

EFEITO DA ACUPUNTURA NO TRATAMENTO DE COMPORTAMENTO DO TIPO-DEPRESSIVO EM CAMUNDONGOS COM DOR NEUROPÁTICA

Pietra de Vargas Minuzzi¹

Leandro Xavier da Silva²

Morgana Duarte Da Silva³

Caroline Cadore Ramires⁴

Resumo:

A acupuntura é um tratamento milenar para a dor e para várias doenças. O objetivo desse estudo é verificar o efeito da acupuntura no acuponto SP6, do tratamento farmacológico e da associação do tratamento farmacológico e não-farmacológico sobre o comportamento tipo-depressivo induzidos por ligadura parcial do nervo ciático (LPNC). Serão utilizados camundongos (*Mus musculus*) distribuídos de acordo com o protocolo de tratamento a ser utilizado: 1) grupo controle, submetido à LPNC e não tratado; 2) sham, submetido à cirurgia sem ligação do nervo; 3) operado e tratado com acupuntura em SP6; 4) operado e tratado com farmacologia convencional; 5) operado e tratado com farmacologia convencional, utilizando-se metade da dose estipulada para o tratamento e 6) operado e tratado com farmacologia convencional, utilizando-se metade da dose estipulada para o tratamento em associação com acupuntura em SP6. Após 7 dias do pós-operatório, os animais receberão o primeiro tratamento. Os grupos destinados a receber acupuntura serão tratados três vezes por semana por 10 minutos e avaliados 15 minutos após a retirada da agulha. O grupo que receber farmacologia convencional, receberá a dose de medicamento gabapentina diariamente e, nos dias de avaliação, 1 hora antes das avaliações. Depois dos 28 dias de tratamento, os animais serão avaliados quanto ao comportamento do tipo depressivo. Após o término das avaliações comportamentais, os camundongos serão mortos por destroncamento de pescoço. A LPNC foi capaz de induzir neuropatia e comportamento do tipo-depressivo em camundongos. Tanto o tratamento farmacológico quanto com acupuntura reduziu o comportamento do tipo-depressivo. O tratamento com metade da dose de Gabapentina foi capaz de reduzir o comportamento do tipo-depressivo no TNF, embora não tenha apresentado resultado significativo no TSC. Além disso, a associação do tratamento farmacológico e da acupuntura, diminuiu o comportamento do tipo-depressivo nos camundongos. Desta forma, podemos inferir que pessoas com depressão podem ser tratadas com acupuntura, isolada ou em associação a fármacos, inclusive em doses reduzidas, de forma efetiva.

Palavras-chave: Acupuntura; Dor neuropática; Depressão

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

EFEITO DA ACUPUNTURA NO TRATAMENTO DE COMPORTAMENTO DO TIPO-DEPRESSIVO EM CAMUNDONGOS COM DOR NEUROPÁTICA

¹ Aluno de graduação. pietraminuzzi@gmail.com. Autor principal

² Aluno de graduação. leexavier18@gmail.com. Co-autor

³ Docente. morganasilva@unipampa.edu.br. Orientador

⁴ Farmacêutica (UFSM) e mestranda do PMPGCF com ênfase em fisiologia e farmacologia da dor. caroline.cramires@gmail.com. Co-orientador

EFEITO DA ACUPUNTURA NO TRATAMENTO DE COMPORTAMENTO DO TIPO-DEPRESSIVO EM CAMUNDONGOS COM DOR NEUROPÁTICA

1 INTRODUÇÃO

Fisiologicamente, a dor é a sinalização de estímulos nocivos, iniciada em estruturas do Sistema Nervoso Periférico (SNP) e que ao ser conduzida até o Sistema Nervoso Central (SNC) é descrita como uma percepção ou sensação dolorosa (BASBAUM & JESSEL, 2001).

A dor neuropática decorre da lesão da fibra nervosa e, muitos pacientes acometidos por essa patologia são resistentes aos tratamentos farmacológicos convencionais, que, em sua totalidade apresentam limitações de uso devido a seus efeitos adversos (PATRIAS, 2007).

Além disso, as neuropatias crônicas afetam a qualidade de vida do paciente. Segundo Merskey & Bogduk (1994), a depressão é a comorbidade mais comum entre pacientes com dor crônica, e esses relatam níveis mais elevados de dor do que aqueles que não têm depressão. Alguns estudos clínicos indicam que parece existir uma interação recíproca entre dor e depressão (NICHOLSON & VERMA, 2004; ROMANO & TURNER, 1985; KEEFE et al., 1986; BLACKBURN-MUNRO & BLACKBURN-MUNRO, 2001).

Considerando o exposto: de que maneira podemos reconhecer e manejar a dor de forma mais eficaz? O tratamento da dor neuropática, geralmente, é focado no alívio da dor e pode incluir técnicas farmacológicas e não farmacológicas. A acupuntura (AC), consiste na inserção de agulhas finas em locais específicos do corpo (acupontos), localizados em tecidos profundos com rica inervação sensorial (GOLDMAN et al., 2010; NIH Consensus Statement., 1997; ZILKA, 2010). Essa técnica de baixo custo e poucos efeitos adversos têm sido uma das alternativas utilizadas em complemento ao tratamento farmacológico da dor neuropática (TEIXEIRA, 1999; MO et al., 1996; AHN et al., 2007) e é homologada pela Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) (BRASIL, 2006).

Porém, se discute a efetividade da acupuntura e seus mecanismos, visto que, existem divergências acerca da validade e eficácia da AC na Medicina Ocidental. Dessa forma, a caracterização mais precisa dos mecanismos pelos quais a AC exerce seu efeito no organismo, se faz necessário no intuito de reduzir custos de tratamento, possibilitar ao paciente intervenções menos invasivas, de eficácia comprovada e efetivas quando comparada aos tratamentos convencionais.

Portanto, nosso trabalho buscou verificar o efeito da AC no acuponto SP6, do tratamento farmacológico (TF) e da associação entre TF e AC sobre o aspecto tipo-depressivo induzido por lesão neuropática crônica.

2 METODOLOGIA

Para a realização de experimentos foram utilizados camundongos (*Mus musculus*) da linhagem Swiss, cujos procedimentos seguiram as orientações éticas para investigação da dor experimental em animais (ZIMMERMANN, 1983), após aprovação da Comissão de Ética do uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), sob número de protocolo 038/2017. A realização desta pesquisa teve auxílio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

O procedimento da Ligação Parcial do nervo ciático (LPNC) consiste na exposição e sutura do nervo ciático (cerca de um terço de sua espessura). Em um dos grupos de animais, o procedimento cirúrgico e a exposição do nervo foi realizado, contudo, o mesmo não foi amarrado (não foi realizada a constrição parcial do nervo), e foi denominado grupo falso operado (Tabela 1).

Tabela 1. Grupos experimentais divididos de acordo com o procedimento.

Grupos	Procedimento	Nº de animais
Controle	Submetidos à LPNC, sem tratamento posterior	6
Falso operado	Submetidos ao procedimento cirúrgico, porém o nervo não foi ligado.	6
Operado e tratado com acupuntura manual no SP6	Submetidos à LPNC e tratados três vezes por semana com AC manual no SP6.	6
Operado e tratado com farmacologia convencional	Submetidos à LPNC e tratados com protocolo farmacológico utilizando o medicamento gabapentina.	7
Operado e tratado com farmacologia convencional	Submetidos à LPNC e tratados com protocolo farmacológico utilizando metade da dose do medicamento gabapentina.	6
Operado, tratado com farmacologia convencional e acupuntura manual no SP6	Submetidos à LPNC, tratados com protocolo farmacológico utilizando metade da dose do medicamento gabapentina em associação ao tratamento com AC manual por três vezes na semana.	7

Foram realizados os seguintes tratamentos: (1) Acupuntura: A identificação do acuponto SP6 em camundongos foi realizada de acordo com o estudo de Yin et al (2008). Para realizar o procedimento de tratamento, os animais foram contidos em um cilindro de polietileno com as patas traseiras para fora do cilindro. A acupuntura manual foi realizada pela inserção de agulha de aço inoxidável (0,17 x 7mm) utilizando um aplicador. Todo o procedimento durou cerca de 15 segundos. Após a cirurgia, os animais foram tratados três vezes por semana com AC manual por 10 minutos (DA SILVA, et al., 2013). Os animais permaneceram acordados, sem sinais de estresse e foram observados durante o período de estimulação da acupuntura. (2) Gabapentina: O fármaco é anticonvulsivante e usado como coadjuvante no tratamento da dor, 10 mg/kg, subcutâneo, diariamente, 1 hora antes das avaliações. (3) Meia dose de Gabapentina: Aplicação e procedimentos idênticos ao tratamento com Gabapentina, no entanto com a dose de 5mg/kg.

As avaliações comportamentais foram realizadas apenas uma vez, após o décimo tratamento com AC em todos os grupos experimentais. O teste do nado forçado (TNF) seguiu o proposto por Porsolt (1977) para camundongos. O animal foi colocado em um tanque cilíndrico contendo água limpa a 25°C, durante 6 minutos. Durante o teste cada animal apresentou diversos comportamentos que puderam ser mensurados. Após o término do teste, cada animal foi seco e mantido sob uma lâmpada de 40W. A cada animal a água do cilindro foi substituída por água limpa. Todas as sessões do teste foram gravadas com câmera posicionada a 20 cm da borda do cilindro para que os registros sejam analisados posteriormente e classificados como descritos a seguir: (1) imobilidade: ausência de movimentos bruscos (o animal apresenta movimentos mínimos para manter a cabeça acima da água, ou permanecer boiando sobre a água); (2) nado: movimentos horizontais do animal pelo tanque, normalmente fazendo uma trajetória circular, movimentando as 4 patas vigorosamente.

O teste de suspensão pela cauda (TSC) foi proposto por Stéru (1985) e adaptado em nosso laboratório. O procedimento consistiu em suspender cada animal pela cauda, com auxílio de uma fita adesiva, na bancada de experimentos a uma altura de 1,5 m do chão, com a porção ventral do corpo voltada para a câmera de registros (40 cm na frente do animal), durante 6 minutos. Após a observação não-sistemática dos vídeos obteve-se a definição dos comportamentos que comporiam o catálogo comportamental que consistiu das seguintes categorias: (1) imobilidade: ausência de movimentos bruscos ou ausência total de movimento ou (2) nado: movimentos não repetitivos, em todas as direções possíveis.

A análise estatística dos grupos foi realizada por meio de análise de variância (ANOVA de uma via) seguida pelo teste de Student-Newman-Keuls, utilizando-se o *software GraphPad Prism* versão 5.0 (San Diego, CA:2008).

3 RESULTADOS e DISCUSSÃO

As Figuras 1 e 2 mostram, respectivamente, os valores do tempo de imobilidade (TI) dos camundongos em segundos, tanto no TSC como no TNF. O TI, em ambos os testes, é quantificado e caracterizado como comportamento tipo-depressivo. Observa-se que, tanto no TSC quanto no TNF, houve diferença estatística entre os grupos falso operado e controle, demonstrando que a nocicepção induzida pela LPNC provocou o comportamento do tipo-depressivo.

Frequentemente estudos clínicos e epidemiológicos demonstram a associação entre dor crônica (como as neuropatias) e transtornos psiquiátricos, e também, indicam ainda alta prevalência de depressão em pacientes com dor (KNASTER et al., 2012; RADAT et al. 2013). Porém, apesar dessas associações bem estabelecidas, a extensão em que a depressão e a dor crônica contribuem para o desenvolvimento ou a manutenção do outro não é clara (DIMITROV et al., 2014). Ainda, podemos salientar o fato que para investigar mudanças neuropáticas induzidas por dor crônica em roedores podem apresentar resultados variáveis e diversos. Yalcin et al. (2011) mostraram que camundongos desenvolvem comportamento semelhante à depressão após 6-8 semanas da indução da lesão. Outros estudos, com diferentes modelos de indução e diferentes tempos experimentais, não encontraram mudanças do comportamento do tipo-depressivo (URBAN et al., 2011) ou apenas mudança no comportamento semelhante à depressão (HUMMEL et al., 2012), ou no comportamento semelhante à depressão, juntamente com déficits cognitivos (LEITE-ALMEIDA et al., 2012).

Podemos observar ainda que a AC, bem como o tratamento com Gabapentina, foram efetivos na redução do comportamento tipo-depressivo nos animais com neuropatia crônica. O TF com a meia dose de Gabapentina não foi capaz de reduzir o tempo de imobilidade no TSC, no entanto, foi efetivo no TNF. Ademais, observamos que a associação de AC com a meia dose de Gabapentina reduziu significativamente o aspecto tipo-depressivo em ambos os testes comportamentais.

Para que o tratamento antidepressivo seja realizado de maneira adequada devem ser considerados aspectos biológicos, psicológicos e sociais do paciente. Embora não exista diferenças significativas, em termos de eficácia, entre os diferentes antidepressivos, existem em termos de efeitos colaterais, preço, risco de suicídio e tolerabilidade. Atualmente, fazem parte dos tratamentos antidepressivos no Brasil: (1) drogas tricíclicas; (2) inibidores seletivos da recaptação de serotonina, (3) inibidores da monoaminaoxidase e (4) outros medicamentos como venlafaxina e bupropiona. Nem todos os pacientes respondem ao TF, que é frequentemente acompanhado de efeitos colaterais indesejados (DOS SANTOS et al., 2008). Por isso, há necessidade de estratégias terapêuticas adicionais para o tratamento da depressão, como o uso de autoajuda e terapias complementares para transtornos do humor (SCHNYER, 2011).

A AC tem sido usada tradicionalmente para problemas como ansiedade, insônia, estresse e depressão na China e em outros países do Leste Asiático (PILKINGTON, 2013), mas seu efeito nessas condições ainda não está bem definido. Vários estudos experimentais em animais e humanos indicam que o agulhamento por acupuntura (LEE et al., 2009; DA SILVA et al., 2011) e a eletroacupuntura (HAN, 1986) têm efeitos fisiológicos demonstráveis. Esses efeitos, incluindo a liberação de neurotransmissores (HAN, 1986; WANG et al., 2008) diminuíram a ativação das áreas límbicas associadas à dor e as alterações na bioquímica do líquido cefalorraquidiano (SAMUELS et al., 2008; QIU et al., 2010); ainda a AC também

pode modificar o funcionamento neural que se acredita estar implicado na fisiopatologia dos transtornos afetivos (SCHNYER, 2011).

Figura 1- Gráfico do tempo de imobilidade de camundongos, em segundos, no teste de suspensão pela cauda.

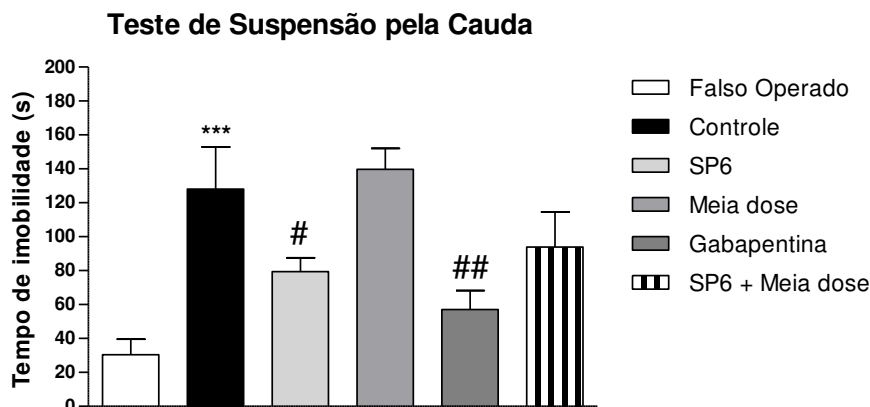
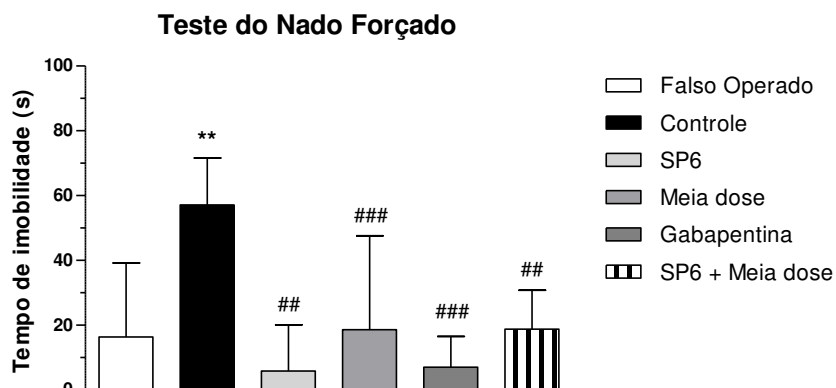


Figura 2- Gráfico do tempo de imobilidade de camundongos, em segundos, no teste do nado forçado.



4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como demonstramos a LPNC foi capaz de induzir neuropatia e comportamento do tipo-depressivo em camundongos. Ainda, tanto o TF em sua dose total quanto com AC foram capazes de reduzir o comportamento do tipo-depressivo. Além disso, o tratamento com meia dose de Gabapentina reduziu o comportamento do tipo-depressivo no TNF, embora não tenha apresentado resultado significativo no TSC. Também notamos que, a associação do TF e da AC, diminuiu o comportamento do tipo-depressivo nos camundongos. Desta forma, podemos inferir que pessoas com depressão podem ser tratadas com AC, isolada ou em associação a fármacos, inclusive em doses reduzidas, de forma efetiva.

REFERÊNCIAS

- AHN, A.C., BENNANI T., FREEMAN, R. et al. Two styles of acupuncture for treating painful diabetic neuropathy-a pilot randomised control trial. **Acupunct Med.** 2007;25(1-2):11-7.
- BASBAUM, A.L. e JESSEL, T. The perception of pain. In Principles of Neuroscience, New York: **Appleton and Lange**, p. 472-491, 2001.
- BLACKBURN-MUNRO, G. e BLACKBURN-MUNRO, R.E. Chronic pain, chronic stress and depression: Coincidence or consequence? **J Neuroendocrinol.** 2001,13:1009–1023.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS - PNPIC-SUS / Ministério**

da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. - Brasília : Ministério da Saúde, 2006.

DA SILVA, M.D. et al. **Atividade antinociceptiva e anti-inflamatória da acupuntura no acuponto spleen 6 (SP6) em camundongos: análise dos seus mecanismos neurobiológicos.** 214p. Florianópolis, 2013.

DIMITROV, E.L., TSUDA, M.C., CAMERON, H.A. et al. Anxiety- and Depression-Like Behavior and Impaired Neurogenesis Evoked by Peripheral Neuropathy Persist following Resolution of Prolonged Tactile Hypersensitivity. **Journal of Neuroscience**, 2014, 34 (37) 12304-12312.

DOS SANTOS, J.G. Jr., KAWANO, F., NISHIDA, M.M. et al. Antidepressive-like effects of electroacupuncture in rats. **Physiol Behav.** 93, 155-159, 2008.

GOLDMAN, N., CHEN, M., FUJITA, T., et al. Adenosine A1 receptors mediate local antinociceptive effects of acupuncture. **Nat Neurosci**, v. 13, p. 883-888, 2010.

HAN, J.S., 1986. Electroacupuncture: an alternative to antidepressants for treating affective diseases? **Int J Neurosci.** 29, 79-92.

HUMMEL, M., LU, P., CUMMONS et al. G.T. The persistence of a long-term negative affective state following the induction of either acute or chronic pain. **Pain**, 2008, 140:436-445.

KNASTER, P., KARLSSON, H., ESTLANDER, A.M. et al. Psychiatric disorders as assessed with SCID in chronic pain patients: the anxiety disorders precede the onset of pain. **Gen Hosp Psychiatry** 34:46-52, 2012.

KEEFE, F.J., WILKINS, R.H., COOK, W.A. et al. Depression, pain, and pain behavior. **J Consult Clin Psychol** 1986;54:665-9.

LEITE-ALMEIDA, H., CERQUEIRA, J.J., WEI, H. et al. Differential effects of left/right neuropathy on rats' anxiety and cognitive behavior. **Pain**, 2012, 153:2218-2225.

MO X., CHEN, D., JI C. et al. Effect of electro-acupuncture and transcutaneous electric nerve stimulation on experimental diabetes and its neuropathy. **Zhen Ci Yan Jiu.** 1996; 21(3):55-9.

NICHOLSON, B., VERMA, S. Comorbidities in chronic neuropathic pain. **Pain Med** 2004;5:S9-ROMANO, J.M., TURNER, J.A. Chronic pain and depression: does the evidence support a relationship? **Psychol Bull** 1985;97:18-34.

NIH Consensus Statement. n.15, p.1-34, 1997.

PATRIAS, K. Citing medicine: the NLM style guide for authors, editors, and publishers [Internet]. 2nd ed. Wendling, DL, technical editor. Bethesda (MD): **National Library of Medicine (US)**; 2007. Disponível em: <http://www.nlm.nih.gov/citingmedicine>.

PILKINGTON, K., 2013. Acupuncture therapy for psychiatric illness. **Int Rev Neurobiol.** 111, 197-216.

QIU, W.Q., CLAUNCH, J., KONG, J. et al. 2010. The effects of acupuncture on the brain networks for emotion and cognition: an observation of gender differences. **Brain Res.** 1362, 56-67.

RADAT, F., MARGOT-DUCLOT, A., ATTAL, N. Psychiatric co-morbidities in patients with chronic peripheral neuropathic pain: a multicentre cohort study. **Eur J Pain**, 2013, 17:1547-57.

SAMUELS, N., GROPP, C., SINGER, S.R. et al. Acupuncture for psychiatric illness: a literature review. **Behav Med.** 2008 34, 55-64.

SCHNYER, R.N., 2011. Commentary on the Cochrane Review of acupuncture for depression. **Explore (NY).** 7, 193-197.

TEIXEIRA, M.J. Dor por avulsão de raízes nervosas. **Rev Med (São Paulo).** 1999;78(2 Pt 2):197-200.

URBAN, R., SCHERRER, G., GOULDING, E.H. et al. Behavioral indices of ongoing pain are largely unchanged in male mice with tissue or nerve injury-induced mechanical hypersensitivity. **Pain**, 2011, 152:990-1000.

YALCIN, I., BOHREN, Y., WALTISPERGER, E. et al. A time-dependent history of mood disorders in a murine model of neuropathic pain. **Biol Psychiatry**, 2011, 70:946-953.

ZILKA, M.J. Nedling adenosine receptors for pain relief. **Nat Neurosci**, v.13, p. 783-784, 2010.

ZIMMERMANN, M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. **Pain**, v. 16, p. 109-110, 1983.