

## EFEITOS DA ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA COM CORRENTE CONTÍNUA SOBRE PROCESSO INFLAMATÓRIO INDUZIDO PELO ADJUVANTE DE FREUND EM RATOS

CLARA CAMACHO DOS REIS<sup>1</sup>; SABRINA PEREIRA SILVA<sup>2</sup>; OTÁVIO GARCIA MARTINS<sup>2</sup>; LICIANE FERNANDES MEDEIROS<sup>3</sup>; IRACI LUCENA DA SILVA TORRES<sup>3</sup>; IZABEL CRISTINA CUSTODIO DE SOUZA<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – clinhacla@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas

<sup>3</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul

<sup>4</sup> Universidade Federal de Pelotas – belcustodio20@yahoo.com.br

### 1. INTRODUÇÃO

A dor é um dos quatro sinais da inflamação e possui importante repercussão psicossocial e econômica, sendo parte desse impacto devido às manifestações associadas a dor, como estresse crônico, variações do apetite, insônia, irritabilidade e ansiedade<sup>1</sup>. Somado a isso estão as limitações terapêuticas dos tratamentos farmacológicos disponíveis no mercado, na maioria das vezes realizados com opioides e anti-inflamatórios não esteroidais<sup>2</sup>. Portanto, se torna imprescindível, tanto a elucidação dos mecanismos por trás dos diferentes tipos de dor, quanto a pesquisa e desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas.

Dentre as alternativas terapêuticas mais promissoras, está a estimulação elétrica com corrente contínua (ETCC), esta técnica pode aumentar ou diminuir a excitabilidade neuronal, dependendo do fluxo da corrente. Em estímulo anodal promove aumento da excitabilidade neuronal (despolarização), no entanto em estímulo catodal leva a diminuição da excitabilidade neuronal (hiperpolarização)<sup>3</sup>. Atualmente, existem estudos demonstrando modulação de fator neural derivado do cérebro (BDNF) em amostras de soro, plasma e estruturas cerebrais como córtex total e medula espinhal em modelo animal de dor neuropática induzida. Os resultados demonstraram redução do BDNF no córtex total e soro e aumento na medula espinhal depois de 7 dias de tratamento<sup>4,5</sup>.

Outro aspecto que deve ser levado em consideração nesse estudo, é o papel das interleucinas (IL) no mecanismo da inflamação, em especial da IL-6 e da IL-10. A IL-6 tem ação principal pró-inflamatória, recrutando monócitos e auxiliando na sua diferenciação em macrófagos, além de recrutar linfócitos e de ter ação cronificadora dos processos inflamatórios<sup>6</sup>. Já a IL-10 tem ação anti-inflamatória, por meio da supressão da função de macrófagos e de linfócitos T efetores. Estudos demonstraram modulação de citocinas (Interleucina 1 $\beta$ , Interleucina -10, Fator de Necrose Tumoral- $\alpha$ ) pró e anti-inflamatórias, na medula espinhal com a utilização de ETCC bimodal em modelo animal de dor neuropática. Os resultados demonstraram alívio da dor comportamental podendo estar relacionada a neuroimunomodulação das citocinas avaliadas<sup>7</sup>.

Buscando respostas acerca do papel do ETCC na inflamação e, consequentemente, na dor causada por esse processo, o objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos bioquímicos e morfológicos do ETCC em ratos submetidos a um modelo de dor inflamatória.

### 2. METODOLOGIA

Para a realização desse trabalho, foram utilizados 54 ratos Wistar divididos em seis grupos: Controle Total, Controle + sham-ETCC, Controle + ETCC, CFA Total, CFA + sham-ETCC, CFA + ETCC. O grupo controle recebeu injeção de salina e grupo CFA foi submetido à inflamação crônica induzida por adjuvante de Freund na pata traseira direita. Apos 7 dias de indução, os ratos foram submetidos a 8 dias de ETCC (0,5mA, 20min/dia).

O sangue para a análise bioquímica dos níveis de BDNF, IL-6 e IL-10, foi coletado no momento da eutanásia, e após foram retirados o hipocampo (HC), o córtex pré frontal (CPF) e o estriado (ES) e a pata traseira direita. Os parâmetros morfológicos (histologia do CPF, HP, ES) e bioquímicos (BDNF, IL6 e IL10) foram avaliados oito dias após o tratamento em soro, por meio de técnica de Hematoxilina-Eosina (Motic Images Plus 2.0) e ELISA, respectivamente. Na avaliação histológica, as imagens foram capturadas em 3 áreas (társica, coxim e calcanhar).

As medidas antropométricas como, peso dos animais, bem como, a largura da pata traseira direita, foram realizadas sequencialmente: antes da indução do modelo (Basal), 7 dias após inflamação e imediatamente, 24h e 8 dias após tratamento com ETCC.

A análise estatística dos dados foi realizada por meio da Análise de Variância (ANOVA), seguido pelo teste Student-Newman-Keuls (SNK), os resultados com valor de  $P<0,05$  foram considerados significativos, o software utilizado para a análise foi a versão 20.0 do SPSS.

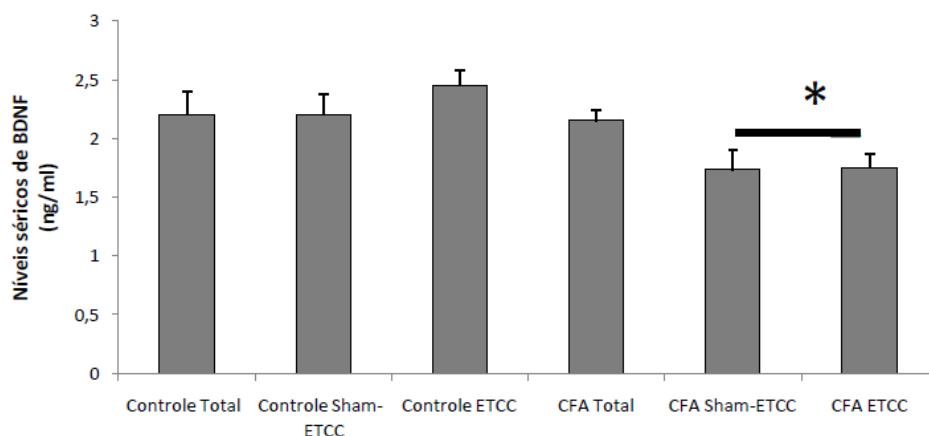
### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os níveis de BDNF não mostraram diferenças significativas entre as estruturas analisadas, no entanto, em níveis séricos verificou-se diferenças do grupo CFA Sham-ETTC e CFA-ETCC em relação aos grupos controles- total, controle-sham e controle ETCC. (FIGURA 1).

Não houve diferença significativa nos níveis de interleucinas (IL6 e IL10) em HC, CPF , ES e soro . Especula-se que a natureza parácrina das interleucinas tenha contribuído para a manutenção dos níveis séricos, uma vez que há comprovado papel das interleucinas no processo inflamatório

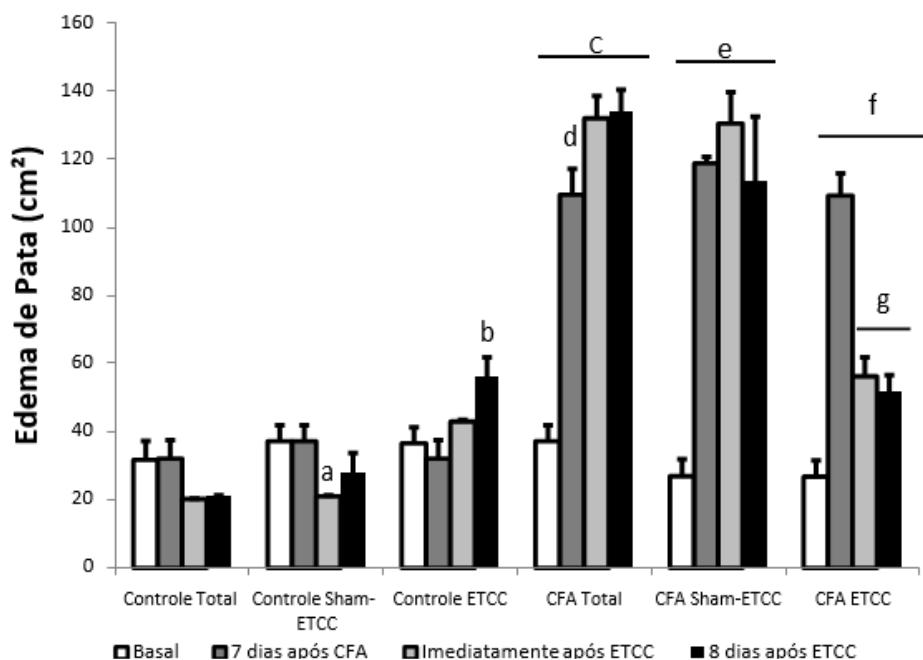
Os animais que receberam CFA (total, sham-ETCC e ETCC) apresentaram um aumento no edema da pata que foi parcialmente revertido, imediatamente e 24 horas após ETCC. Este estudo mostrou que a ETCC tem efeito sobre a infiltração linfocitária e neovascularização do edema, modulando assim o processo inflamatório local. (FIGURA 2). A análise histológica mostrou que os grupos CFA possuíam um aumento do infiltrado linfocitário associado com neovascularização, mas se observou uma redução nas áreas afetadas do grupo que recebeu tratamento com ETCC. Esses achados corroboram para uma possível modulação do processo inflamatório pelo ETCC .

FIGURA 1: Níveis séricos de BDNF



As barras verticais representam as médias  $\pm$  erro padrão da média de níveis de BDNF (ng/ml). \* Diferença significativa em relação ao grupo Controle ETCC (ANOVA de uma via/SNK,  $p < 0.05$ ;  $n = 5-6$ ).

FIGURA 2: Medidas do Edema da Pata



As barras verticais representam as médias  $\pm$  erro padrão da média de tamanho da pata em centímetros (cm). \* Interação tempo versus grupo (GEE,  $p < 0.05$ ;  $n = 9$ ). a) diferente do basal e 7 dias após CFA no grupo controle Sham-ETCC; b) diferente do basal e 7 dias após CFA no grupo Controle ETCC; c) diferente do basal no grupo CFA total; d) diferente do imediatamente e 8 dias após ETCC; e) diferente do basal no grupo CFA Sham-ETCC; f) diferente do basal no grupo CFA ETCC; g) diferente do 7 dias após CFA no grupo CFA ETCC.

## 4. CONCLUSÃO

Nesse trabalho foi possível estabelecer uma relação entre o ETCC e quadros inflamatórios, observados por meio da redução do tamanho da pata e de parâmetros histológicos nos animais submetidos a uma dor crônica inflamatória. Por outro lado, os níveis séricos de interleucinas (IL6 e IL10), não mostraram diferenças significativas nos tecidos analisados e nem em soro, o que pode estar relacionado à síntese “de novo” das citocinas inflamatórias. Contudo, ainda é necessário um melhor esclarecimento a cerca da modulação do ETCC nos mecanismos bioquímicos e fisiológicos da dor crônica inflamatória.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WANG, H. Y.; CRUPI, D.; LIU, J.; STUCKY, A.; CRUCIATA, G.; ROCCO, A. D.; FRIEDMAN, E.; QUARTARONE, A.; GHILARDI, M. F. Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation Enhances BDNF-TrkB Signaling in Both Brain and Lymphocyte. **The Journal of Neuroscience**, Washington, DC., v.31(30), n.15, p.11044-11054, 2011.
2. CAUMO, W. Analgésicos Opioides. In: FUCHS, F. D., WANNMACHER, L. **Farmacologia Clínica: Fundamentos da Terapêutica Racional**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. Cap. 23, p.379-389.
3. FRITSCH, B.; REIS, J.; MARTINOWICH, K.; SCHAMBRA, H. M.; JI, Y., COHEN, L. G.; LU, B. Direct Current Stimulation Promotes BDNF-Dependent Synaptic Plasticity: Potential Implications for Motor Learning. **Neuron**. v.66(2), n.6, p.198-204, 2010.
4. FILHO, P.R.M. et al. Transcranial direct current stimulation(tDCS) reverts behavioral alterations and brain stem BDNF level increase induced by neuropathic pain model: Long lasting effect. **Progress in Neuro Psychopharmacology Biological Psychiatry**, 4;64:44-51. 2016
5. ADACHI, L. N. S.; CAUMO, W.; LASTE, G.; MEDEIROS, L. F.; ROZISKY, J. R.; SOUZA, A.; FREGANI, F.; TORRES I. L. S. Reversal of chronic stress-induced pain by transcranial direct current stimulation (tDCS) in an animal model. **Brain Research**, v.1489, p.17-26, 2012.
6. SCHELLER, J.; CHALARIS, A.; SCHMIDT-ARRAS, D.; ROSE-JOHN, S. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. **Biochimica et Biophysica Acta**. V.1813, p.878–888, 2011.
7. CIOATO,S.G et al. Long-Lasting Effect of Transcranial Direct Current Stimulation in the reversal of hyperalgesia and cytokine alterations induced by the neuropathic pain model. **Brain Stimulation**, p. 1-9, 2015.