós-cirúrgica, diminuindo a frequência e dose de analgésicos e anestésicos utilizados pelos pacientes. **Palavras chave:** Analgesia; Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua - ETCC; Neuromodulação, Von Frey.

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de dor aguda constante, pode gerar um quadro de dor crônica, a qual está associada à alodinia e hiperalgesia, sendo assim, tratamentos somente com fármacos não são eficazes na reversão desse quadro. Em tratamentos médico/odontológicos que envolvem técnicas invasivas, a realização de uma analgesia adequada é crucial para evitar a presença de dor, pois interfere na qualidade do procedimento, em aspectos emocionais do paciente (1,2,3). É observado em 80% dos pacientes submetidos a cirurgias, desconforto pós-operatório (4), possivelmente devido a uma analgesia inadequada, gerando um quadro agudo de dor, a qual pode se tornar crônica (5), o que é observado em 14,8% dos pacientes, os quais relatam presença de dor durante, pelo menos, 2 anos após a cirurgia (6). Dentre os estágios crônicos da dor, a neuroplasticidade tem sido observada como o principal mecanismo das alterações na excitabilidade da membrana, o que reduz os mecanismos inibitórios otimizando as sinapses excitatórias (7,8). Sendo assim, a prevenção da instalação do quadro doloroso deve iniciar o mais precoce possível, mesmo antes do procedimento cirúrgico.

Uma vez que as terapias disponíveis para o tratamento da dor, não são eficazes em todos os casos, a busca por novas modalidades terapêuticas é necessária (9). A neuromodulação tem se mostrado um tratamento promissor para prevenção da dor. Uma das técnicas que utilizam de seus princípios é a Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua (ETCC) (10). A ETCC é uma modalidade de estimulação cerebral não-invasiva que atua modulando diversas

respostas biológicas, regulando os níveis de endorfinas e neurotransmissores no sistema nervoso central. Estudos em animais têm sugerido a eficácia na reversão da alodinia, hiperalgesia e inflamações. Estudos mostraram que o tratamento de ratos com ETCC, previamente à exposição ao estresse crônico aumentou o limiar de dor desses animais, o que indica que o tratamento com ETCC pode prevenir a hiperalgesia induzida pelo estresse (11).

Em outros estudos observasse que a aplicação da ETCC em pacientes com dor neuropática pode reduzir a sintomatologia por semanas (11). Assim, a ETCC pode ser importante para a prevenção de processos dolorosos, presentes em procedimentos cirúrgicos. O uso da ETCC no pós-operatório mostrou reduzir a necessidade da administração de opióides em pacientes submetidos à cirurgia de joelho (12), o que demonstra que o uso desse tratamento pode ser de grande importância, sendo uma alternativa na prevenção e no tratamento da dor pós-operatória e neuropática. O presente estudo tem como objetivo a avaliação sistemática temporal dos efeitos analgésicos agudos da aplicação de uma única sessão da ETCC sob o limiar mecânico em ratos naive.

METODOLOGIA

Animais

Foram utilizados 90 ratos Wistar, machos, entre 55 e 65 dias de idade ($\geq 250\text{g}$), divididos em 5 levas de 18 animais. Os animais foram provenientes do Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de Laboratório (CREAL) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), sob a aprovação PPGFO/UFRGS 32196 e CEAU/HCPA 16-0408. Os animais foram alojados na Unidade de Experimentação Animal do Hospital de Clínicas de Porto Alegre em caixas-moradia, confeccionadas em polipropileno, medindo 49x34x16cm, com assoalho recoberto de serragem, entre 2 e 3 animais por caixa. Ciclo claro-escuro de 12 horas, em temperatura ambiente ($22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), livre acesso à água e ração Nuvilab (Nuvital) e teor de umidade do ambiente controlado entre 40-60%.

Desenho experimental

O experimento foi realizado conforme a Figura 1. Inicialmente, os animais foram habituados ao biotério e aos pesquisadores por uma semana, e após, distribuídos aleatoriamente em diferentes grupos (ver sessão: Grupos experimentais). Ainda, os limiares basais de dor mecânica foram avaliados usando o teste de von Frey. Sete dias após os animais receberam uma sessão única de ETCC e foi reavaliada a sensibilidade mecânica (pós-tratamento) de acordo com os grupos (30 min, 60min, 120min e 24 hs). Logo após os animais foram eutanasiados por guilhotinamento.

Manutenção do cegamento dos experimentadores

Para controlar possíveis vieses de avaliação durante os testes comportamentais, os seguintes procedimentos foram adotados: 1) previamente realizou-se a familiarização de todos os animais (inclusive no grupo controle) no local onde os eletrodos iriam ser localizados; 2) testes comportamentais foram assistidos por um componente da equipe que colocava os animais no aparato (von Frey), no entanto não participava das avaliações do limiar mecânico; 3) os animais eram codificados, não sendo possível a identificação durante os testes comportamentais.

Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua (ETCC)

Os animais do grupo tratamento receberam uma única sessão de ETCC bimodal que consistia em uma corrente de baixa intensidade (0.5mA) aplicado por 20 minutos. Esta intensidade de corrente tem se mostrado capaz de gerar efeitos terapêuticos sem danificar os tecidos do animal (13). A corrente direta partiu de uma bateria, que continha um estimulador constante ligados aos eletrodos de 1.5 cm² de Eletrocardiograma (ECG) com adesivo contendo gel condutivo. Previamente realizou-se tricotomia na região dos eletrodos (diâmetro de 11 mm²) para aumentar a aderência dos mesmos. O eletrodo catódico foi posicionado sobre a região supraorbital e o eletrodo anodal sobre o córtex parietal. Esta posição dos eletrodos aumenta a excitabilidade do córtex motor primário (13) e induz alívio na dor (2). Após o posicionamento, os eletrodos foram fixados com fita adesiva (Micropore®), para prevenir sua movimentação durante o procedimento terapêutico. Para a aplicação da ETCC

ou Sham-ETCC, foi utilizado um modelo de imobilização com bandagens para contenção física dos animais (13). Para isso, os ratos foram envoltos pelas bandagens de modo a restringir o movimento das quatro patas e do torso, conforme mostrado na Figura 2.

Todos os animais que receberam o tratamento ETCC ou falso-tratamento (*Sham*) passaram por um período de adaptação de 7 dias, durante 15 minutos/dia, à contenção necessária para o modelo de ETCC. O desenho experimental de aplicação da ETCC está demonstrado na Figura 3.

Falsa estimulação (Sham-ETCC)

Os grupos denominados *Sham* receberam um falso tratamento com ETCC, no qual os procedimentos realizados foram idênticos aos dos grupos ETCC, entretanto a bateria não foi conectada ao equipamento. Os animais permaneceram imobilizados e com os eletrodos de mesmo diâmetro, fixados à cabeça durante 20 minutos, mas sem o impulso elétrico, conforme a Figura 4.

Grupos experimentais

Os animais foram alocados em 9 grupos experimentais, descritos abaixo:

1. Controle Comportamento (CC): Estes animais foram submetidos aos testes basais no “dia zero” e sete dias após. Em seguida foram mortos por decapitação;

2. ETCC 30 (E30): aplicação de ETCC 7 dias após os testes basais e, 30 minutos após a aplicação, foram repetidos os testes comportamentais. Em seguida os animais foram mortos por decapitação;
3. ETCC 60 (E60): aplicação de ETCC 7 dias após os testes basais e, 60 minutos após a aplicação, foram repetidos os testes comportamentais. Em seguida os animais foram mortos por decapitação;
4. ETCC 120 (E120): aplicação de ETCC 7 dias após os testes basais e, 120 minutos após a aplicação, foram repetidos os testes comportamentais. Em seguida os animais foram mortos por decapitação;
5. ETCC 24h (E24h): aplicação de ETCC 7 dias após os testes basais e, 24 horas após a aplicação, foram repetidos os testes comportamentais. Em seguida os animais foram mortos por decapitação;
6. Sham ETCC 30 (S30): aplicação de sham ETCC 7 dias após os testes basais e, 30 minutos após a aplicação, foram repetidos os testes comportamentais. Em seguida os animais foram mortos por decapitação;
7. Sham ETCC 60 (S60): aplicação de sham ETCC 7 dias após os testes basais e, 60 minutos após a aplicação, foram repetidos os testes comportamentais. Em seguida os animais foram mortos por decapitação;
8. Sham ETCC 120 (S120): aplicação de sham ETCC 7 dias após os testes basais e, 120 minutos após a aplicação, foram repetidos os testes comportamentais. Em seguida os animais foram mortos por decapitação;
9. Sham ETCC 24h (S24h): aplicação de sham ETCC 7 dias após os testes basais e, 24 horas após a aplicação, foram repetidos os testes comportamentais. Em seguida os animais foram mortos por decapitação.

Teste comportamental nociceptivo (von Frey)

O teste comportamental nociceptivo von Frey, consiste em detectar a alodínia por pressão na pata de ratos. Com o uso de uma ponteira de polipropileno, acoplada ao algesímetro do aparelho do teste de von Frey (transdutor de pressão adaptado a um contador digital de força expressa em gramas), foi avaliada a sensibilidade tecidual ao estímulo mecânico.

Para a realização do teste, os animais, previamente adaptados ao aparelho, foram contidos em gaiolas de acrílico que possuíam o assoalho gradeado. O pesquisador, previamente treinado, introduzia a ponteira em direção a planta da pata traseira direita do animal, assim que este colocava com as quatro patas na grade da gaiola. Para facilitar essa ação, o aparelho conta com um espelho inclinado abaixo da grade, onde o pesquisador observa as patas do animal e o lugar exato onde realizará a pressão. A pressão era aumentada até que houvesse a resposta comportamental (levantamento da pata). O teste foi repetido três vezes, entre intervalos de 5 minutos, a média destas avaliações foi utilizada para os testes estatísticos.

Eutanásia dos animais

Após a exposição dos animais à ETCC e aplicação do teste comportamental (von Frey), foram eutanasiados. O método utilizado foi a decapitação, evitando a interferência de anestésicos nas estruturas coletadas. Foram retirados tecidos neuronais (córtex cerebral, medula espinhal e tronco encefálico) e sangue total (no qual passou por centrifugação a 3000rpm por

5min em temperatura ambiente, para a coleta do soro) para posterior análises bioquímicas que serão reportados em outro estudo.

Análise estatística

Para cada animal foi calculada a média de três medidas do limiar mecânico. Os dados foram normalizados para identificar as diferenças entre a resposta basal e o pós-tratamento, sendo assim expressas pela percentagem do aumento (ou diminuição) em relação aos dados basais. Para isto foi utilizada a seguinte fórmula: $(\text{Resposta pós-tratamento} / \text{Resposta basal}) * 100$. Os dados foram expressos em média +- DPM. A normalidade dos dados fora avaliada usando o Teste Kolmogorov-Smirnov.

Os dados comportamentais foram analisados comparando os diferentes grupos experimentais através do teste de Análise de Variância (ANOVA) de uma via seguida do *post hoc* LSD de Fisher. O nível de significância estabelecido foi de 5% ($p < 0.05$). A análise estatística foi realizada com SPSS v20.0 (IBM® SPSS Statistics, New York, USA).

RESULTADOS

Não foi observado diminuição da resposta do limiar mecânico em nenhum dos grupos tratados (ETCC e *Sham-ETCC*) ($p > 0.05$). Desta forma, não houve indução de alodínia pelos procedimentos experimentais. Isto é observado na figura 6 onde todas as percentagens são superiores ao teste basal (100%) de seus respectivos grupos.

No grupo controle (CC), não houve diferenças entre os limiares mecânicos basais e da repetição do teste 7 dias após ($p > 0.05$), indicando que não foi encontrado efeito do tempo ou da repetição da manipulação dos animais (ex. aprendizagem do animal em realizar o teste comportamental) nos resultados.

Quando comparado ao grupo controle, os animais que receberam ETCC apresentaram aumento do limiar mecânico trinta minutos após o tratamento (CC vs. E30; $p < 0.05$), o que não se observa nos demais tempos após o tratamento com ETCC ($p > 0.05$).

Os animais do grupo *sham*-ETCC não apresentaram diferenças nos limiares comparados ao grupo controle ($p > 0.05$) nos tempos estudados.

DISCUSSÃO

Os efeitos analgésicos da ETCC podem estar relacionados à ativação de diferentes circuitos intra-corticais, córtico-subcorticais ou córtico-medulares (medula-espinhal) (14). Os sistemas descendentes, do tipo “*top-down*”, podem envolver diferentes mecanismos que podem agir como facilitadores ou inibidores das vias ascendentes como a da nocicepção. Neurotransmissores ou neuropeptídeos que podem facilitar ou inibir a dor incluem serotonina (5-hidroxitriptamina; 5-HT), noradrenalina, dopamina, dinorfina, acetilcolina e óxido nítrico (15,16). Existem, no entanto, neurotransmissores que atuam predominantemente para facilitar ou inibir a nocicepção. Neurotransmissores/neuropeptídeos que facilitam predominantemente nocicepção incluem o aminoácido excitatório glutamato, histamina, colecistocinina e prostaglandinas

(17). Neurotransmissores/ neuropéptidos que inibem predominantemente nocicepção incluem GABA, glicina, vasopressina, ocitocina, adenosina, opióides endógenos e endocanabinóides (18). Alterações regionais cerebrais nos níveis de neurotransmissores para facilitar ou inibir a nocicepção, a capacidade destes neurotransmissores para se ligarem aos seus respectivos receptores, ou ligação diferencial aos subtipos de receptores pode alterar a nocicepção transmissão e mediar outros sistemas como o estresse (13).

Dados sugerem que o alívio da dor induzida pela ETCC pode ser mediado pela ativação de sistemas opióides endógenos (22). Por outro lado, a estimulação do córtex motor produz ativação das camadas superficiais desse segmento cortical. Portanto, age sobre os interneurônios intra-corticais e não sobre os axônios cortico-espinais. A estimulação dessas fibras repassa a estimulação para diferentes áreas: projeções talamocorticais, projeções laterais córtico-corticais e conexões corticais locais em paralelo para as camadas corticais que se propagam tanto ortodromicamente como antidromicamente e levam a uma cascata de eventos sinápticos resultando na modulação em várias vias neuronais que incluem talâmicos, sistema límbico, núcleos do tronco encefálico e medula (23). Outra explicação é que os feitos analgésicos sejam correlacionados com a regulação de neurotransmissores (24).

Os mecanismos subjacentes à dor mediada por ETCC, envolvem mudanças no potencial da membrana elétrica neuronal e modificações no microambiente sináptico. O ETCC também interfere na excitabilidade cerebral através da modulação intracortical e corticospinal neurônios (25). Experimentos com estimulação da medula espinhal mostraram que os efeitos

da ETCC são também sinápticos, possivelmente envolvendo mudanças transitórias na densidade de canais proteicos localizados abaixo do eletrodo estimulante ou devido a alterações gliais. Dado que um constante campo elétrico desloca todas as moléculas polares e que a maioria neurotransmissores e receptores no cérebro têm propriedades elétricas, a ETCC também pode influenciar a função neuronal induzindo mudanças neuroquímicas prolongadas.

CONCLUSÃO

A analgesia à estímulos mecânicos causada pelo uso da ETCC em ratos após trinta minutos, sugere que a hipótese foi aceita e que esta terapia não-medicamentosa pode ser uma alternativa de analgesia preemptiva para pacientes que irão ser submetidos a procedimentos invasivos, como cirurgias. Isto pode diminuir gastos pós-operatórios e dias de trabalho perdidos, além de melhorar a qualidade de vida dos pacientes. Análises bioquímicas então sendo realizadas para investigar os mecanismos envolvidos nesta modulação da dor.

RECONHECIMENTOS

Este estudo foi apoiado pela Financiadora de Estudos e Projetos (Finep), pelo Programa de Pós-Graduação e pelo Grupo de Estudos em Neurociências da Faculdade de Odontologia da Universidade do Rio Grande do Sul e pela Unidade de Experimentação Animal do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERENCIAS

1. Rocha APC, Kraychete DC, Lemonica L, Carvalho LR, Barros GAM, Garcia JBS, et al. Dor: aspectos atuais da sensibilização periférica e central. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, 2007; 57: 94–105.
2. Borckardt JJ, Reeves ST, Robinson SM, May JT, Epperson TI, Gunesman RJ, et al. Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS) Reduces Postsurgical Opioid Consumption in Total Knee Arthroplasty (TKA). **The Clinical Journal of Pain**, 2013; 29: 925–928.
3. Tracey, D. J.; Walker, J. S. Pain due to nerve damage: Are inflammatory mediators involved. **Inflammation Research**, 1995; 44: 407–411.
4. Apfelbaum JL¹, Chen C, Mehta SS, Gan TJ. Postoperative pain experience: Results from a national survey suggest postoperative pain continues to be undermanaged. **Anesthesia and Analgesia**, 2003; 97: 534–540.
5. Kraychetea DC, Sakata RK, Lannes LOC, Bandeira ID, Sadatsune EJ. Dor crônica persistente pós-operatória: o que sabemos sobre prevenção, fatores de risco e tratamento? **Brazilian Journal of Anesthesiology**, 2016; 66: 505–512.
6. Hinrichs-Rocker A, Schulz K, Järvinen I, Lefering R, Simanski C, Neugebauer EA. Psychosocial predictors and correlates for chronic post-surgical pain (CPSP) - A systematic review. **European Journal of Pain**, 2009; 13: 719–730.
7. Latremoliere, A.; Woolf, C. J. Central Sensitization: A Generator of Pain Hypersensitivity by Central Neural Plasticity. **The Journal of Pain**, 2009; 10: 895–926.
8. Reddi, D.; Curran, N. Chronic pain after surgery: pathophysiology, risk factors and prevention. **Postgraduate Medical Journal**, 2014; 90: 222–227.

9. Benhamou D, Viel E, Berti M, Brodner G, Andres J, Draisci G, et al. Enquête européenne sur la prise en charge de la douleur et de l'analgésie postopératoires (PATHOS) : les résultats français. **Annales Francaises d'Anesthesie et de Reanimation**, 2008; 27: 664–678.
10. Jackson MP, Bikson M, Liebetanz D, Nitsche M. Toward comprehensive tDCS safety standards. **Brain, Behavior, and Immunity**, 2017; 66: 413.
11. Bikson M, Grossman P, Thomas C, Zannou AL, Jiang J, Adnan T, et al. Safety of Transcranial Direct Current Stimulation: Evidence Based Update 2016. **Brain Stimulation**, 2016; 9: 641–661.
12. Borckardt JJ, Reeves ST, Robinson SM, May JT, Epperson TI, Gunesman RJ, et al. Transcranial direct current stimulation (tDCS) reduces postsurgical opioid consumption in total knee arthroplasty (TKA). **Clin J Pain**, 2013;29:925-928.
13. Spezia Adachi LN¹, Caumo W, Laste G, Fernandes Medeiros L, Ripoll Rozisky J, de Souza A, et al. Reversal of chronic stress-induced pain by transcranial direct current stimulation (tDCS) in an animal model. **Brain Research**, 2012;1489:17–26.
14. Adachi LNS, Quevedo AS, Souza A, Scarabelot VL, Rozisky JR, Oliveira C, et al. Exogenously induced brain activation regulates neuronal activity by top-down modulation: conceptualized model for electrical brain stimulation. **Exp Brain Res**, 2015;233:1377-1389.
15. Hatakeyama S, Kawai Y, Ueyama T, Senba E. Nitric oxide synthase-containing magnocellular neurons of the rat hypothalamus synthesize oxytocin and vasopressin and express Fos following stress stimuli. **Journal of chemical**

neuroanatomy, 1996;11:243–56.

16. Taylor, B. K.; Finn, D. P. **Behavioral neurobiology of chronic pain**.

London: [s.n.].

17. Kruger, L.; Light, A. R. **Translational pain research : from mouse to man**.

[s.l.] CRC Press/Taylor & Francis, 2010.

18. Greenspan JD, Craft RM, LeResche L, Arendt-Nielsen L, Berkley KJ, Fillingim RB, et al. Studying sex and gender differences in pain and analgesia: A consensus report. **Pain**, 2007;132:26–45.

19. Monai H, Ohkura M, Tanaka M, Oe Y, Konno A, Hirai H, et al. Calcium imaging reveals glial involvement in transcranial direct current stimulation-induced plasticity in mouse brain. **Nature Communications**, 2016;7:1–10.

20. Treede RD, Rief W, Barke A, Aziz Q, Bennett MI, Benoliel R, et al. A classification of chronic pain for ICD-11. **PAIN**, 2015;156(6):1003-7.

21. Zhu Q, Sun Y, Mao L, Liu C, Jiang B, Zhang W, et al. Antinociceptive effects of sinomenine in a rat model of postoperative pain. **British Journal of Pharmacology**, 2016;173:1693–1702.

22. Aronoff, G. M. What Do We Know About the Pathophysiology of Chronic Pain? **Medical Clinics of North America**, 2016;100:31–42.

23. Souza A, Martins DF, Medeiros LF, Nucci-Martins C, Martins TC, Siteneski A, et al. Neurobiological mechanisms of antiallodynic effect of transcranial direct current stimulation (tDCS) in a mice model of neuropathic pain. **Brain Research**, 2018;1682:14–23.

24. Ibrahim, S. Trigeminal neuralgia: diagnostic criteria, clinical aspects and treatment outcomes. A retrospective study. **Gerodontology**, 2014;31:89–94.

25. Liebetanz D, Klinker F, Hering D, Koch R, Nitsche MA, Pöschka H, et al. Anticonvulsant Effects of Transcranial Direct-current Stimulation (tDCS) in the Rat Cortical Ramp Model of Focal Epilepsy. **Epilepsia**, 2006;47:1216–1224.
26. Cogiamanian F, Vergari M, Pulecchi F, Marceglia S, Priori A. Effect of spinal transcutaneous direct current stimulation on somatosensory evoked potentials in humans. **Clinical Neurophysiology**, 2008;119:2636–2640.
27. Radman T, Ramos RL, Brumberg JC, Bikson M. Role of cortical cell type and morphology in subthreshold and suprathreshold uniform electric field stimulation in vitro. **Brain Stimulation**, 2009;2:215–228.
28. Stagg CJ, Best JG, Stephenson MC, O'Shea J, Wylezinska M, Kincses ZT et al. Polarity-Sensitive Modulation of Cortical Neurotransmitters by Transcranial Stimulation. **Journal of Neuroscience**, 2009;29:5202–5206.
29. Whitehead RA, Lam NL, Sun MS, Sanchez J, Noor S, Vanderwall AG, et al. Chronic sciatic neuropathy in rat reduces voluntary wheel running activity with concurrent chronic mechanical allodynia HHS Public Access. **Anesth Analg**, 2017;124: 346–355.

LEGENDAS DAS FIGURAS

Fig. 1 DESENHO EXPERIMENTAL: a Figura 1 exibe como o experimento foi realizado. No dia 0 foram realizados os testes basais. No Dia 7 (7 dias após os Dia 0), foi realizado o tratamento com ETCC em seguida e foram realizados novos testes, de acordo com o grupo (ETCC ou Sham-ETCC) 30, 60, 120 minutos e 24 horas. Imediatamente após os testes, ocorreu a eutanásia dos animais.....

- Fig. 2** ADAPTAÇÃO A CONTENÇÃO: a figura 2 mostra o procedimento de adaptação à contenção dos animais, realizado durante 15min/dia, durante 7 dias a fim de minimizar os efeitos do estresse causado pela imobilização.....
- Fig. 3** ETCC: figura 3 apresenta a aplicação propriamente dita da ETCC, realizada no Dia 1. Os animais foram estimulados com uma corrente elétrica constante de 0,5mA durante 20 minutos. Os eletrodos foram posicionados sobre as regiões supraorbital e do córtex parietal, e foram fixados com uma fita Micropore para evitar o deslocamento dos mesmos.....
- Fig. 4** FALSA ESTIMULAÇÃO (Sham-ETCC): a figura 4 demonstra como foi realizada a falsa estimulação nos animais dos grupos Sham-ETCC. Eles foram imobilizados e todos os procedimentos de posicionamento e fixação dos eletrodos foram os mesmos dos grupos ETCC. Entretanto não houve ativação da bateria que gera a corrente responsável pela estimulação.....
- Fig. 5** APLICAÇÃO DO von Frey: a figura 5 demonstra como foi realizado teste comportamental do von Frey. Os animais eram submetidos a uma carga mecânica aplicada na pata traseira direita e esta força inserida era registrada no equipamento.....
- Fig. 6** RESULTADOS GRÁFICOS DA SENSIBILIDADE MECÂNICA APÓS

A ETCC: a figura 6, é uma representação gráfica, demonstrando os resultados e suas diferenças estatisticamente significativas obtidas no trabalho.....

FIGURA 1

Desenho experimental do experimento

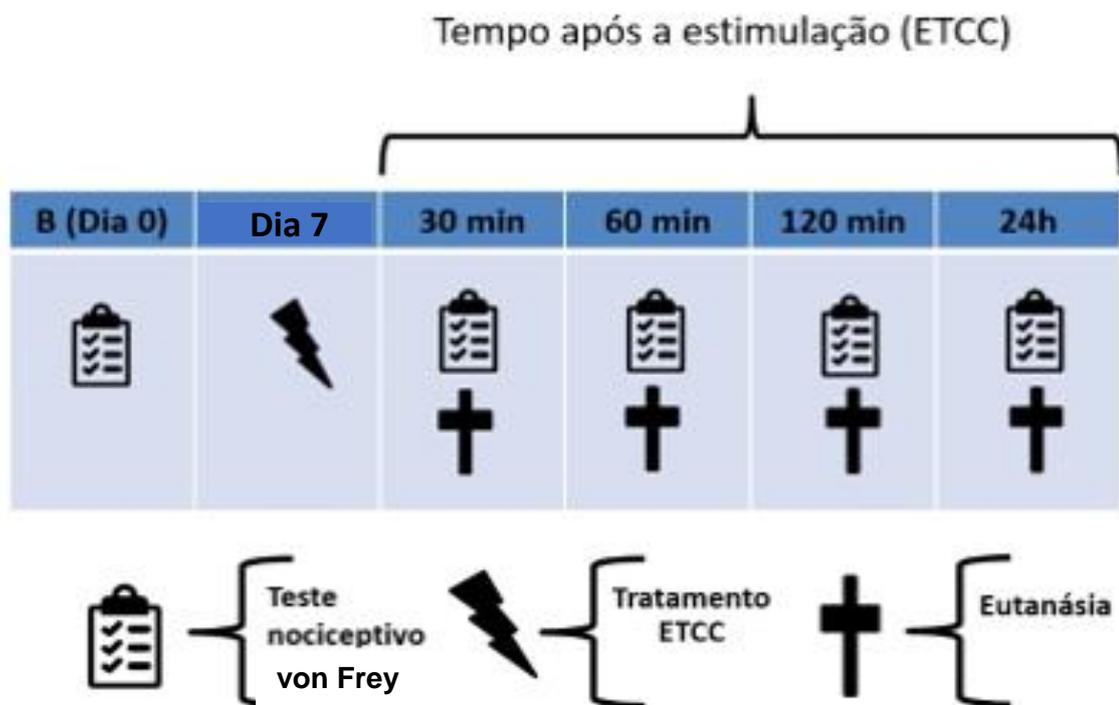


FIGURA 2

Adaptação à contenção



FIGURA 3

Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua (ETCC)



FIGURA 4

Falsa estimulação (Sham-ETCC)

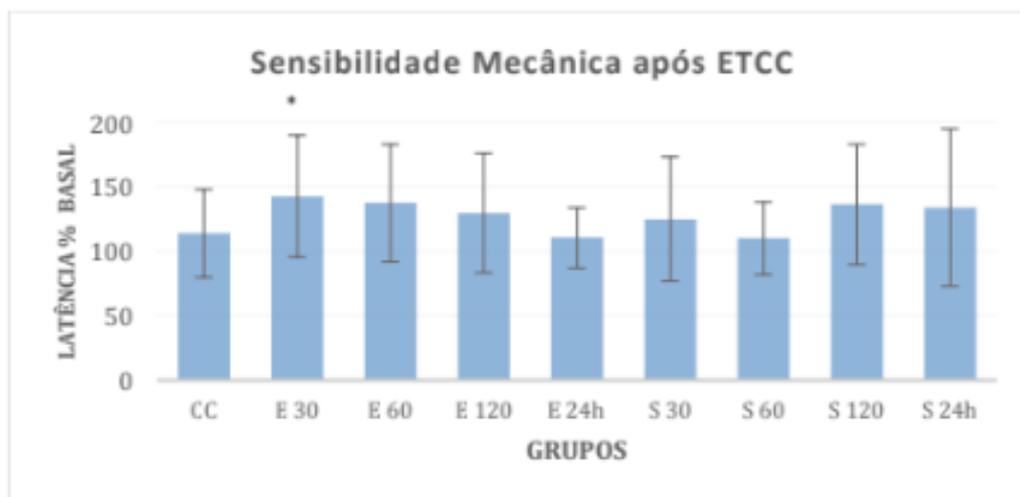


FIGURA 5

Teste comportamental mecânico - von Frey



FIGURA 6



3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sendo o tratamento da dor um dos maiores desafios na área da saúde, novos achados terapêuticos, como a neuromodulação causada pelo ETCC, têm se mostrado promissores na prevenção da dor.

A aplicação do ETCC, pode ser utilizada pré-cirurgia para a diminuição da alodínia pós-cirúrgica, como sugerem os dados de um estudo (BIKSON et al., 2016), o qual mostra que a ETCC previne hiperalgesia antes da exposição ao estresse crônico.

Algumas limitações puderam ser identificadas durante a execução deste trabalho. Uma delas foi a translacionalidade do estudo, que tem se mostrado um problema nas metodologias que utilizam animais. Estudos demonstram que a contenção utilizada para a aplicação da ETCC em animais, pode causar estresse agudo, que poderia influenciar nos resultados.

Como discutido anteriormente, os dados do presente estudo sugerem uma relação promissora da ETCC com a prevenção da instalação de quadros dolorosos pós cirúrgicos. Os primeiros passos foram dados, todavia, mais estudos devem ser realizados para a consolidação da ETCC como uma abordagem clínica para o tratamento da dor.

REFERENCIAS

- ARONOFF, G. M. What do we know about the pathophysiology of chronic pain? **Medical Clinics of North America**, Philadelphia, v. 100, no. 1, p. 31–42, Jan. 2016.
- BIKSON, M. et al. Safety of Transcranial Direct Current Stimulation: Evidence Based Update 2016. **Brain Stimulation**, Amsterdam, v. 9, no. 5, p. 641–661, Sept. 2016.
- BUTLER, R. K.; FINN, D. P. Stress-induced analgesia. **Progress in Neurobiology**, Oxford, v. 88, no. 3, p. 184–202, 2009.
- HINRICHS-ROCKER, A. et al. Psychosocial predictors and correlates for chronic post-surgical pain (CPSP) - A systematic review. **European Journal of Pain**, London, v. 13, no. 7, p. 719–730, Aug. 2009.
- KRAYCHETE, D. C. et al. Dor crônica persistente pós-operatória: o que sabemos sobre prevenção, fatores de risco e tratamento? **Brazilian Journal of Anesthesiology**, Rio de Janeiro, v. 66, no. 5, p. 505–512, Sept. 2016.
- MACHADO, A. G. et al. Cerebral stimulation for the affective component of neuropathic Pain. **Neuromodulation**, Malden, v. 16, no. 6, p. 514–518, Nov. 2013.
- REDDI, D.; CURRAN, N. Chronic pain after surgery: pathophysiology, risk factors and prevention. **Postgraduate Medical Journal**, Oxford, v. 90, no. 1062, p. 222–227, Apr. 2014.
- REY, A. E. et al. Pain dilates time perception. **Scientific Report**, v. 7, no. 1, p. 15682, Nov. 2017.
- ROCHA, A. P. C. et al. Dor: aspectos atuais da sensibilização periférica e central. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, Rio de Janeiro, v. 57, n. 1, p. 94–105, 2007.
- RUSCHEWEYH, R. et al. Pain Catastrophizing and Pain-related Emotions. **The Clinical Journal of Pain**, Philadelphia, v. 27, no. 7, p. 578–586, Sept. 2011.
- SOUZA, A. et al. Neurobiological mechanisms of antiallodynic effect of transcranial direct current stimulation (tDCS) in a mice model of neuropathic pain. **Brain Research**, Amsterdam, v. 1682, p. 14–23, 1 Mar. 2018.
- SPEZIA ADACHI, L. N. et al. Reversal of chronic stress-induced pain by transcranial direct current stimulation (tDCS) in an animal model. **Brain Research**, Amsterdam, v. 1489, p. 17–26, 2012.
- TAYLOR, B. K.; FINN, D. P. **Behavioral neurobiology of chronic pain**. London: Springer, 2014.
- WHITEHEAD, R. et al. Chronic sciatic neuropathy in rat reduces voluntary wheel running activity with concurrent chronic mechanical allodynia HHS Public Access.

Anesthesia and Analgesia, Cleveland, v. 124, no. 1, p. 346–355, 2017.

ZHANG, W. et al. Antinociceptive effects of sinomenine in a rat model of postoperative pain. **British Journal of Pharmacology**, London, v. 173, p. 1693–1702, 2016.