

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

CECÍLIA LAÍS DE SOUZA ALMAGRO

QUANTIFICAÇÃO DOS NÍVEIS DE BETA-ENDORFINA SÉRICA EM RATOS
NÄIVE SUBMETIDOS A SESSÃO ÚNICA DE ESTIMULAÇÃO
TRANSCRANIANA POR CORRENTE CONTÍNUA BIMODAL

Porto Alegre

2022

CECÍLIA LAÍS DE SOUZA ALMAGRO

QUANTIFICAÇÃO DOS NÍVEIS DE BETA-ENDORFINA SÉRICA EM RATOS
NÃO SUBMETIDOS A SESSÃO ÚNICA DE ESTIMULAÇÃO
TRANSCRANIANA POR CORRENTE CONTÍNUA BIMODAL

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso 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

2022

CIP - Catalogação na Publicação

Almagro, Cecília Lais de Souza
Quantificação dos níveis de beta-endorfina sérica
em ratos naïve submetidos a sessão única de
estimulação transcraniana por corrente contínua
bimodal / Cecília Lais de Souza Almagro. -- 2022.
29 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, 2022.

1. Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua.
2. beta-endorfina. 3. experimentação animal. I. de
Quevedo, Alexandre Silva, orient. II. Título.

CECÍLIA LAÍS DE SOUZA ALMAGRO

QUANTIFICAÇÃO DOS NÍVEIS DE BETA-ENDORFINA SÉRICA EM RATOS
NÃO SUBMETIDOS A SESSÃO ÚNICA DE ESTIMULAÇÃO
TRANSCRANIANA POR CORRENTE CONTÍNUA BIMODAL

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

Porto Alegre, 30 de setembro de 2022.

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Etiane Micheli Meyer Callai

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Luciana Santa Catarina

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Alexandre Silva de Quevedo

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

AGRADECIMENTOS

Sempre, em primeiro lugar, agradeço a minha família. Meu pai, dentista por profissão e sempre me mostrando que é possível ser feliz fazendo o que gosta. Minha mãe, mostrando pelo exemplo, a independência de construir seu próprio caminho. Meu irmão, pela parceria e cumplicidade. Ao João, pelos chás, apoios, consolos e tanto carinho. Ao Aquiles, por ser quem ele é.

Aos amigos, que são a família que a gente escolhe: às Migas do Alvin (Julie, Natacha, Bruna e Tiyomi) que me aguentaram enquanto aguentavam seus próprios perrengues. Aos colegas e amigos de faculdade, com que compartilho comemorações e momentos de nervoso e ansiedade. Em especial à Bruna Borges, por ter me ajudado tanto com conversas, cafés e conselhos.

Agradeço ao meu professor orientador, Alexandre Silva de Quevedo, por ter me mostrado que existe um caminho na odontologia, por ter me acolhido em seu grupo de pesquisa, e ter me aberto portas que eu não imaginava existirem. Serei sempre grata pela confiança em mim depositada, e que eu não desvie desse caminho. Agradeço à Etiane pela amizade, exemplo e parceria para rolês e pesquisas. Por ter me pego pela mão e me ensinado, com tanta paciência, coisas da vida e da academia. Agradeço também à professora Deise Ponzoni, por ter me acolhido e me ensinado tanto através do exemplo e diligência, de uma maneira que me marcou muito e que tento levar para a vida.

Agradeço ao Grupo de Estudos em Neurociências, à Liga Acadêmica de Interprofissionalidade em Saúde, aos professores e funcionários da Faculdade Odontologia, à Universidade Federal do Rio Grande do Sul pela acolhida, e aos programas de fomento à pesquisa, pela e possibilidade de realizar este trabalho.

RESUMO

A Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua (ETCC) tem mostrado resultados promissores em diferentes condições neurológicas, incluindo a dor. Dados prévios deste grupo indicam que uma única exposição à ETCC bimodal foi capaz de aumentar o limiar nociceptivo mecânico e térmico por até 60 minutos em ratos *naïve*. Os mecanismos responsáveis por tais alterações comportamentais podem ser entendidos por meio de análises bioquímicas. Um dos possíveis sistemas relacionados ao efeito analgésico observado é o sistema opiáceo endógeno. Sabe-se que este sistema se relaciona com respostas comportamentais de analgesia e tem rápida ativação. Entre os diferentes neurotransmissores, a beta-endorfina tem papel de destaque. Desta forma, o presente trabalho tem por objetivo quantificar os níveis séricos de beta-endorfina em ratos *naïve* expostos a sessão única de ETCC bimodal. Este é um trabalho de reaproveitamento de material biológico (projeto 16-0408). Foram utilizadas amostras de soro de 72 ratos *Wistar*, machos, divididos em 9 grupos experimentais: CONTROLE, ETCC30, ETCC60, ETCC120, ETCC24, SHAM ETCC30, SHAM ETCC60, SHAM ETCC120 e SHAM ETCC24. Os animais receberam ETCC bimodal sobre córtex motor primário (M1) por 20 minutos e foram eutanasiados dentro do período previsto para cada grupo (30, 60, 120 minutos e 24 horas). Os grupos *Sham* ETCC receberam estimulação falsa, onde os animais passaram pelos mesmos procedimentos, mas com os eletrodos desligados. O soro foi coletado e armazenado a -80°C . A dosagem de beta-endorfina foi realizada por *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). A análise estatística foi feita por ANOVA de duas vias e de uma via, seguidas de teste LSD de Fisher ($P < 0,05$). Os resultados deste trabalho serão importantes na elucidação dos mecanismos de modulação do processamento nociceptivo pela ETCC.

Palavras-chave: Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua, beta-endorfina, Experimentação Animal.

ABSTRACT

Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS) has shown promising results in different neurological conditions, including pain. Previous data from this group indicate that a single exposure to bimodal tDCS was able to increase the mechanical and thermal nociceptive threshold for up to 60 minutes in naïve rats. The mechanisms responsible for such behavioural changes can be understood through biochemical analyses. One of the possible systems related to the observed analgesic effect is the endogenous opioid system. It is known that this system is related to behavioural analgesia responses and has rapid activation. Among the different neurotransmitters, beta-endorphin has a prominent role. Thus, the present work aims to quantify the serum levels of beta-endorphin in naïve rats exposed to a single session of bimodal tDCS. This is a work on the reuse of biological material (project 16-0408). Serum samples from 72 male Wistar rats were divided into 9 experimental groups: CONTROL, tDCS30, tDCS60, tDCS120, tDCS24, SHAM tDCS30, SHAM tDCS60, SHAM tDCS120 and SHAM ttc24. The animals received bimodal tDCS over the primary motor cortex (M1) for 20 minutes and were euthanized within the period provided for each group (30, 60, 120 minutes and 24 hours). The Sham tDCS groups received sham stimulation, where the animals underwent the same procedures, but with the electrodes turned off. Serum was collected and stored at -80°C. Beta-endorphin dosage was performed by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Statistical analysis was performed by two-way and one-way ANOVA, followed by Fisher's LSD test ($P < 0.05$). The results of this work will be important in the elucidation of the mechanisms of nociceptive processing modulation by tDCS.

Keywords: Transcranial Direct Current Stimulation, beta-endorphin, Animal Experimentation

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Desenho experimental	18
Figura 2 – Gráfico de concentração de beta-endorfina por grupo.....	20

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
CREAL	Centro de Reprodução e Experimentação Animal
ELISA	<i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i>
ETCC	Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua
HCPA	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
POMC	Proopiomelanocortina
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Sistema Nervoso Periférico
UEA	Unidade de Experimentação Animal
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
UPL	Unidade de Pesquisa Laboratorial

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	OBJETIVOS	13
2.1	Objetivo geral.....	13
2.2	Objetivo específico	13
3	ARTIGO CIENTÍFICO	14
4	CONCLUSÃO.....	24
	REFERÊNCIAS.....	25

1 INTRODUÇÃO

Dor é uma experiência emocional e sensorial desagradável, associada ou semelhante àquela relacionada a um dano tecidual real ou potencial, segundo a Associação Internacional para o Estudo da Dor. É considerada um sinal vital, e embora tenha um papel adaptativo de manutenção do organismo, sob condições específicas pode ter efeitos adversos no bem estar mental e físico do indivíduo (IASP, 2020). Existem diferentes tipos de dor, e seus mecanismos, efeitos e tratamentos variam. Neste trabalho serão abordadas as dores aguda, neuropática e crônica.

A dor aguda é a resposta fisiológica normal e prevista a um estímulo químico, térmico ou mecânico adverso, associado a cirurgia, trauma e doença aguda (FSMB, 1998; CARR, 1999), sendo o tipo de dor mais comumente vivenciado, com um papel protetivo ao organismo. A dor neuropática é a dor iniciada ou causada por uma lesão primária ou disfunção do sistema nervoso (MAX, 2002; BACKONJA, 2003), o que pode parecer uma definição vaga, mas que explicita questão de estar relacionada ao sistema nervoso e seus componentes. Já a dor crônica é uma condição dolorosa que persiste por mais de três meses (RUSSO, 1998) na presença ou ausência de estímulo doloroso (JACOBSON, 2008). Isso pode ocorrer em decorrência de condições como fibromialgia, dores musculoesqueléticas, enxaquecas, nevralgias e diversas condições (HENDERSON, 2013).

Quando afetado por dor crônica, o paciente perde muita de sua qualidade de vida e autonomia e pode apresentar outros problemas decorrentes do abuso de analgésicos. Isso pode afetar também as pessoas a sua volta e sua participação na força de trabalho, gerando gastos aos sistemas de saúde (PHILLIPS et al., 2008). Com um custo estimado de mais de US\$600 bilhões anualmente, o manejo da dor crônica é dispendioso, difícil, e afeta todas as faixas etárias (SIMON, 2012). São várias as causas para essa condição, e não há um consenso sobre quando uma dor aguda passa ser crônica. Existe a descrição de uma linha com o estímulo nocivo (periférico) no início e a percepção do estímulo doloroso (central) como o ponto final. Presume-se que, o estímulo sendo resolvido, o processo em si é interrompido. Mas no caso da dor crônica, isso se torna um ciclo. (MEYR, 2008). Na existência de tantos mecanismos relacionados à instalação da dor crônica, não é de se surpreender que seu manejo seja complexo para pacientes e profissionais.

O manejo da dor pode ser farmacológico ou não farmacológico. Se tratando de analgesia medicamentosa, existem três possibilidades principais de atuação dos analgésicos:

mediar a atividade de receptores envolvidos no processo nociceptivo, bloquear a transmissão de neurotransmissores e a alteração da percepção da dor a nível cerebral (SCOTT, 2009). A maneira que os analgésicos fazem isso depende do tipo de analgésico. Se tratando de dor crônica, com o passar do tempo a medicação pode vir a ser insuficiente, ajustes de doses tornam-se necessários, e isso pode se repetir (CHABAL, 1997). Sendo assim, o manejo de tipos específicos de dor crônica deve ser feito com cautela, e alternativas às intervenções farmacológicas e cirúrgicas estão sendo estudadas e desenvolvidas.

Vários outros mecanismos podem mediar o controle das situações dolorosas; além da terapia medicamentosa (BAŠIC-KES, 2009; CDC, 2018), existem substâncias endógenas e mecanismos fisiológicos relacionados, como endorfinas e interleucinas, que são produzidas desde o momento em que ocorre a produção do estímulo doloroso (CARVALHO, 2018; HARVEY, 1995). Sua produção ocorre localmente em diversos tipos de células além de por intermédio do sistema imunológico. Atuam de maneira parácrina e endócrina, desencadeando muitas vezes efeitos em cascata (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012).

Entre as vias de analgesia endógena ativadas pelo estímulo doloroso, temos as vias opiáceas. O sistema opioide endógeno envolve a família das encefalinas, dinorfinas e endorfinas. Está presente no Sistema Nervoso Central (SNC), atuando de maneira conjunta a outros sistemas no controle da sintomatologia dolorosa aguda e também em situações de dor crônica (YAKSH, 1987; BASBAUM, 1984). Seus receptores são os *kappa* (κ), *mu* (μ), *delta* (δ) e nociceptina/orfanina, além de vários outros subtipos e fenótipos (WALDHOER, 2004). Esse sistema relaciona-se também com a regulação de atividade respiratória e do sistema cardiovascular, termorregulação, funções de aprendizado e memória, ao bem-estar, relaxamento, e atividade sexual (KONERU, 2009), além de um importante papel na modulação de sistemas de recompensa e reforço.

Analgésicos opioides são amplamente utilizados para tratar diversas condições dolorosas, mas trazem a possibilidade de efeitos adversos por seu uso contínuo. Não apenas podem ocorrer condições como a adição e necessidade crescente da medicação, como também a hiperalgesia opioide (LEE, 2011), onde um paciente que faz uso de analgésicos opioides para controle de dor passa a ser hipersensibilizado para a condição dolorosa. Tudo isso envolve um aumento de gastos para sistemas de saúde, empregadores e paciente, além do risco de overdose, outra consequência do uso de opioides (EDLUND, 2014; BALLANTYNE, 2007). Uma das alternativas para a diminuição do uso desse tipo de fármaco, mas ainda com o efeito de analgesia, seria a indução da produção de opioides

endógenos, ativando as vias opioidérgicas e fazendo o agonismo de seus receptores com substâncias produzidas pelo próprio organismo. Entre esses agonistas, temos como principal a beta-endorfina.

A beta-endorfina é encontrada tanto no sistema nervoso central (SNC) quanto no sistema nervoso periférico (SNP), ligando-se a receptores opioides do tipo *mu*. Nesse mesmo receptor ligam-se os principais analgésicos opioides, e também os mais aditivos (ESCH, 2004) como a morfina, seus derivados e substâncias farmacologicamente similares. É um neuropeptídeo relacionado ao controle da dor, sendo o peptídeo mais importante do sistema opioide endógeno. É sintetizada na glândula pituitária anterior a partir da clivagem de um precursor, a proopiomelanocortina (POMC), em resposta à sinalização do hipotálamo. Essa sinalização ocorre naturalmente durante atividade física, meditação, atividade sexual, e também devido a fatores dolorosos, como a dor pós-operatória (ZALEWSKA-KASZUBSKA, 2018) para ativação das vias opioidérgicas de analgesia.

A fim de causar analgesia, seria possível que a ETCC estimulasse estruturas relacionadas às vias opioidérgicas levando a um aumento na produção de beta-endorfina. O uso de ETCC no pós-operatório, em um estudo prévio, implicou na diminuição da necessidade de opioides para alívio da dor, demonstrando a capacidade da técnica de gerar analgesia (BORCKARDT, 2013).

A Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua (ETCC) é uma técnica de modulação do Sistema Nervoso Central não invasiva, indolor, de baixo custo e com poucos efeitos adversos. Tem sido utilizada como alternativa de tratamento de diversos tipos de dores, como a neuropática (CAHANA, 2007) e outras doenças como depressão (ADACHI, 2012; STAGG, 2011), e seus resultados são positivos. Seus mecanismos de ação para tais resultados ainda não estão totalmente esclarecidos, mas sabe-se que atua alterando o potencial de repouso da membrana neuronal, a depender da polaridade, do tempo de aplicação e intensidade de corrente (BOGGIO, 2008). A corrente anodal despolariza a membrana celular, enquanto a catodal a hiperpolariza (CARVALHO, 2018). É possível ainda obter estimulação ou inibição, dependendo da corrente aplicada (KRAUSE, 2013). Acredita-se que esse efeito sobre a membrana desencadeie a síntese de proteínas e citocinas, levando a efeitos em cascata de modulação de dor (CARVALHO, 2018).

Os mecanismos e totais efeitos da ETCC ainda são desconhecidos, assim como os efeitos imediatos sobre a liberação dos opioides endógenos. Uma maneira de analisar a atividade neuronal resultante da estimulação é pela análise da liberação de

neurotransmissores e hormônios, como a beta-endorfina (DOSSANTOS, 2012). Resultados prévios do grupo de pesquisa (em estudo que originou as amostras biológicas de ratos a serem analisadas pelo presente projeto) têm indicado o potencial analgésico de uma única sessão de ETCC que perduram por intervalo de até uma hora (manuscrito em preparação). Estes dados corroboram estudos anteriores, onde o tratamento foi eficaz em quadros de dor crônica e alívio da dor pós-operatória (CARVALHO, 2018). Os efeitos são observados por alguns minutos após aplicação, mas também por semanas quando a ETCC é utilizada em mais de uma sessão (LASTE, 2012, CIOATO, 2016). Apesar de a ETCC já estar sendo utilizada em humanos (CARVALHO, 2018), testes em animais ainda estão sendo realizados para a compreensão de seus efeitos, a curto e longo prazo (BOGGIO, 2008; FERTONANI, 2010; FREGNI, 2006) e percebe-se uma falta de estudos sobre a técnica em indivíduos saudáveis e em animais sem modelos de dor, como ratos *naïve* (DISSANAYAKA, 2017; SPEZIA ADACHI, 2015; VASEGUI, 2015). Novos estudos podem ajudar a elucidar o comportamento temporal após uma sessão de ETCC ampliando as possibilidades de sua aplicação em determinados pacientes ou situações clínicas e cirúrgicas (FREGNI, 2006; HUNTER, 2013).

Os dados resultantes destas análises poderão colaborar na investigação de mecanismos envolvidos na analgesia induzida pela ETCC, podendo servir de base para futuros estudos e na sua aplicação no controle da dor pós operatória.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar sistematicamente os efeitos da ETCC em ratos *naïve*.

2.2 Objetivo específico

Investigar a variação dos níveis séricos de beta endorfinas ao longo do tempo após uma única sessão de ETCC em ratos *naïve*.

3 ARTIGO CIENTÍFICO

O artigo deste Trabalho de Conclusão de Curso será formatado de acordo com as normas da Revista RESEARCH, SOCIETY AND DEVELOPMENT (Vargem Grande Paulista/SP) para posterior submissão.

**QUANTIFICAÇÃO DOS NÍVEIS DE BETA-ENDORFINA SÉRICA EM RATOS NÃIVE
SUBMETIDOS A SESSÃO ÚNICA DE ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA POR CORRENTE
CONTÍNUA BIMODAL**

QUANTIFICATION OF SERUM BETA-ENDORPHIN LEVELS IN NAÏVE RATS SUBMITTED TO A
SINGLE SESSION OF BIMODAL TRANSCRANIAL DIRECT CURRENT STIMULATION

CUANTIFICACIÓN DE LOS NIVELES DE BETA-ENDORFINA SÉRICA EN RATAS NAÏVE
SOMETIDAS A UNA ÚNICA SESIÓN DE ESTIMULACIÓN TRANSCRANEAL CON CORRIENTE
CONTINUA BIMODAL

Cecília Almagro

<https://orcid.org/0000-0002-1251-4055>

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

clsalmagro@gmail.com

Alexandre Silva de Quevedo

<https://orcid.org/0000-0001-5613-8015>

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

quevedoalexandre@hotmail.com

Resumo

A Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua (ETCC) é uma terapia não invasiva que tem mostrado resultados promissores no tratamento de condições neurológicas, incluindo a dor. Os mecanismos responsáveis por essas alterações estão sendo estudados e, potencialmente, incluem o sistema opioide endógeno. Ratos Wistar machos (n=72) foram divididos em 9 grupos experimentais de acordo com o tratamento executado: ETCC (E), Sham-ETCC (S) e controle (controle). Os animais foram submetidos a uma única sessão de ETCC bimodal, e foram eutanasiados após o tratamento em diferentes tempos: 30 minutos (E30 ou S30), 60 minutos (E 60 ou S60), 120 minutos (E120 ou S120), ou 24 horas (E24 ou S24). O soro coletado foi analisado para quantificação dos níveis de beta-endorfina sérica por *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA). A análise estatística dos dados foi feita por ANOVA de duas vias e de uma via, seguidas do teste LSD de Fisher ($p < 0,05$). Foi observado um aumento significativo de beta-endorfina no grupo E60 quando comparado aos grupos controle e E30. As diferenças são significativas quando comparamos os grupos de ETCC com os grupos *sham* e controle. Os grupos *sham* e controle não apresentaram diferenças significativas para nenhum dos tempos analisados. Com isso, a ETCC demonstrou ser eficaz na ativação de sistemas inibitórios. Isso abre possibilidades de futuras pesquisas sobre a origem dessa liberação endógena.

Palavras-chave: Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua, beta-endorfina, Experimentação Animal.

Summary

Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS) is a non-invasive therapy that has shown promising results in the treatment of neurological conditions, including pain. The mechanisms responsible for these changes are being studied and, potentially, include the endogenous opioid system. Male Wistar rats (n=72) were divided into 9 experimental groups according to the treatment performed: tDCS (E), Sham-tDCS (S) and control (control). The animals underwent a single session of bimodal tDCS, and were euthanized after treatment at different times: 30

minutes (E30 or S30), 60 minutes (E 60 or S60), 120 minutes (E120 or S120), or 24 hours (E24 or S24). Collected serum was analysed to quantify serum beta-endorphin levels by Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA). Statistical analysis of data was performed by two-way and one-way ANOVA, followed by Fisher's LSD test ($p < 0.05$). A significant increase in beta-endorphin was observed in the E60 group when compared to the control and E30 groups. The differences are significant when comparing the tDCS groups with the sham and control groups. The sham and control groups did not show significant differences for any of the analysed times. Thus, tDCS proved to be effective in activating inhibitory systems. This opens possibilities for future research on the origin of this endogenous release.

Keywords: Transcranial Direct Current Stimulation, beta-endorphin, Animal Experimentation.

Resumen

La Estimulación Transcraneal de Corriente Continua (ETCC) es una terapia no invasiva que ha mostrado resultados prometedores en el tratamiento de afecciones neurológicas, incluido el dolor. Se están estudiando los mecanismos responsables de estos cambios y, potencialmente, incluyen el sistema opioide endógeno. Ratas Wistar macho ($n=72$) se dividieron en 9 grupos experimentales según el tratamiento realizado: ETCC (E), Sham-tDCS (S) y control (control). Los animales se sometieron a una única sesión de ETCC bimodal y fueron sacrificados después del tratamiento en diferentes momentos: 30 minutos (E30 o S30), 60 minutos (E 60 o S60), 120 minutos (E120 o S120) o 24 horas (E24 o S24). El suero recolectado se analizó para cuantificar los niveles de beta-endorfina sérica mediante *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA). El análisis estadístico de los datos se realizó mediante ANOVA unidireccional y bidireccional, seguido de la prueba LSD de Fisher ($p < 0,05$). Se observó un aumento significativo de beta-endorfina en el grupo E60 en comparación con los grupos de control y E30. Las diferencias son significativas cuando se comparan los grupos ETCC con los grupos simulado y de control. Los grupos simulado y control no mostraron diferencias significativas para ninguno de los tiempos analizados. Por lo tanto, ETCC demostró ser eficaz en la activación de sistemas inhibidores. Esto abre posibilidades para futuras investigaciones sobre el origen de esta liberación endógena.

Palabras clave: Estimulación transcraneal de corriente continua, beta-endorfina, Experimentación con animales.

1. Introdução

A Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua (ETCC) é uma técnica de modulação do Sistema Nervoso Central não invasiva, indolor, de baixo custo e com poucos efeitos adversos. Tem sido utilizada como alternativa de tratamento de diversos tipos de dores, como a neuropática (Cahana, 2007) e outras doenças como depressão (Adachi, 2012; Stagg, 2011), e seus resultados são positivos. Seus mecanismos de ação para tais resultados ainda não estão totalmente esclarecidos, mas sabe-se que atua alterando o potencial de repouso da membrana neuronal, a depender da polaridade, do tempo de aplicação e intensidade de corrente (Boggio, 2008). A corrente anodal despolariza a membrana celular, enquanto a catodal a hiperpolariza (Carvalho, 2018). É possível ainda obter estimulação ou inibição, dependendo da corrente aplicada (Krause, 2013). Acredita-se que esse efeito sobre a membrana desencadeie a síntese de proteínas e citocinas, levando a efeitos em cascata de modulação de dor (Carvalho, 2018).

O uso da ETCC em humanos ainda é pequeno, e os testes em animais ainda estão sendo realizados para a compreensão de seus efeitos, a curto e longo prazo (Boggio, 2008; Fertonani, 2010; Fregni, 2006). Os efeitos são

observados por alguns minutos após aplicação, mas também por semanas quando a ETCC é utilizada em mais de uma sessão (Laste, 2012; Cioato, 2016). Apesar de a ETCC já estar sendo utilizada em humanos (Carvalho, 2018), percebe-se uma falta de estudos sobre a técnica em indivíduos saudáveis e em animais sem modelos de dor, como ratos *naïve* (Dissanayaka, 2017; Spezia Adachi, 2015; Vasegui, 2015).

Vários outros mecanismos podem mediar o controle das situações dolorosas; além da terapia medicamentosa (Bašić-Kes, 2009; CDC, 2018), existem substâncias endógenas e mecanismos fisiológicos relacionados, como endorfinas e interleucinas, que são sintetizadas desde o momento em que ocorre a produção do estímulo doloroso (Carvalho, 2018; Harvey, 1995). Sua síntese ocorre localmente em diversos tipos de células, além de por intermédio do sistema imunológico. Atuam de maneira parácrina e endócrina, desencadeando muitas vezes efeitos em cascata (Brasil, 2012).

A beta-endorfina é um neuropeptídeo relacionado ao controle da dor, sendo o peptídeo mais importante do sistema opioide endógeno, que envolve também a família das encefalinas e dinorfinas. Relaciona-se com a regulação de atividade respiratória e do sistema cardiovascular, termorregulação, funções de aprendizado e memória, ao bem-estar, relaxamento, e atividade sexual (Koneru, 2009). Tem um importante papel na modulação de sistemas de recompensa e reforço, relacionando-se também à capacidade de causar dependência, comum a substâncias que se ligam a receptores opioides (Esch, 2004). A beta-endorfina é encontrada tanto no sistema nervoso central (SNC) quanto no sistema nervoso periférico (SNP), ligando-se a receptores opioides do tipo mu. É sintetizada na hipófise anterior a partir da clivagem de um precursor, a proopiomelanocortina (POMC), em resposta à sinalização do hipotálamo. Essa sinalização ocorre em resposta a fatores como a dor pós-operatória (Zalewska-Kaszubska, 2018).

O uso de ETCC no pós-operatório, em um estudo prévio, implicou na diminuição da necessidade de opioides para alívio da dor, demonstrando capacidade de gerar analgesia (Borckardt, 2013). Os mecanismos e totais efeitos da ETCC ainda são parcialmente desconhecidos, mas uma maneira de analisar a atividade neuronal resultante é pela liberação de neurotransmissores, como a beta-endorfina (Dos Santos, 2012). No entanto, os efeitos imediatos da ETCC sobre a liberação destes opioides endógenos são pouco conhecidos. Novos estudos podem ajudar a elucidar o comportamento temporal após uma sessão de ETCC ampliando as possibilidades de sua aplicação em determinados pacientes ou situações clínicas e cirúrgicas (Fregni, 2006; Hunter, 2013).

Resultados prévios do grupo de pesquisa (Callai, 2022) têm indicado o potencial analgésico de uma única sessão de ETCC que perduram por intervalo de até uma hora. Estes dados corroboram estudos anteriores, onde o tratamento foi eficaz em quadros de dor crônica e alívio da dor pós-operatória (Carvalho, 2018). Desta forma, este trabalho testou a hipótese que uma única sessão de ETCC é capaz de induzir efeitos bioquímicos através da liberação de beta-endorfinas na corrente sanguínea. Dados resultantes deste trabalho poderão colaborar na investigação de mecanismos envolvidos na analgesia induzida pela ETCC, podendo servir de base para futuros estudos.

2. Metodologia

Este é um trabalho de aproveitamento de material biológico (soro armazenado imediatamente em freezer - 80°C) proveniente do Projeto de Pesquisa número 16-0408, aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) em 14 de outubro de 2016.

2.1 Animais

Foram utilizadas amostras de soro coletadas de 72 ratos Wistar machos, com 55 a 65 dias de idade (aproximadamente 250g de peso) no início dos experimentos. 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 mantidos na Unidade de Experimentação Animal (UEA) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) em caixas-moradia de polipropileno (49x34x17,8cm) forradas com serragem, em ciclo claro-escuro de 12h em temperatura ambiente ($22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) e com livre acesso à água e ração. Os alojamentos e condições de permanência seguem a Resolução Normativa nº15 do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

Para a divisão dos animais entre os 9 grupos, foram distribuídos 10 animais por grupo experimental, e 8 desses animais tiveram suas amostras para análise bioquímica. Os grupos experimentais foram: controle (C), ETCC 30min (E30), ETCC 60min (E60), ETCC 120min (E120), ETCC 24h (E24), *sham* ETCC 30min (S30), *sham* ETCC 60min (S60), *sham* ETCC 120min (S120), *sham* ETCC 24h (S24).

Foi feita uma única sessão de ETCC bimodal sobre o córtex motor primário. Os animais foram eutanasiados de acordo com os grupos: 30, 60, 120 min ou 24h após a aplicação de ETCC. Para os grupos *sham*, foi feita a manipulação dos animais e eles permaneceram imobilizados pelos mesmos períodos de tempo estipulados, mas com os eletrodos desligados (sem estimulação).

2.2 Desenho experimental

O desenho experimental da figura 1 mostra as intervenções feitas nos animais, prévias à coleta do soro e outros materiais biológicos.

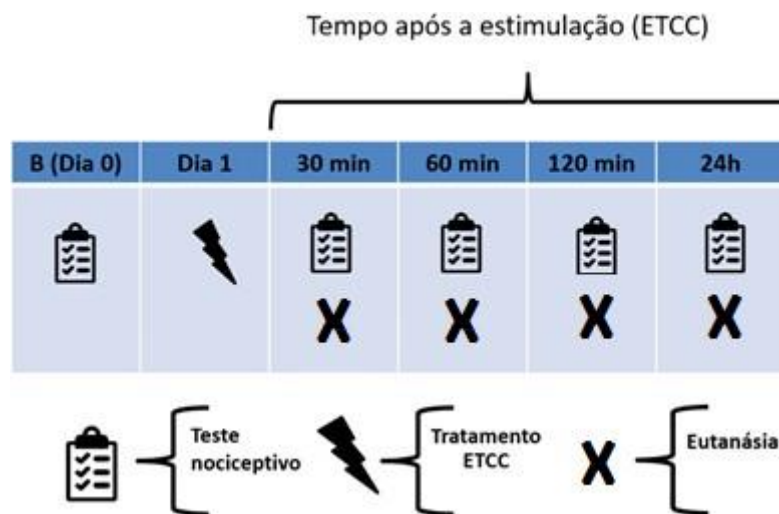


Figura 1: Desenho experimental. Testes comportamentais (von Frey e placa quente) foram realizados no “dia zero” para aferições basais. Uma semana após, foi realizado o tratamento com ETCC (dia 1) e de acordo com os grupos, foram realizados os testes comportamentais pós-tratamento e eutanásia nos tempos estabelecidos. **B**= testes comportamentais (basal).

Foram feitos os testes comportamentais von Frey e placa quente para averiguar se os animais possuíam alguma condição de dor prévia e normalizar as respostas aos estímulos nociceptivos. Animais que por algum motivo respondessem com hiperalgesia em algum desses testes seria descartado.

2.3 Amostras

Após as eutanásias, o sangue foi coletado em um tubo Falcon estéril, que passou pelo processo de centrifugação 5000 rpm durante 5 minutos, coletando o soro com o auxílio de uma pipeta automática. As amostras foram armazenadas em freezer -80°C na Unidade de Pesquisa Laboratorial (UPL) do HCPA. Não houve perda de amostras durante o processamento.

2.4 Análise bioquímica

Foi feita a análise do soro pela técnica de *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA) do tipo competitivo. O local da análise foi a UPL-HCPA. O kit utilizado foi Fine Test Rat β -EP (Beta-Endorphin) (Wuhan Fine Biotech Co., Ltd.). Foram seguidas todas as recomendações do fabricante durante a execução do experimento. Os dados coletados da leitura da placa foram analisados no software MyAssays (© MyAssays Ltd 2021).

2.5 Análise estatística

Durante a análise dos dados brutos foi observado que alguns pontos estavam com uma grande concentração, e não conseguiram ser corretamente analisados, ficando fora da curva. Para as análises estatísticas, esses pontos foram desconsiderados. No total foram 7 pontos descartados, distribuídos entre os grupos: C (1), E120 (2), E30 (1), E60 (1) e S120 (1).

Os resultados estão apresentados como média \pm desvio padrão e a diferença de $p < 0.05$ foi considerada estatisticamente significativa. Os animais foram randomicamente divididos em diferentes grupos para análise bioquímica ($n = 6 - 8/\text{grupo}$).

Primeiramente, a normalidade de distribuição dos dados foi verificada usando o teste de Kolmogorov-Smirnov. Para analisar os níveis séricos dos ratos, valores absolutos foram utilizados. Para a avaliação do efeito do tratamento e tempo (entre o final da sessão de ETCC e a eutanásia do animal) o teste de ANOVA de duas vias seguida pelo *post hoc* LSD de Fisher foi utilizado. A comparação entre diferentes grupos experimentais foi realizada pela ANOVA de uma via seguida, igualmente, pelo *post hoc* LSD de Fisher.

Para a análise estatística foi utilizado o software SPSS (© IBM 2022).

3. Resultados

A ANOVA de duas vias foi utilizada para avaliar os efeitos do tempo e tratamento sobre os níveis de beta-endorfinas séricas de ratos *naïve* após uma única aplicação de ETCC. Foi observado o efeito do tempo ($F_{(3,60)}=2,802$; $p=0,049$) e tratamento ($F_{(1,60)}=5,042$; $p=0,029$), no entanto não houve interação entre elas ($F_{(3,60)}=0,684$; $p=0,566$). Na figura 2 podemos observar o gráfico das quantidades de beta-endorfina, em pg/ml por grupo analisado. O grupo E60 destaca-se dos demais pela maior quantidade de beta-endorfina quando comparado aos demais grupos.

A fator tempo mostrou variabilidade ao longo do experimento. O nível de beta-endorfina do grupo controle foi considerado como tempo zero na comparação com os demais grupos pós-tratamento. Em 60 minutos após o procedimento houve aumento dos níveis de beta-endorfinas comparados ao controle ($F_{(3,60)}=2,802$; $p=0,012$) e 30 minutos ($F_{(3,60)}=2,802$; $p=0,017$). Ainda, houve uma forte tendência a aumento da beta-endorfina em 60 minutos quando comparados a 120 minutos ($F_{(3,60)}=2,802$; $p=0,059$) e 24 horas ($F_{(3,60)}=2,802$; $p=0,062$). Não houve diferenças significativas entre o tempo zero e 30 ($F_{(3,60)}=2,802$; $p=0,547$), 120 ($F_{(3,60)}=2,802$; $p=0,292$) minutos, e 24 horas ($F_{(3,60)}=2,802$; $p=0,268$).

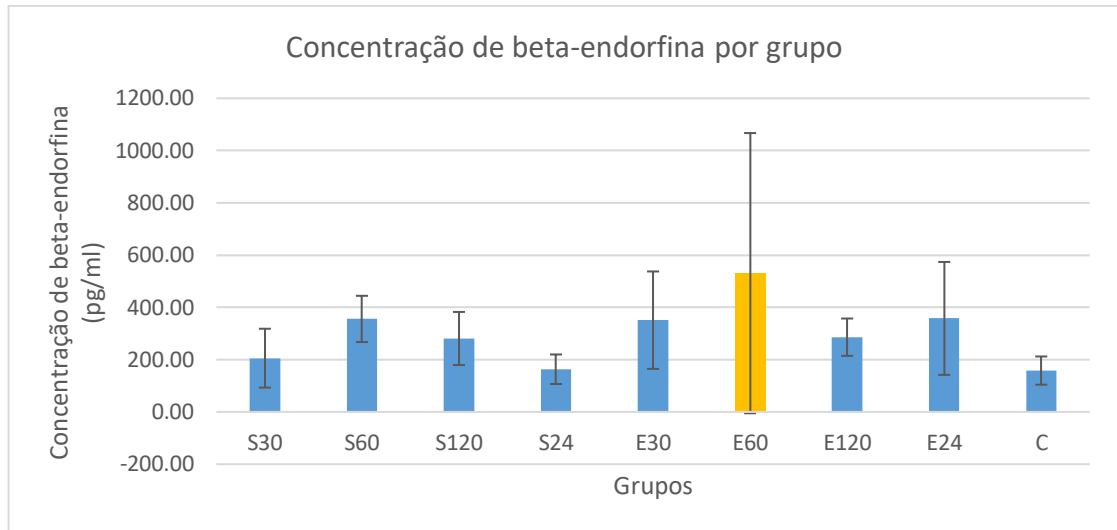


Figura 2: Gráfico de concentrações de beta-endorfina por grupo. O grupo ETCC apresentou aumento estatisticamente significativo nos níveis séricos após 60min, e está demarcado em amarelo. C = Controle, S30 = sham ETCC 30 minutos, S60 = sham ETCC 60 minutos, S120 = sham ETCC 120 minutos, S24 = sham ETCC 24 horas, E30 = ETCC 30 minutos, E60 = ETCC 60 minutos, E120 = ETCC 120 minutos, E24 = ETCC 24 horas.

Ao analisar o efeito do tratamento foi visto que os grupos que receberam ETCC real apresentaram aumento nos níveis de beta-endorfina comparados aos animais do grupo controle ($F_{(1,60)}=5,042$; $p=0.036$) ou aos que receberam o Sham-ETCC ($F_{(1,60)}=5,042$; $p=0.036$). Não houve diferenças entre os animais que receberam o falso tratamento e o grupo controle ($F_{(1,60)}=5,042$; $p=0.406$).

Houve diferenças entre os grupos estudados ($F_{(8,59)}=2,150$; $p=0.048$). Os animais que receberam ETCC real apresentaram maiores níveis de beta-endorfinas em 60 minutos comparados aos do grupo controle (E60 vs. C; $F_{(8,59)}=2,150$; $p=0.002$), e aos que receberam em 30 (E60 vs. E30; $F_{(8,59)}=2,150$; $p=0.030$), 120 (E60 vs. E120; $F_{(8,59)}=2,150$; $p=0.024$) minutos, e houve tendência em 24 horas (E60 vs. E24; $F_{(8,59)}=2,150$; $p=0.056$). Da mesma forma, este grupo apresentou maiores níveis de beta-endorfinas quando comparado aos grupo Sham-ETCC em 30 (E60 vs. S30; $F_{(8,59)}=2,150$; $p=0.002$), 60 (E60 vs. S60; $F_{(8,59)}=2,150$; $p=0.044$), 120 (E60 vs. S120; $F_{(8,59)}=2,150$; $p=0.018$) minutos, e 24 horas (E60 vs. S24; $F_{(8,59)}=2,150$; $p=0.003$).

4. Discussão

Os resultados obtidos mostram um pico de beta-endorfina sérica após 60 minutos nos animais estimulados. Os animais que sofreram falsa estimulação (*sham*) e os animais do grupo controle não tiveram aumentos nos níveis de beta-endorfina. Essas comparações mostram os efeitos da ETCC e o tempo necessário para que surjam o que corrobora resultados encontrados por outros autores. Cioato (2016) observou aumento no limiar de dor de ratos no modelo de dor neuropática, submetidos a sessões de tratamento de ETCC. Esse aumento durou de 24 horas a até 7 dias, o que mostra que a ETCC não apenas tem efeitos imediatos, mas também de longa duração quando utilizada em protocolo de tratamento. Com relação à beta-endorfina especificamente, Yamamoto (2000) observou um aumento de beta-endorfina em fluido cefalorraquidiano em 60 minutos após a indução por ingestão de alimentos. Outras vias de indução de beta-endorfina, como o exercício físico, trazem o aumento dos níveis em diferentes tecidos, e

novamente no tempo de 60 minutos (Goldfarb, 1997). Para futuras análises nos níveis de beta-endorfina pode-se considerar o tempo de 60 minutos como o principal momento a ser observado.

Ainda assim, não é possível inferir que a estimulação seja a causa direta no aumento das beta-endorfinas. Outros autores (Spezia Adachi, 2015; Dimov, 2016) já hipotetizaram a ETCC como uma forma de estimulação de vias descendentes da dor. Essas vias seriam então desinibidas, e neurotransmissores relacionados seriam liberados. Sendo assim, o efeito da ETCC seria considerado indireto sobre as beta-endorfinas, mesmo com a estimulação direta sobre o córtex. Presumidamente a estimulação elétrica ativaria as vias opioidérgicas e estimularia um aumento na liberação de beta-endorfinas. Essa seria uma das possíveis alternativas para explicar o funcionamento de uma sessão de ETCC em indivíduos saudáveis. Estudos prévios deste grupo de pesquisa (Callai, 2022) já mostraram que uma única sessão de ETCC é capaz de alterar limiares de dor, modular respostas inflamatórias e fazer ativação astrocitária, e isso em ratos *naïve*. Essa alteração nos limiares de dor não foi relacionada aos mecanismos opiáceos, já que o estudo não avaliou os níveis periféricos de beta-endorfina. Isso mostra que outros mecanismos podem estar associados aos efeitos analgésicos da ETCC. A maioria dos estudos sobre a técnica trabalha com modelos de dor ou doenças neurodegenerativas (Marques Filho, 2016; Winkler, 2017), e essas condições podem alterar parâmetros bioquímicos observados. Estudos em ratos *naïve*, sem esses modelos, são necessários para melhor entendimento dos mecanismos estimulados pela ETCC.

Atualmente, existem diferentes protocolos de aplicação de ETCC, com efeitos que ainda estão sendo estudados (Pinto, 2018). Mesmo havendo melhoras significativas com os protocolos utilizados, é possível que a eficiência do uso da ETCC possa ser aumentada com ajustes e adaptações do protocolo a depender da condição médica. Para que essas alterações sejam possíveis, seria importante um melhor entendimento dos efeitos da ETCC. Nesse sentido, a aplicação de ETCC em indivíduos saudáveis e estudos em modelo animal pode ajudar na elucidação desses efeitos, sem alterações dos resultados por condições de doença. É importante salientar que os benefícios da ETCC ainda estão presentes, e que seu uso continua sendo válido como alternativa de tratamento para diversas condições. Novos estudos podem ajudar no entendimento das vias ativadas e tornar mais eficiente a sua aplicação.

5. Referências

- Adachi, L. N. S., Caumo, W., Laste, G., Medeiros, L. F., Rozisky, J. R., de Souza, A., ... & Torres, I. L. (2012). Reversal of chronic stress-induced pain by transcranial direct current stimulation (tDCS) in an animal model. *Brain research*, 1489, 17-26.
- Bašić-Kes, V., Zavoreo, I., Bosnar-Puretić, M., Ivanković, M., Bitunjac, M., Govori, V., Demarin, V. (2009) Neuropathic pain. *Acta Clin Croat. Sep*;48(3):359-65.
- Bikson, M., Grossman, P., Thomas, C., Zannou, A. L., Jiang, J., Adnan, T., ... & Woods, A. J. (2016). Safety of transcranial direct current stimulation: evidence based update 2016. *Brain stimulation*, 9(5), 641-661.
- Boggio, P. S., Rigonatti, S. P., Ribeiro, R. B., Myczkowski, M. L., Nitsche, M. A., Pascual-Leone, A., & Fregni, F. (2008). A randomized, double-blind clinical trial on the efficacy of cortical direct current stimulation for the treatment of major depression. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 11(2), 249-254.

- Borckardt, J. J., Reeves, S. T., Robinson, S. M., May, J. T., Epperson, T. I., Gunesman, R. J., ... George, M. S. (2013). Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS) Reduces Postsurgical Opioid Consumption in Total Knee Arthroplasty (TKA). *The Clinical Journal of Pain*, 29(11), 925–928.
- Cahana A. Pain and philosophy of the mind. *Pain Clinical Updates*. 2007; Vol.XV, no.5.
- Callai, E., Zin, L., Catarina, L. S., Ponzoni, D., Gonçalves, C., Vizuete, A., Cougo, M. C., Boff, J., Puricelli, E., Fernandes, E. K., da Silva Torres, I. L., & Quevedo, A. S. (2022). Evaluation of the immediate effects of a single transcranial direct current stimulation session on astrocyte activation, inflammatory response, and pain threshold in naïve rats. *Behavioural brain research*, 428, 113880.
- Carvalho, F., Brietzke, A. P., Gasparin, A., Dos Santos, F. P., Vercelino, R., Ballester, R. F., ... & Caumo, W. (2018). Home-based transcranial direct current stimulation device development: an updated protocol used at home in healthy subjects and fibromyalgia patients. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (137), e57614.
- Centers of Disease Control and Prevention. National Vital Statistics System, Mortality. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services (2018). Prescription opioid overdose data 2016-2017. <https://wonder.cdc.gov/>
- Cioato, S. G., Medeiros, L. F., Marques Filho, P. R., Vercelino, R., de Souza, A., Scarabelot, V. L., ... & Torres, I. L. (2016). Long-lasting effect of transcranial direct current stimulation in the reversal of hyperalgesia and cytokine alterations induced by the neuropathic pain model. *Brain stimulation*, 9(2), 209-217.
- Dimov, L. F., Franciosi, A. C., Campos, A. C. P., Brunoni, A. R., & Pagano, R. L. (2016). Top-down effect of direct current stimulation on the nociceptive response of rats. *PLoS One*, 11(4), e0153506.
- Dissanayaka, T., Zoghi, M., Farrell, M., Egan, G. F., & Jaberzadeh, S. (2017) Does transcranial electrical stimulation enhance corticospinal excitability of the motor cortex in healthy individuals? A systematic review and meta-analysis. *European Journal of Neuroscience*, 46(4), 1968–1990.
- Dos Santos, M. F., Love, T. M., Martikainen, I. K., Nascimento, T. D., Fregni, F., Cummiford, C., ... DaSilva, A. F. M. (2012). Immediate Effects of tDCS on the μ -Opioid System of a Chronic Pain Patient. *Frontiers in Psychiatry*, 3.
- Esch, T., & Stefano, G. B. (2004). The neurobiology of pleasure, reward processes, addiction and their health implications. *Neuroendocrinology letters*, 25(4), 235-251.
- Fertonani, A., Rosini, S., Cotelli, M., Rossini, P. M., & Miniussi, C. (2010). Naming facilitation induced by transcranial direct current stimulation. *Behavioural Brain Research*, 208(2), 311–318.
- Fregni, F., Thome-Souza, S., Nitsche, M. A., Freedman, S. D., Valente, K. D., & Pascual-Leone, A. (2006). A controlled clinical trial of cathodal DC polarization in patients with refractory epilepsy. *Epilepsia*, 47(2), 335-342.
- Goldfarb, A. H., & Jamurtas, A. Z. (1997). β -Endorphin response to exercise. *Sports medicine*, 24(1), 8-16.
- Harvey, A. M. (1995) Classification of Chronic Pain—Descriptions of Chronic Pain Syndromes and Definitions of Pain Terms. *The Clinical Journal of Pain*, 11(2), 163.
- Hunter, M. A., Coffman, B. A., Trumbo, M. C., & Clark, V. P. (2013). Tracking the neuroplastic changes associated with transcranial direct current stimulation: a push for multimodal imaging. *Frontiers in human neuroscience*, 7, 495.
- Koneru, A., Satyanarayana, S., Rizwan, S. (2009) Endogenous Opioids: Their Physiological Role and Receptors. *Global J Pharmacol* 3: 149-53.

- Krause, B., Márquez-Ruiz, J., & Kadosh, R. C. (2013). The effect of transcranial direct current stimulation: a role for cortical excitation/inhibition balance?. *Frontiers in human neuroscience*, 7, 602.
- Laste, G., Caumo, W., Adachi, L. N. S., Rozisky, J. R., de Macedo, I. C., Partata, W. A., ... & Torres, I. L. (2012). After-effects of consecutive sessions of transcranial direct current stimulation (tDCS) in a rat model of chronic inflammation. *Experimental brain research*, 221(1), 75-83.
- Lopez-Calderon, A., Ariznavarreta, C., & Chen, C.-L. C. (1991). Influence of chronic restraint stress on proopiomelanocortin mRNA and β -endorphin in the rat hypothalamus. *Journal of Molecular Endocrinology*, 7(3), 197–204.
- Marques Filho, P. R., Vercelino, R., Cioato, S. G., Medeiros, L. F., de Oliveira, C., Scarabelot, V. L., ... & Torres, I. L. (2016). Transcranial direct current stimulation (tDCS) reverts behavioral alterations and brainstem BDNF level increase induced by neuropathic pain model: long-lasting effect. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 64, 44-51.
- Moffa, A. H., Brunoni, A. R., Nikolín, S., & Loo, C. K. (2018). Transcranial direct current stimulation in psychiatric disorders: a comprehensive review. *Psychiatric Clinics*, 41(3), 447-463.
- Pinto, C. B., Teixeira Costa, B., Duarte, D., & Fregni, F. (2018). Transcranial Direct Current Stimulation as a Therapeutic Tool for Chronic Pain. *The journal of ECT*, 34(3), e36–e50.
- Spezia Adachi, L. N., Quevedo, A. S., de Souza, A., Scarabelot, V. L., Rozisky, J. R., de Oliveira, C., ... Torres, I. L. S. (2015) Exogenously induced brain activation regulates neuronal activity by top-down modulation: conceptualized model for electrical brain stimulation. *Experimental Brain Research*, 233(5), 1377–1389.
- Stagg, C. J., & Nitsche, M. A. (2011). Physiological basis of transcranial direct current stimulation. *The Neuroscientist*, 17(1), 37-53.
- da União, D. O. MINISTÉRIO DA SAÚDE SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE PORTARIA SAS/MS Nº 1.083, DE 2 DE OUTUBRO DE 2012.
- Vaseghi, B., Zoghi, M., & Jaberzadeh, S. (2015) A Meta-Analysis of Site-Specific Effects of Cathodal Transcranial Direct Current Stimulation on Sensory Perception and Pain. *PLOS ONE*, 10(5), e0123873.
- Winkler, C., Reis, J., Hoffmann, N., Gellner, A. K., Münkler, C., Curado, M. R., ... & Fritsch, B. (2017). Anodal transcranial direct current stimulation enhances survival and integration of dopaminergic cell transplants in a rat Parkinson model. *eneuro*, 4(5).
- Yamamoto, T., Sako, N., & Maeda, S. (2000). Effects of taste stimulation on β -endorphin levels in rat cerebrospinal fluid and plasma. *Physiology & behavior*, 69(3), 345-350.
- Zalewska-Kaszubska, J. (2018). Beta-endorphin peptide and some selected psychiatric disorders. *Journal of Psychiatry Studies*, 1(1).

4 CONCLUSÃO

A Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua, conhecida como ETCC, é uma alternativa indolor e não cirúrgica para tratamento de dor crônica, neuropática, depressão, entre outras situações onde o manejo farmacológico pode vir a ser insuficiente. A ETCC é também responsável por aliviar sintomatologia dolorosa aguda, de forma que sua aplicação na prática clínica odontológica se torna uma possibilidade.

O equipamento em si é pequeno, acessível e de fácil manuseio. Como demonstrado neste trabalho, uma única sessão de ETCC bimodal é capaz de resultar em um aumento dos níveis séricos de beta-endorfina em ratos, e conseqüentemente numa analgesia endógena. Diversos estudos já comprovam sua funcionalidade em seres humanos. Com mais estudos em indivíduos sadios e com a melhor compreensão de seus mecanismos, seria possível desenvolver protocolos de tratamento para o pré, trans e pós operatório de situações clínicas, como exodontias complexas, permitindo que o paciente tenha alívio de sua sintomatologia de maneira duradoura, eficiente, sem gastos com medicamentos, sem o risco de adição pelo uso de opioides, e com poucos efeitos adversos.

Que novas pesquisas na área da dor tragam novas possibilidades clínicas e benefícios para profissionais e pacientes.

REFERÊNCIAS

- ADACHI, Lauren Naomi Spezia et al. Reversal of chronic stress-induced pain by transcranial direct current stimulation (tDCS) in an animal model. *Brain research*, v. 1489, p. 17-26, 2012.
- BACKONJA, Misha-Miroslav. Defining neuropathic pain. *Anesthesia & Analgesia*, v. 97, n. 3, p. 785-790, 2003.
- BALLANTYNE, Jane C.; LAFORGE, K. Steven. Opioid dependence and addiction during opioid treatment of chronic pain. *Pain*, v. 129, n. 3, p. 235-255, 2007.
- BASBAUM, Allan I.; FIELDS, Howard L. Endogenous pain control systems: brainstem spinal pathways and endorphin circuitry. *Annual review of neuroscience*, v. 7, n. 1, p. 309-338, 1984.
- BAŠIĆ-KES, Vanja et al. Neuropathic pain. *Acta Clinica Croatica*, v. 48, n. 3, p. 359-365, 2009.
- BORCKARDT, Jeffrey J. et al. Transcranial direct current stimulation (tDCS) reduces postsurgical opioid consumption in total knee arthroplasty (TKA). *The Clinical journal of pain*, v. 29, n. 11, p. 925-928, 2013.
- BOGGIO, Paulo S. et al. A randomized, double-blind clinical trial on the efficacy of cortical direct current stimulation for the treatment of major depression. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, v. 11, n. 2, p. 249-254, 2008.
- CAHANA, Alex. Pain and philosophy of the mind. *Pain Clinical Updates*, v. XV, n. 5, 2007.
- CARR, Daniel B.; GOUDAS, Leonidas C. Acute pain. *The Lancet*, v. 353, n. 9169, p. 2051-2058, 1999.
- CARVALHO, Fabiana et al. Home-based transcranial direct current stimulation device development: an updated protocol used at home in healthy subjects and fibromyalgia patients. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, n. 137, p. e57614, 2018.

CENTERS of Disease Control and Prevention. 2016-2017 Prescription Opioid Overdose Data. Department of Health and Human Services, 2018. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/drugoverdose/deaths/prescription/2016-2017.html>>. Acesso em: 14 de ago. de 2022.

CHABAL, Charles et al. Prescription opiate abuse in chronic pain patients: clinical criteria, incidence, and predictors. *The Clinical journal of pain*, v. 13, n. 2, p. 150-155, 1997.

CIOATO, Stefania Giotti 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*, v. 9, n. 2, p. 209-217, 2016.

DA UNIÃO, Diário Oficial. MINISTÉRIO DA SAÚDE SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE PORTARIA SAS/MS Nº 1.083, DE 2 DE OUTUBRO DE 2012.

DISSANAYAKA, Thusharika et al. Does transcranial electrical stimulation enhance corticospinal excitability of the motor cortex in healthy individuals? A systematic review and meta-analysis. *European Journal of Neuroscience*, v. 46, n. 4, p. 1968-1990, 2017.

DOSSANTOS, Marcos Fabio et al. Immediate effects of tDCS on the μ -opioid system of a chronic pain patient. *Frontiers in psychiatry*, v. 3, p. 93, 2012.

EDLUND, Mark J. et al. The role of opioid prescription in incident opioid abuse and dependence among individuals with chronic non-cancer pain: the role of opioid prescription. *The Clinical journal of pain*, v. 30, n. 7, p. 557, 2014.

ESCH, Tobias; STEFANO, George B. The neurobiology of pleasure, reward processes, addiction and their health implications. *Neuroendocrinology letters*, v. 25, n. 4, p. 235-251, 2004.

FEDERATION OF STATE MEDICAL BOARDS OF THE UNITED STATES, INC. Model guidelines for the use of controlled substances for the treatment of pain. Federal State Medical Boards of the United States, 1998.

FERTONANI, Anna et al. Naming facilitation induced by transcranial direct current stimulation. *Behavioural brain research*, v. 208, n. 2, p. 311-318, 2010.

FREGNI, Felipe et al. A controlled clinical trial of cathodal DC polarization in patients with refractory epilepsy. *Epilepsia*, v. 47, n. 2, p. 335-342, 2006.

HARVEY, Alan M. Classification of chronic pain—descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms. *The Clinical Journal of Pain*, v. 11, n. 2, p. 163, 1995.

HENDERSON, Joan V. et al. Prevalence, causes, severity, impact, and management of chronic pain in Australian general practice patients. *Pain Medicine*, v. 14, n. 9, p. 1346-1361, 2013.

HUNTER, Michael A. et al. Tracking the neuroplastic changes associated with transcranial direct current stimulation: a push for multimodal imaging. *Frontiers in human neuroscience*, v. 7, p. 495, 2013.

IASP Announces Revised Definition of Pain. International Association for the Study of Pain, Washington, D.C., 16 de jul de 2020. Disponível em: <<https://www.iasp-pain.org/publications/iasp-news/iasp-announces-revised-definition-of-pain/#:~:text=The%20definition%20is%3A%20%E2%80%9CAn%20unpleasant,pain%20for%20further%20valuable%20context.>> Acesso em: 19/09/2022

JACOBSON, Louis. General consideration of chronic pain. *Bonica's management of pain*, 2001.

KRAUSE, Beatrix; MÁRQUEZ-RUIZ, Javier; KADOSH, Roi Cohen. The effect of transcranial direct current stimulation: a role for cortical excitation/inhibition balance?. *Frontiers in human neuroscience*, v. 7, p. 602, 2013.

KONERU, Anupama; Satyanarayana, Sreemantula; Rizwan, Shaik. Endogenous Opioids: Their Physiological Role and Receptors. *Global J Pharmacol* 3 (3): 149-53, 2009

LASTE, Gabriela et al. After-effects of consecutive sessions of transcranial direct current stimulation (tDCS) in a rat model of chronic inflammation. *Experimental brain research*, v. 221, n. 1, p. 75-83, 2012.

LEE, Marion et al. A comprehensive review of opioid-induced hyperalgesia. *Pain physician*, v. 14, n. 2, p. 145, 2011.

MAX, Mitchell B. Clarifying the definition of neuropathic pain. *Pain*, v. 96, n. 3, p. 406-407, 2002.

MEYR, Andrew J.; SAFFRAN, Barry. The pathophysiology of the chronic pain cycle. *Clinics in Podiatric Medicine and Surgery*, v. 25, n. 3, p. 327-346, 2008.

PHILLIPS, Ceri et al. Prioritising pain in policy making: the need for a whole systems perspective. *Health Policy*, v. 88, n. 2-3, p. 166-175, 2008.

RUSSO, Cathy M.; BROSE, William G. Chronic pain. *Annual review of medicine*, v. 49, p. 123, 1998.

SCOTT, Kirsty. How analgesics work. *Perioperative Pain Management*. Wiley-Blackwell, Oxford, p. 95-107, 2009.

SIMON, Lee S. Relieving pain in America: A blueprint for transforming prevention, care, education, and research. *Journal of pain & palliative care pharmacotherapy*, v. 26, n. 2, p. 197-198, 2012.

SPEZIA ADACHI, Lauren Naomi et al. Exogenously induced brain activation regulates neuronal activity by top-down modulation: conceptualized model for electrical brain stimulation. *Experimental brain research*, v. 233, n. 5, p. 1377-1389, 2015.

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

VASEGHI, Bitá; ZOGHI, Maryam; JABERZADEH, Shapour. A meta-analysis of site-specific effects of cathodal transcranial direct current stimulation on sensory perception and pain. *PloS one*, v. 10, n. 5, p. e0123873, 2015.

WALDHOER, Maria; BARTLETT, Selena E.; WHISTLER, Jennifer L. Opioid receptors. *Annual review of biochemistry*, v. 73, n. 1, p. 953-990, 2004.

YAKSH, Tony L. Opioid receptor systems and the endorphins: a review of their spinal organization. *Journal of neurosurgery*, v. 67, n. 2, p. 157-176, 1987.

ZALEWSKA-KASZUBSKA, J. Beta-endorphin peptide and some selected psychiatric disorders. *Journal of Psychiatry Studies*, v. 1, n. 1, 2018.