

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

WINNIE BAUER

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS AGUDOS COMPORTAMENTAIS DE UMA
SESSÃO ÚNICA DE ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA POR CORRENTE
CONTÍNUA (ETCC) EM RATOS NAIVE

Porto Alegre

2018

WINNIE BAUER

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS AGUDOS COMPORTAMENTAIS DE UMA
SESSÃO ÚNICA DE ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA POR CORRENTE
CONTÍNUA (ETCC) EM 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
Cirurgião-Dentista.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Silva de
Quevedo

Porto Alegre

2018

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais e avó pela dedicação, pelo incentivo, pelo conforto nos momentos difíceis e pela confiança depositada em mim independente de qualquer adversidade.

Aos meus amados irmãos, que me acompanharam em cada um dos passos dados nessa jornada, tanto os difíceis quanto os prazerosos e que muitas vezes abriram mão dos próprios sonhos para que o meu pudesse ser realizado.

Ao Cirurgião-Dentista Michael Barros da Silva, meu padrinho querido e exemplo de profissional.

Ao Professor Doutor Alexandre Silva de Quevedo que me orientou com dedicação e me conduziu com paciência e amizade durante todo o ano, até o final deste trabalho.

À Farmacêutica, Mestre em Ecologia e Cirurgiã-Dentista Lisandra Eda Fusinato Zin Ciapparini, que foi uma grande parceira e amiga, me ajudando em todos os momentos e sanando as minhas dúvidas.

A todos do Grupo de Estudos em Neurociências, que se mostraram colegas excepcionais e junto dos quais adquiri muito conhecimento.

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 uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a dano tecidual real ou potencial. Seu tratamento é considerado um desafio na clínica médica/odontológica, devido à sua subjetividade e suas consequências à qualidade de vida dos pacientes. A busca por modalidades de tratamento alternativas, seguras e baratas revela a estimulação transcraniana por corrente contínua (ETCC) como uma abordagem não invasiva e que atende aos pré requisitos citados. Apesar desta técnica já ser aplicada e considerada segura em seres humanos, seus mecanismos de ação ainda são objetos de estudo. Experimentos com animais tem mostrado um efeito promissor da ETCC em modelos de dor, mas nenhum estudo analisou o efeito temporal desta técnica em animais sem prévia manipulação (“naive”). O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito temporal de uma sessão única de ETCC sobre o comportamento nociceptivo de ratos sem manipulação terapêutica prévia. Para o experimento, foram utilizados 100 ratos Wistar machos, divididos em 10 grupos experimentais: Controle Total, Controle Comportamento, ETCC 30, ETCC 60, ETCC 120, ETCC 24h, Sham ETCC 30, Sham ETCC 60, Sham ETCC 120 e Sham ETCC 24h. Os animais dos grupos ETCC receberam tratamento ativo, enquanto os dos grupos Sham tiveram os eletrodos apenas posicionados, mas permaneceram desligados. O teste comportamental nociceptivo da Placa Quente foi realizado no período basal e após os respectivos tratamentos (ETCC ou Sham), no período previsto para cada grupo (30, 60, 120min e 24h). Os animais foram eutanasiados por guilhotinamento após a realização do último teste comportamental. Os resultados foram expressos em forma de latência à dor térmica em segundos. Nenhum dos grupos apresentou diminuição na latência na aferição pós tratamento. Os animais dos grupos ETCC apresentaram aumento na latência (pré vs pós tratamento) 60min após o tratamento ($p < 0.05$), o que não foi observado nos demais tempos ($p > 0.05$). Os animais do grupo controle e dos grupos Sham-ETCC não apresentaram diferenças entre as latências basais e as 7 dias após (no caso dos grupos Sham, após o falso procedimento). Os resultados encontrados sugerem que a ETCC possui efeito protetivo para dor térmica 60 minutos após sua aplicação. Sendo assim a ETCC pode ser um importante mecanismo para evitar a cronificação de dores agudas e auxiliar na analgesia pós cirúrgica.

Palavras-chave: Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua. Nocicepção. Placa quente. Analgesia. Ratos

ABSTRACT

Pain is defined as an unpleasant sensory and emotional experience associated with actual or potential tissue damage. Its treatment and consideration is a challenge in the medical / odontological clinic, due to its subjectivity and its consequences on patients' quality of life. The search for alternative, safe and inexpensive treatment modalities reveals a transcranial continuous current (FTE) estimation as a non-invasive approach and destined to the aforementioned prerequisites. Although this technique has its safety, its mechanisms of action are still objects of study. Animal experiments have a promising effect on CTEF in pain models, but no study has analyzed the temporal effect of this technique on animals without prior ("naive") manipulation. The objective of this study was to evaluate the temporal effect of a single session of ECTS on the nociceptive behavior of rats without previous therapeutic manipulation. For the experiment, 100 male Wistar rats were divided into 10 experimental groups: Total Control, Control Behavior, ETCC 30, ETCC 60, ETCC 120, ETCC 24h, Sham ETCC 30, Sham ETCC 60, Sham ETCC 120 and Sham ETCC 24h . The animals in the ETCC groups received the active treatment, while the Sham groups had the electrodes only positioned but remained disconnected. The nociceptive behavioral test of the Hot Plate was performed in the basal period and after the treatments (ETCC or Sham), no predicted period for each group (30, 60, 120min and 24h). The animals were euthanized by guillotining after a last behavioral test. The results were expressed as thermal pain latency in seconds. None of the groups had a decrease in latency in post-treatment gauging. The animals of the ETCC groups showed an increase in latency (pre vs post treatment) 60 min after treatment ($p < 0.05$), which was not observed in the other times ($p > 0.05$). Control animals and Sham-ETCC groups are not presented in languages as baseline latencies and 7 days later (in the case of Sham groups, after the false procedure). The results suggest that the CTEF has a protective coat for thermal pain 60 minutes after its application. Therefore, a CTEF can be an important mechanism to avoid a chronification of acute and auxiliary pains in postoperative analgesia.

Keywords: Transcranial Direct Current Stimulation. Nociception. Hot plate. Rats. Analgesia.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	6
2 ARTIGO CIENTÍFICO.....	9
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	30
REFERÊNCIAS.....	32

1 INTRODUÇÃO

Grande parte dos tratamentos médicos/odontológicos envolvem técnicas invasivas, causando danos teciduais inerentes aos procedimentos. Na falta de uma efetiva analgesia, pode haver a presença de dor, a qual é uma experiência multidimensional pois interfere na homeostasia, na qualidade de vida, e em aspectos emocionais e cognitivos (COGHILL; MCHAFFIE; YEN, 2003; MERSKEY; BOGDUCK, 1994; GODINHO et al., 2006; KEEFE et al., 2000; QUEVEDO; COGHILL, 2007; TRACEY et al., 2002). A dor pode ainda causar alterações somatossensoriais, autonômicas, endócrinas e comportamentais. Por este motivo, é importante o entendimento de seus diferentes mecanismos fisiopatológicos e das estratégias para seu controle. A ativação de nociceptores pode ocorrer no trans/pós-operatório, e normalmente silencia com a cicatrização da região operada (DAHL; KEHLET, 2006; HINRICHS-ROCKER et al., 2009; SESSLE et al., 2010; ROCHA et al., 2006; GERBERSHAGEN et al., 2009).

Embora a manutenção da analgesia do paciente seja prioridade, há limitações quanto ao seu manejo devido às dificuldades na avaliação subjetiva da dor, sua subestimação, inadequado uso de medicamentos e de seus efeitos adversos. Foi visto que mais de 80% dos pacientes submetidos à cirurgia relataram desconforto pós-operatório e 14,8% apresentam dor durante, pelo menos, 2 anos após a cirurgia (BRUGUEROLLE; LABRECQUE, 2003; JENSEN et al., 2008; APFELBAUM et al., 2017; SIMANSKI et al., 2014). Desta forma, medidas para o controle da instalação do quadro doloroso devem iniciar o mais precoce possível mesmo antes do procedimento cirúrgico. Falhas na analgesia podem causar presença de dor aguda e o seu progresso ao estado de cronicidade denominado de dor crônica pós-operatória (DCPO) tendo uma incidência que varia de 5 a 80% dos casos dependendo do procedimento cirúrgico indicado. O paciente com DCPO necessita de tratamento mais prolongado com aumento dos custos (ex. medicações e dias de internação) e maior disponibilização de pessoal para o atendimento. A DCPO pode ser observada tanto após grandes, como pequenos, procedimentos e envolver vários mecanismos, mesmo com um único

procedimento cirúrgico (KRAYCHETE et al., 2016; YUNG et al., 2005; VERMELIS et al., 2010).

O tratamento da dor pode incluir tratamentos cirúrgicos, farmacêuticos e/ou fisioterápicos, como também afastamento do trabalho e diminuição da qualidade de vida. Desta forma, a busca por novas modalidades terapêuticas que permitam uma melhor abordagem dos quadros de dor, apresentem menores efeitos adversos e baixo custo devem ser investigados. Dentre os métodos não invasivos, e que se enquadram nos critérios citados, pode-se citar a estimulação elétrica transcraniana por corrente contínua (ETCC) que possui aplicação simples e oferece pouco ou nenhum risco (BENHAMOU et al., 2008; NITSCHKE; STAGG, 2011).

O tratamento da dor utilizando ETCC tem como foco o córtex motor primário, região adjacente à área cortical responsável pelo processamento da informação nociceptiva. A aplicação da ETCC em pacientes com dor neuropática reduz a sintomatologia por semanas. A ETCC envolve a 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. Embora a ETCC não envolva correntes de altas intensidades, ela altera a excitabilidade neuronal espontânea em regiões corticais (FREGNI et al., 2006a; FREGNI et al., 2006b; PLOW; PASCUAL-LEONE; MACHADO, 2012). A ETCC causa o deslocamento da corrente elétrica no sentido do cátodo para o ânodo. A estimulação anódica despolariza (aumenta a excitação) enquanto a estimulação catódica hiperpolariza (diminui a excitação) a membrana dos neurônios corticais. Esta estimulação pode alterar a atividade neuronal no eixo nervoso (neuroaxis) modulando a percepção da dor causada pelo estímulo nociceptivo (NITSCHKE et al., 2008; ROSEN et al., 2009; ADACHI et al., 2017).

Os mecanismos pelos quais a ETCC age nos diferentes sistemas ainda é objeto de investigação. Esta terapia foi eficaz na modulação de respostas inflamatórias e tem demonstrado ter maior atividade aguda contralateral ao lado estimulado (LASTE et al., 2012; SANTOS, 2012). O seu uso no pós-operatório mostrou reduzir a necessidade da administração de opióides em pacientes submetidos à cirurgia de joelho (BORCKARDT, 2013). Desta forma, a possibilidade desta técnica ser utilizada na prevenção da instalação do processo doloroso pode ser de grande importância.

Em resumo, a ETCC é uma modalidade de estimulação cerebral não-invasiva, indolor, bem tolerada e sem nenhuma sensação desagradável na aplicação. Além disso, trata-se de método seguro em seres humanos e pode ser combinada a outras intervenções. A ETCC apresenta outras vantagens como a possibilidade da utilização residencial, de modo que os pacientes possam fazer uso por longos períodos com pouco ou nenhum custo adicional (NITSCHKE et al., 2003; NITSCHKE et al., 2008; ZAGHI; HEINE; FREGNI, 2009). Com isso, este método terapêutico poderá ser uma alternativa na prevenção e no tratamento da dor pós-operatória e neuropática, porém estudos adicionais devem ser realizados para confirmar essas hipóteses. Como por exemplo, ainda não se tem conhecimento sobre os efeitos agudos temporais desta técnica em animais *naive*, ou seja, animais que não possuem nenhuma alteração patológica/fisiológica induzida. Sendo assim, este estudo tem como **objetivo fazer uma avaliação sistemática temporal dos efeitos de uma única sessão de ETCC em parâmetros comportamentais** de ratos *naive*.

2 ARTIGO CIENTÍFICO

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS AGUDOS COMPORTAMENTAIS DE UMA SESSÃO ÚNICA DE ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA POR CORRENTE CONTÍNUA (ETCC) EM RATOS NAIVE

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

Lisandra Eda Fusinato Zin Ciapparini. 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.

Stephanie Pandolfo. 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- 3308-5010

E-mail: alexandre.quevedo@ufrgs.br

RESUMO

A dor é definida como uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a dano tecidual real ou potencial. Seu tratamento é considerado um desafio na clínica médica/odontológica, devido à sua subjetividade e suas consequências à qualidade de vida dos pacientes. A busca por modalidades de tratamento alternativas, seguras e de baixo custo induz a busca de novas terapias como a estimulação transcraniana por corrente contínua (ETCC) devido ser uma abordagem não invasiva e de fácil acesso. O objetivo deste estudo foi avaliar de forma sistemática os efeitos de uma sessão única de ETCC sobre o comportamento nociceptivo de ratos sem manipulação terapêutica prévia. Para o experimento, foram utilizados 90 ratos Wistar machos, divididos em 9 grupos experimentais: Controle Comportamento, ETCC 30, ETCC 60, ETCC 120, ETCC 24h, Sham ETCC 30, Sham ETCC 60, Sham ETCC 120 e Sham ETCC 24h. Os animais dos grupos ETCC receberam tratamento ativo, enquanto os dos grupos Sham tiveram os eletrodos apenas posicionados, mas permaneceram desligados. O teste comportamental nociceptivo da Placa Quente foi realizado no período basal e após os respectivos tratamentos (ETCC ou Sham), no período previsto para cada grupo (30, 60, 120min e 24h). Os animais foram eutanasiados por guilhotinamento após a realização do último teste comportamental. Os resultados foram expressos em forma de latência à dor térmica em segundos. Foi realizado o teste t pareado para comparar a latência pré vs. pós tratamento/sham-tratamento, com significância estatística considerada $p < 0.05$. Os animais dos grupos ETCC apresentaram aumento na latência 60min após o tratamento. Os animais do grupo controle e dos grupos Sham-ETCC não apresentaram diferenças nas latências pré vs. pós tratamento. Os presentes dados sugerem que a ETCC pode ser usada para diminuir a sensibilidade nociceptiva em animais sem qualquer manipulação prévia (naive) e potencialmente ter aplicações clínicas como na analgesia pré emptiva.

Palavras-chave: Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua. Nocicepção. Placa Quente.

INTRODUÇÃO

A definição de dor é trazida pela Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP) como “uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a dano tecidual real ou potencial, ou descrita em termos de tal dano”. Na odontologia há a participação acentuada de situações que envolvam algum tipo de algia, seja ela aguda, crônica ou proveniente de algum procedimento cirúrgico [24]. De acordo com Sessle [25], as dores de origem odontológica compõem o elenco que mais afeta a humanidade, afetando a homeostasia, a qualidade de vida, aspectos emocionais [12] e cognitivos [16,23,31]. Além disso, a dor pode causar alterações somatossensoriais, autonômicas, endócrinas e comportamentais [8,13, 26].

Sendo assim, tanto o tratamento da dor quanto a analgesia pré-operatória, apesar de prioridades, são considerados um desafio na clínica devido à dificuldade na avaliação subjetiva da dor, sua subestimação e a existência de efeitos adversos e interações medicamentosas relacionadas aos fármacos [5,15]. Similarmente, um estudo mostrou que cerca de 80% dos pacientes submetidos à cirurgia relatam desconforto pós-operatório, o qual em alguns casos perdurou por até 2 anos após a cirurgia [2]. Esse tipo de morbidade representa também um problema econômico, já que reflete em altos custos de tratamento, incluindo novas cirurgias, fármacos, fisioterapia, além de causar afastamento do trabalho. Dessa forma, é preciso investigar novas modalidades terapêuticas, que permitam uma melhor abordagem dos quadros de dor, apresentem menores efeitos adversos e baixo custo [4]. Um potencial tratamento preventivo da dor é a Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua (ETCC), pois é um método não invasivo e de fácil administração [27].

A ETCC é uma modalidade de estimulação cerebral é bem tolerada e sem nenhuma sensação desagradável na aplicação [20,21]. Além disso, trata-se de um método seguro em seres humanos e pode ser combinada com outras intervenções [32]. Entretanto, os mecanismos pelos quais a ETCC age nos diferentes sistemas neuronais ainda é objeto de investigação. Sabe-se que sua aplicação tem foco no córtex motor primário para o tratamento da dor, e pode alterar a atividade neuronal, modulando a percepção da dor causada pelo estímulo nociceptivo [1]. Estudos em animais tem sido

realizados para compreender os mecanismos da ETCC. Entretanto, não existem estudos sistemáticos para a avaliação dos efeitos da ETCC em animais sem prévia manipulação experimental (naive). Sendo assim, o objetivo do presente estudo é testar a hipótese que uma sessão única de ETCC é capaz de modular a percepção da dor induzida por estímulos térmicos em ratos naive.

METODOLOGIA

Animais

Este trabalho foi desenvolvido no Centro de Pesquisa Experimental do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), na Unidade de Experimentação Animal (UEA) aprovado pelo Comissão de Estudos em animais do HCPA sob número 16-0408. Foram utilizados 90 ratos Wistar machos, entre 55 e 65 dias de idade ($\geq 250\text{g}$) ao início do experimento, divididos em 5 levas de 20 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). Foram alojados na UEA em caixas-moradia, confeccionadas em polipropileno, medindo $49 \times 34 \times 16\text{cm}$, com o assoalho recoberto de serragem, entre e 4 animais por caixa. Cico 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%. Os animais foram alocados randomicamente nos grupos experimentais de acordo com o peso corporal. Cada grupo apresentava 10 animais para o teste comportamental. Esses números foram determinados com base em estudos prévios registrados na literatura e que utilizaram os mesmos materiais e métodos propostos no estudo vigente [18].

Desenho experimental

Foi realizado um estudo de caráter experimental, no qual ratos naive foram expostos a uma sessão única de estimulação transcraniana por corrente contínua (ETCC) e após submetidos à avaliação de parâmetros comportamentais. O experimento foi realizado conforme a Figura 1. Foi realizado um teste comportamental (Placa Quente) no “dia zero” para aferições basais. Uma semana após os testes basais, foi

realizado a sessão com ETCC (dia 1) e, de acordo com os grupos (30 minutos, 1 hora, 2 horas e 24 horas após o tratamento), foi realizado o segundo teste comportamental, seguido do sacrifício dos animais.

Estimulação transcraniana por corrente contínua (ETCC)

Todos os animais envolvidos no estudo foram manipulados diariamente, desde sua chegada até o dia dos experimentos, para que se ambientassem com os pesquisadores e com os locais de realização dos procedimentos. Além disso, os ratos pertencentes aos grupos ETCC, Sham-ETCC (falsa estimulação, ver abaixo) e Controle Comportamento passaram por um período de 7 dias de adaptação ao método de contenção descrito abaixo, durante 15 minutos/dia.

Para a aplicação da ETCC ou Sham-ETCC, foi utilizado um modelo de imobilização com bandagens para contenção dos movimentos dos animais. Para isso, as bandagens foram enroladas em torno de todo o corpo dos animais, restringindo o movimento das quatro patas e do torso, conforme mostrado na Figura 2. Os grupos controle não foram imobilizados.

Os animais foram submetidos à sessão única de ETCC bimodal durante 20 minutos. A corrente direta partiu de uma bateria, que continha um estimulador constante, indo até eletrodos de 1,5 cm² de ECG com adesivo (hidrogel) condutivo. Foi realizada tricotomia prévia na região onde os eletrodos (diâmetro de 11 mm) foram posicionados para melhorar a aderência dos mesmos. Após o posicionamento, os eletrodos foram fixados com fita adesiva (Micropore®) para prevenir sua movimentação durante o procedimento. A corrente utilizada foi de intensidade igual a 0,5mA, a qual tem sido capaz de gerar efeitos terapêuticos sem danificar os tecidos do animal [19]. O eletrodo catódico foi posicionado na região supraorbital e o eletrodo anodal no córtex parietal. Esta posição dos eletrodos aumenta a excitabilidade do córtex motor primário [22] e induz alívio na dor [10]. A técnica utilizada está demonstrada na Figura 3.

Falsa estimulação (Sham-ETCC)

Os grupos denominados Sham, receberam uma ETCC falsa, na 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, conforme a Figura 4.

Grupos experimentais

Os animais foram alocados em 10 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 (Placa Quente)

O teste consiste na colocação dos animais em um cilindro transparente de polipropileno sobre uma superfície aquecida, conforme mostrado na Figura 5. O intervalo de tempo entre a colocação do animal e o início da retirada, compreendia quando o animal promovia o “sapateado”, indica o intervalo de tempo foi registrado como latência de resposta em segundos. Os ratos foram aclimatizados 24 horas antes dos testes por um período de 10 minutos. A temperatura da placa foi mantida em torno de $51^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. As medidas foram avaliadas no “dia zero” (medida basal) e uma semana depois, após a realização dos tratamentos de acordo com o grupo (Controle, Sham ou ETCC).

Eutanásia dos animais

Após a exposição dos animais aos respectivos tratamentos e reaplicação dos testes comportamentais, os animais foram eutanasiados. O método utilizado foi a decapitação sem o uso de anestésicos. Foram retirados tecidos para posterior análises histológicas e bioquímicas que vão além dos objetivos do presente estudo.

Análise estatística

Após a finalização dos experimentos, os dados da latência à dor térmica, obtidos através do teste da Placa Quente, foram analisados. Inicialmente, a normalidade da distribuição dos dados foi testada através do Teste de Kolmogorov-Smirnov. Como os dados apresentaram distribuição normal, testes paramétricos foram utilizados para a sua análise. Devido a este teste comportamental não permitir múltiplas aquisições de dados de um indivíduo em uma única sessão, a análise estatística utilizou apenas duas mensurações de latência térmica: a) durante os testes basais e, b) após a manipulação terapêutica para os grupos testes (ETCC ou sham-ETCC). Todas as segundas mensurações ocorreram 7 dias após os testes basais, inclusive do grupo que não

recebeu intervenção (controle). Cada animal que recebeu a manipulação terapêutica/sham foi testado dentro do seu grupo baseado no tempo após o final da intervenção (30 min, 60 min, 120 min ou 24 hs). 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: $[(\text{Resposta pós-tratamento} / \text{Resposta basal}) * 100]$. As médias e o desvios padrões de cada grupo foram utilizadas para a avaliação dos efeitos do tratamento na sensibilidade da dor utilizando as mensurações basais como controle intragrupo. Para isto foram realizados testes t pareados para comparar as condições pré vs. pós tratamento. 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

Os dados apresentaram distribuição normal ($p > 0.05$). Deste modo, foram utilizados testes paramétricos para comparar, de forma pareada. Comparando a latência no teste da Placa Quente nos períodos basais e após intervenção, não foi observado diminuição do tempo de reação em nenhum dos grupos estudados (tratamento, sham e controle) ($p > 0.05$). Estes dados podem indicar que os animais não apresentaram hiperalgesia induzida pelos procedimentos experimentais. O que pode ser observado na Figura 6, onde todas as percentagens $[(\text{pós-tratamento} / \text{Basal}) * 100]$ são superiores ao teste basal de seus respectivos grupos (linha pontilhada).

Os animais que receberam ETCC apresentaram aumento da latência (basal vs. pós tratamento) sessenta minutos após o tratamento ($p < 0.05$) (grupo E 60) (Figura 6) . O que não foi observado nos demais tempos (30 minutos, 120 minutos e 24 horas) após o tratamento ($p > 0.05$).

Os animais do grupo sham-ETCC não apresentaram diferenças nas latências basais e pós-falso-procedimento ($p > 0.05$) em todos os tempos estudados no presente estudo.

No grupo controle, não houve diferenças entre as latências basais e da repetição do teste 7 dias após ($p > 0.05$). Isto indica que não houve efeito do tempo ou da repetição da manipulação dos animais (ex. aprendizagem do animal em realizar o teste comportamental) nos diferentes tempos estudados.

DISCUSSÃO

Este estudo demonstrou que os ratos *naïve* submetidos ao tratamento com a ETCC apresentam resposta nociceptiva diminuída ao teste da placa quente [29]. Apesar desta técnica proporcionar uma energia de fraca intensidade, essa estimulação por tempo prolongado ocasiona alterações sinápticas que podem resultar em mudança transitória da rede neuronal [29]. Essa terapia é um método não-invasivo e indolor, mas capaz de modular a atividade cerebral tanto localmente quanto à distância e com isso apresentar efeitos terapêuticos [17]. Portanto, o ETCC pode aumentar ou diminuir a atividade neuronal, dependendo do tipo de estimulação ou dos circuitos envolvidos [20]. O ETCC está associado com o aumento da excitabilidade do córtex motor que parece ser responsável pela modulação da percepção da dor por meio de áreas como o tálamo [11]. Outros trabalhos demonstraram que a estimulação do córtex motor, e não a do córtex sensitivo, pode deprimir atividade espontânea dos neurônios talâmicos que se exacerbam após a lesão do trato espinotalâmico [6].

Dados sugerem que o alívio da dor induzido pela ETCC pode ser mediado pela ativação de sistemas opióides endógenos [3]. Por outro lado, a estimulação do córtex motor produz ativação das camadas superficiais desse segmento, cortical agindo sobre os interneurônios intracorticais. A estimulação dessas fibras repassa a estimulação para diferentes áreas do córtex e levam a uma cascata de eventos sinápticos resultando na modulação em várias vias neuronais que incluem tálamo, sistema límbico, núcleos do tronco encefálico e medula [7]. Outra explicação é que os efeitos analgésicos sejam correlacionados com a regulação de neurotransmissores [14].

Apesar do grande avanço farmacológico nas últimas décadas, os fármacos ainda não têm uma eficácia satisfatória para o tratamento da dor crônica: menos da metade dos pacientes relatam benefícios significativos com qualquer tipo de medicamento [9]. A

abordagem, portanto, deve ser interdisciplinar e utilizar de outras modalidades terapêuticas para reduzir a sintomatologia do paciente, promovendo a máxima autonomia funcional, melhora do estado psicossocial e rápida reintegração à sociedade [28]. As modalidades terapêuticas para o tratamento da dor resumem-se a medicamentos, terapias físicas, psicoterapia, acupuntura, procedimentos anestésicos, como os bloqueios nervosos com anestésicos locais, e, por fim, a procedimentos neurocirúrgicos (cirurgias descompressivas, neurotomias, rizotomias, psicocirurgias e implante de eletrodos de estimulação elétrica do sistema nervoso central) [29]. Em relação à estimulação do sistema nervoso central para o alívio da dor, dois métodos têm sido investigados: o uso de estimulação cortical invasiva e a estimulação cerebral não-invasiva, dividida em duas modalidades: a estimulação magnética transcraniana (EMT) e a estimulação transcraniana por corrente contínua (ETCC). Apesar da estimulação cerebral invasiva ter a vantagem de ser uma estimulação focal e poder ser usada por um longo período de tempo, esse método é caro e envolve riscos cirúrgicos de hemorragia e infecção elevados [32].

De uma forma geral, pode-se concluir que o tratamento com a ETCC foi capaz de reduzir a sensibilidade nociceptiva térmica nos animais em um período temporal restrito. Desta forma, a inibição da dor não foi observada imediatamente, pois não houve analgesia nos grupos de menor tempo de teste (30 minutos após o tratamento) e sim apenas nos animais testados 60 minutos pós-tratamento (E60), o que sugere que existem mecanismos mediatos envolvidos na supressão da percepção da dor. Os presentes resultados podem ter implicações clínicas, indicando onde a ETCC pode ser utilizada. Um exemplo seria como terapia preventiva da instalação do processo nociceptivo como na dor pós-operatória o de quadros de dor neuropática.

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.

REFERÊNCIAS

1. Adachi LNS, Oliveira C, Vercelino R, Macedo IC, Laste G, Quevedo AS, et al. Evaluation of different procedure involved in the Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS) technique experimental application. *Clin Biomed Res.* 2017;37(2):9.
2. Apfelbaum JL, 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(2):534-40, table of contents.
3. Aronoff, Gerald M. What Do We Know About the Pathophysiology of Chronic Pain? Implications for Treatment Considerations. *Med Clin N Am* 100 (2016) 31–42, 2016
4. Benhamou D, Berti M, Brodner G, De Andres J, Draisci G, Moreno-Azcoita M, et al. Postoperative Analgesic THERapy Observational Survey (PATHOS): a practice pattern study in 7 central/southern European countries. *Pain.* 2008;136(1-2):134-41.
5. Bruguerolle B, Labrecque G. Rhythmic pattern in pain and their chronotherapy. *Advanced drug delivery reviews.* 2007;59(9-10):883-95.
6. Chen N, Zhang J, Wang P, et al. Functional alterations of pain processing pathway in migraine patients with cutaneous allodynia. *Pain Med* 2015;16(6): 1211–20
7. Cioato SG, Medeiros LF, Filho PRM, Vercelino R, de Souza A, Scarabelot VL, Oliveira C, Adachi LNS, Fregni F, Caumo W, Torres ILS. Long-Lasting Effect of Transcranial Direct Current Stimulation in the Reversal of Hyperalgesia and Cytokine Alterations Induced by the Neuropathic Pain Model. *Brain Stimulation* (2015) 1-9
8. Dahl JB, Kehlet H. [Treatment of postoperative pain--a status report]. *Ugeskrift for laeger.* 2006;168(20):1986-8.
9. Finnerup NB, Otto M, McQuay HJ, Jensen TS, Sindrup SH. Algorithm for neuropathic pain treatment: an evidence based proposal. *Pain.* 2005;118(3):289-305.

10. Fregni F, Gimenes R, Valle AC, Ferreira MJ, Rocha RR, Natalle L, et al. A randomized, sham-controlled, proof of principle study of transcranial direct current stimulation for the treatment of pain in fibromyalgia. *Arthritis and rheumatism*. 2006;54(12):3988-98.
11. Fregni F, Boggio PS, Brunoni AR. *Neuromodulação terapêutica*. São Paulo: Sarvier; 2012
12. Godinho F, Magnin M, Frot M, Perchet C, Garcia-Larrea L. Emotional modulation of pain: is it the sensation or what we recall? *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2006;26(44):11454-61.
13. Hinrichs-Rocker A, Schulz K, Jarvinen 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(7):719-30.
14. Ibrahim S (2014) Trigeminal neuralgia: diagnostic criteria, clinical aspects and treatment outcomes. A retrospective study. *Gerodontology* 31(2):89–94
15. Jensen MP, Mardekian J, Lakshminarayanan M, Boye ME. Validity of 24-h recall ratings of pain severity: biasing effects of "Peak" and "End" pain. *Pain*. 2008;137(2):422-7.
16. Keefe FJ, Lefebvre JC, Egert JR, Affleck G, Sullivan MJ, Caldwell DS. The relationship of gender to pain, pain behavior, and disability in osteoarthritis patients: the role of catastrophizing. *Pain*. 2000;87(3):325-34.
17. KIM, S. H. Skin biopsy findings: implications for the pathophysiology of fibromyalgia. *Med. Hypotheses*, v. 69, n. 1. p. 141-144, 2007
18. Laste G, Caumo W, Adachi LN, Rozisky JR, de Macedo IC, Filho PR, et al. After-effects of consecutive sessions of transcranial direct current stimulation (tDCS) in a rat model of chronic inflammation. *Experimental brain research*. 2012;221(1):75-83.
19. Liebetanz D, Koch R, Mayenfels S, König F, Paulus W, Nitsche MA. Safety limits of cathodal transcranial direct current stimulation in rats. *Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*. 2009;120(6):1161-7.
20. Nitsche MA, Cohen LG, Wassermann EM, Priori A, Lang N, Antal A, et al. Transcranial direct current stimulation: State of the art 2008. *Brain stimulation*. 2008;1(3):206-23.
21. Nitsche MA, Liebetanz D, Lang N, Antal A, Tergau F, Paulus W. Safety criteria for transcranial direct current stimulation (tDCS) in humans. *Clinical neurophysiology*

- : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology. 2003;114(11):2220-2; author reply 2-3.
22. Nitsche MA, Paulus W. Sustained excitability elevations induced by transcranial DC motor cortex stimulation in humans. *Neurology*. 2001;57(10):1899-901.
 23. Quevedo AS, Coghill RC. Attentional modulation of spatial integration of pain: evidence for dynamic spatial tuning. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2007;27(43):11635-40.
 24. Rocha RG, Tortamano N, Adde CA, Simone JL, Perez FEG. O controle da dor em odontologia através da terapêutica medicamentosa. In: *Anais do 15º Conclave Odontológico Internacional da Campinas*; 2003; São Paulo. Campinas: Associação dos Cirurgiões Dentistas de Campinas; 2003.
 25. Sessle BJ. Neurophysiology of orofacial pain. *Dental clinics of North America*. 1987;31(4):595-613.
 26. Sessle BJ, Lavigne GJ, Lund JP, Dubner R. *Dor Orofacial*. 2 ed 2010. 249 p.
 27. Stagg CJ, Nitsche MA. Physiological basis of transcranial direct current stimulation. *The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry*. 2011;17(1):37-53.
 28. Stanos, S. P.; Tyburski, M. D.; Harden, R. N. Management of Chronic pain. In: BRADDOM, R. L. (Eds.) *Physical Medicine & Rehabilitation*. Philadelphia: WB Saunders; p. 951-988, 2007
 29. Tabas I, Glass CK. Anti-inflammatory therapy in chronic disease: challenges and opportunities. *Science*. 2013; 339(6116): 166-172
 30. Teixeira MJ. Dor por avulsão de raízes nervosas. *Rev. Méd.*, v. **78**, n. 2, p. 197-200, 1999.
 31. Tracey I, Ploghaus A, Gati JS, Clare S, Smith S, Menon RS, et al. Imaging attentional modulation of pain in the periaqueductal gray in humans. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2002;22(7):2748-52.
 32. Zaghi S, Heine N, Fregni F. Brain stimulation for the treatment of pain: A review of costs, clinical effects, and mechanisms of treatment for three different central neuromodulatory approaches. *Journal of pain management*. 2009;2(3):339-52.

LEGENDAS DAS FIGURAS

- Figura 1** DESENHO EXPERIMENTAL: a Figura 1 exhibe como o experimento foi realizado. No dia 0 foram realizados os testeis basais. No Dia 1 (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..... 24
- Figura 2** ADAPTAÇÃO À CONTENÇÃO: a figura 2 mostra o procedimento de adaptação à contenção dos animais, realizado durante 20min/dia, durante 7 dias a fim de minimizar os efeitos do estresse causado pela imobilização..... 25
- Figura 3** ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA POR CORRENTE CONTÍNUA (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 no córtex motor primário e foram fixados com uma fita Micropore para evitar o deslocamento dos mesmos..... 26
- Figura 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..... 27
- Figura 5** TESTE NOCICEPTIVO DA PLACA QUENTE: A figura 5 retrata a

realização do teste da placa quente em um dos animais. O cilindro de acrílico impedia a fuga dos animais. A placa foi mantida em torne de 51°C e o tempo até o animal “retirar” as patas, ou “sapatear” foi registrado em segundos como latência à dor..... 28

Figura 6 SENSIBILIDADE TÉRMICA APÓS ETCC: A figura 6 traz o gráfico dos resultados do experimento. O resultado do tratamento com ETCC mostra-se significativo após 60 minutos da realização do mesmo..... 29

FIGURA 1

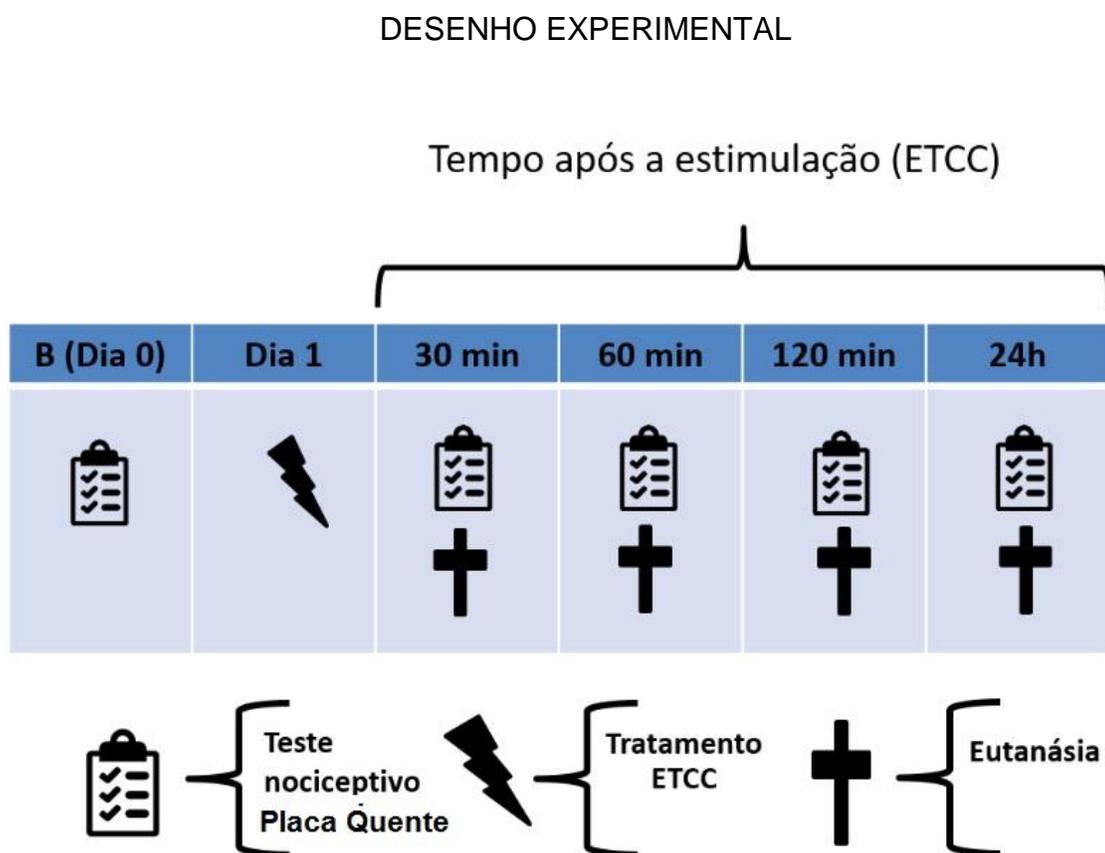


FIGURA 2**ADAPTAÇÃO À CONTENÇÃO**

FIGURA 3

ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA POR CORRENTE CONTÍNUA (ETCC)



FIGURA 4

FALSA ESTIMULAÇÃO (Sham-ETCC)

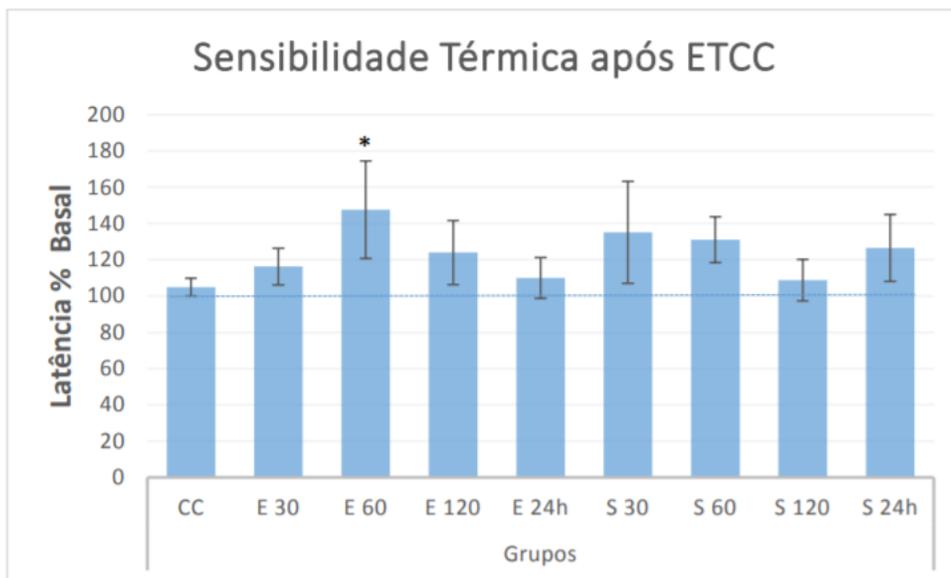


FIGURA 5

TESTE NOCICEPTIVO DA PLACA QUENTE



FIGURA 6



3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A ETCC vem ganhando evidência na experimentação científica como uma ferramenta promissora para modulação de diversas funções cerebrais. Sua popularidade cresceu na última década, o que pode ser observado a partir da pesquisa da palavra “ETCC” no PubMed, gerando um retorno de 1500 artigos publicados entre 2011 e 2015, enquanto apenas 65 foram publicados entre 2000 e 2005 (NITSCHKE; PAULUS, 2001; THAIR et al., 2017).

O tratamento da dor na clínica médica e odontológica; dando ênfase para as práticas cirúrgicas onde danos teciduais são inerentes aos procedimentos; é considerado um desafio, apesar de ser uma prioridade. As dores agudas provenientes de cirurgias comumente são tratadas através de abordagens farmacológicas, entretanto, alguns estudos mostram a possibilidade de cronificação dessas dores, o que sugere uma falha na oportunidade de se realizar alguma intervenção precoce que pudesse evitar esse tipo de progressão (COGHILL; MCHAFFIE; YEN, 2003; MERSKEY; BOGDUCK, 1994; BALIKI et al., 2012; MANSOUR et al., 2013). É nesse contexto que o estudo dos efeitos da ETCC sobre dor se insere, como a possibilidade de uma prática não invasiva e alternativa às abordagens farmacológicas. Os resultados do presente estudo, mostram uma diminuição da sensibilidade dolorosa 60 minutos após a aplicação do tratamento com ETCC, que poderia ser considerada como uma prática clínica pré cirúrgica, para potencializar a analgesia pós cirúrgica.

Vários autores vêm investigando a ação da ETCC em regiões corticais relacionadas à percepção da dor (FREGNI et al., 2006b; MENDONÇA et al., 2011). Modelos animais e humanos trazem resultados promissores quanto a ação da ETCC, mostrando aumento da latência a dor após a aplicação da corrente. No trabalho de Scarabelot (2015) os resultados encontrados demonstram aumento na latência à dor em ratos com hiperalgesia térmica iniciando imediatamente após o tratamento com ETCC e perdurando por 24h. Um outro estudo demonstra uma modulação direta da nocicepção de pacientes saudáveis, aumentando os limites dolorosos após a aplicação de duas sessões de ETCC anodal (MARIANO et al., 2016). Apesar dos resultados existentes na literatura, os mecanismos de ação da ETCC ainda não estão esclarecidos, e os estudos

em animais possibilitam uma investigação mais aprofundada da atividade cerebral e bioquímica desta modalidade de tratamento. Este trabalho faz parte de um projeto guarda-chuva, onde posteriormente serão realizados testes bioquímicos nos tecidos dos animais, coletados após a eutanásia, podendo esclarecer melhor os resultados encontrados.

Algumas limitações puderam ser identificadas durante a execução deste projeto. Uma delas foi a translacionalidade do estudo, que tem se mostrado um problema nas metodologias que utilizam animais. Alguns estudos demonstram que a contenção utilizada para a aplicação da ETCC em animais, pode causar estresse agudo, que poderia influenciar nos resultados. Outros estudos que não utilizam essa metodologia, realizam cirurgias para fixação dos eletrodos e possibilitar a livre movimentação dos animais, entretanto, é uma prática invasiva que também pode ter efeito sobre os resultados. Uma alternativa para essa situação, foi encontrada num estudo sobre a hiperalgesia induzida por morfina em camundongos, onde eles habituaram os animais com a restrição de movimentos, semelhante ao realizado neste estudo, fazendo com que eles entrassem em um restritor de movimentos cilíndrico onde ficariam imobilizados sem a necessidade de contenção com bandagens (BALI; JAGGI, 2015; JACKSON et al., 2017; ELHABAZI et al., 2014).

Apesar das dificuldades encontradas no percurso, este trabalho propôs uma metodologia nova para avaliar os efeitos da ETCC sobre o comportamento nociceptivo térmico em animais. Os resultados obtidos demonstraram um efeito protetivo em relação à dor térmica 60 minutos após o tratamento realizado. Como discutido anteriormente, este achado sugere uma relação promissora da ETCC com a prevenção da instalação de quadros dolorosos pós cirúrgicos, por exemplo. Essa hipótese vai de encontro com a premissa da Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP), que definiu o ano de 2017 como o Ano Global Contra a Dor Pós Cirúrgica. Os primeiros passos foram dados, entretanto, mais estudos ainda devem ser realizados para a consolidação da ETCC como uma abordagem clínica para o tratamento da dor.

REFERÊNCIAS

- ADACHI, L. N. S. et al. Evaluation of different procedure involved in the Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS) technique experimental application. **Clin Biomed Res.**, v. 37, n. 2, p. 9, 2017.
- APFELBAUM, J. L. et al. Postoperative pain experience: results from a national survey suggest postoperative pain continues to be undermanaged. **Anesth Analg**, v. 97, n. 2, p. 534-40, Aug 2003.
- BALI, A.; JAGGI, A. S. Preclinical experimental stress studies: protocols, assessment and comparison. **Eur J Pharmacol**, v. 746, p. 282-92, Jan. 2015.
- BALIKI, M. N. et al. Corticostriatal functional connectivity predicts transition to chronic back pain. **Nat Neurosci**, v. 15, n. 8, p. 1117-9, Jul. 2012.
- BENHAMOU, D. et al. Postoperative analgesic therapy observational survey (PATHOS): a practice pattern study in 7 central/southern European countries. **Pain**, v. 136, n. 1-2, p. 134-41, May 2008.
- BORCKARDT, J. J. et al. Transcranial direct current stimulation (tDCS) reduces postsurgical opioid consumption in total knee arthroplasty (TKA). **Clin J Pain**, v. 29, n. 11, p. 925-8, Nov. 2013.
- BRUGUEROLLE, B.; LABRECQUE, G. Rhythmic pattern in pain and their chronotherapy. **Adv Drug Deliv Rev**, v. 59, n. 9-10, p. 883-95, Aug. 2007. >.
- DAHL, J. B.; KEHLET, H. [Treatment of postoperative pain--a status report]. **Ugeskr Laeger**, v. 168, n. 20, p. 1986-8, May 2006.
- ELHABAZI, K. et al. Assessment of morphine-induced hyperalgesia and analgesic tolerance in mice using thermal and mechanical nociceptive modalities. **J Vis Exp**, n. 89, p. e51264, July 2014.
- FREGNI, F. et al. A sham-controlled, phase II trial of transcranial direct current stimulation for the treatment of central pain in traumatic spinal cord injury. **Pain**, v. 122, n. 1-2, p. 197-209, May 2006.
- FREGNI, F. et al. A randomized, sham-controlled, proof of principle study of transcranial direct current stimulation for the treatment of pain in fibromyalgia. **Arthritis Rheum**, v. 54, n. 12, p. 3988-98, Dec. 2006.

- GERBERSHAGEN, H. J. et al. Preoperative pain as a risk factor for chronic post-surgical pain - six month follow-up after radical prostatectomy. **Eur J Pain**, v. 13, n. 10, p. 1054-61, Nov. 2009.
- GODINHO, F. et al. Emotional modulation of pain: is it the sensation or what we recall? **J Neurosci**, v. 26, n. 44, p. 11454-61, Nov. 2006.
- HINRICHS-ROCKER, A. et al. Psychosocial predictors and correlates for chronic post-surgical pain (CPSP) - a systematic review. **Eur J Pain**, v. 13, n. 7, p. 719-30, Aug. 2009.
- JACKSON, M. P. et al. Safety parameter considerations of anodal transcranial Direct Current Stimulation in rats. **Brain Behav Immun**, v. 64, p. 152-161, Aug. 2017.
- JENSEN, M. P. et al. Validity of 24-h recall ratings of pain severity: biasing effects of "Peak" and "End" pain. **Pain**, v. 137, n. 2, p. 422-7, July 2008.
- KEEFE, F. J. et al. The relationship of gender to pain, pain behavior, and disability in osteoarthritis patients: the role of catastrophizing. **Pain**, v. 87, n. 3, p. 325-34, Sept. 2000.
- KRAYCHETE, D. C. et al. [Postoperative persistent chronic pain: what do we know about prevention, risk factors, and treatment]. **Rev Bras Anesthesiol**, v. 66, n. 5, p. 505-12, Sept./Oct. 2016.
- LASTE, G. et al. After-effects of consecutive sessions of transcranial direct current stimulation (tDCS) in a rat model of chronic inflammation. **Exp Brain Res**, v. 221, n. 1, p. 75-83, Aug. 2012.
- MANSOUR, A. R. et al. Brain white matter structural properties predict transition to chronic pain. **Pain**, v. 154, n. 10, p. 2160-8, Oct. 2013.
- MARIANO, T. Y. et al. Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS) Targeting Left Dorsolateral Prefrontal Cortex Modulates Task-Induced Acute Pain in Healthy Volunteers. **Pain Med**, v. 17, n. 4, p. 737-45, Apr. 2016.
- MENDONCA, M. E. et al. Transcranial DC stimulation in fibromyalgia: optimized cortical target supported by high-resolution computational models. **J Pain**, v. 12, n. 5, p. 610-7, May 2011.
- MERSKEY, H.; BOGDUK, N. **Classification of chronic pain**: description of chronic pain syndromes and definitions of pain terms. 2. Ed. Seattle: IASP Press, 1994.
- NITSCHKE, M. A. et al. Transcranial direct current stimulation: State of the art 2008. **Brain Stimul**, v. 1, n. 3, p. 206-23, July 2008.

NITSCHKE, M. A. et al. Safety criteria for transcranial direct current stimulation (tDCS) in humans. **Clin Neurophysiol**, v. 114, n. 11, p. 2220-2202; Nov. 2003.

NITSCHKE, M. A.; PAULUS, W. Sustained excitability elevations induced by transcranial DC motor cortex stimulation in humans. **Neurology**, v. 57, n. 10, p. 1899-901, Nov. 27 2001.

PLOW, E. B.; PASCUAL-LEONE, A.; MACHADO, A. Brain stimulation in the treatment of chronic neuropathic and non-cancerous pain. **J Pain**, v. 13, n. 5, p. 411-24, May 2012.

QUEVEDO, A. S.; COGHILL, R. C. Attentional modulation of spatial integration of pain: evidence for dynamic spatial tuning. **J Neurosci**, v. 27, n. 43, p. 11635-40, Oct. 2007.

ROCHA, A. P. et al. Pain: current aspects on peripheral and central sensitization. **Rev Bras Anesthesiol**, v. 57, n. 1, p. 94-105, Feb. 2007.

ROSEN, A. C. et al. Noninvasive transcranial brain stimulation and pain. **Curr Pain Headache Rep**, v. 13, n. 1, p. 12-7, Feb. 2009.

SANTOS, M. dos. **Desempenho em tarefas de nomeação em afásicos após estimulação cerebral não invasiva**. 2012. 138p. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) – Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, São Paulo, 2012.

SCARABELOT, V. L. **Abordagens farmacológicas e não farmacológicas em modelo de dor crônica orofacial: avaliações comportamentais e neuroquímicas**. 2015. 106 p. Tese (Doutorado em Fisiologia) – Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

SESSLE, B. J. et al. **Dor Orofacial: da ciência básica à conduta clínica**. 2. ed. São Paulo: Quintessence, 2010. 249 p.

SIMANSKI, C. J. et al. Incidence of chronic postsurgical pain (CPSP) after general surgery. **Pain Med**, v. 15, n. 7, p. 1222-9, July 2014.

STAGG, C. J.; NITSCHKE, M. A. Physiological basis of transcranial direct current stimulation. **Neuroscientist**, v. 17, n. 1, p. 37-53, Feb. 2011.

THAIR, H. et al. Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS): A Beginner's Guide for Design and Implementation. **Front Neurosci**, v. 11, p. 641, 2017.

TRACEY, I. et al. Imaging attentional modulation of pain in the periaqueductal gray in humans. **J Neurosci**, v. 22, n. 7, p. 2748-52, Apr. 2002.

VERMELIS, J. M. et al. Prevalence and predictors of chronic pain after labor and delivery. **Curr Opin Anaesthesiol**, v. 23, n. 3, p. 295-9, June 2010.

YUNG, P. S. et al. Carpal tunnel release with a limited palmar incision: clinical results and pillar pain at 18 months follow-up. **Hand Surg**, v. 10, n. 1, p. 29-35, July 2005.

ZAGHI, S.; HEINE, N.; FREGNI, F. Brain stimulation for the treatment of pain: a review of costs, clinical effects, and mechanisms of treatment for three different central neuromodulatory approaches. **J Pain Manag**, v. 2, n. 3, p. 339-352, Aug. 2009.