

Avaliação da Participação do Receptor 5-HT₃ na Modulação da Analgesia Induzida pela TENS

Evaluation of Receptor 5HT₃ In the Modulation of Analgesia Induced by TENS

*Rafael Rodrigues de Souza¹, Thiago Henrique Ferreira Vasconcellos²,
Thais Cristina Teixeira Gonçalves³, Dulcinéa Gonçalves Teixeira⁴,
Célio Marcos dos Reis Ferreira⁵*

RESUMO

Objetivo. Verificar a participação da via serotoninérgica e do receptor 5HT₃ na modulação da analgesia induzida pela TENS. **Método.** Foram utilizados ratos wistar machos pesando 180 a 200 g, os quais foram pré - tratados com ondansetrona (OND) 3mg/kg e salina fisiológica antes da terapia com a TENS que durou 30 minutos. Logo após o término da estimulação elétrica, os limiares nociceptivos foram avaliados até 60 minutos. **Resultados.** Observamos que a via serotoninérgica e os receptores 5HT₃ participam da modulação da analgesia induzida pela TENS, já que a administração do OND antagonizou a antinocicepção tanto de alta quanto de baixa frequência da TENS (p<0,05). Analisamos também que a TENS de alta proporcionou uma analgesia mais forte e por um tempo maior do que a de baixa. **Conclusão.** Podemos concluir que a via serotoninérgica e os receptores 5HT₃ estão envolvidos na modulação da analgesia induzida pela TENS.

Unitermos. Analgesia, Estimulação Elétrica Nervosa Transcutânea - TENS, Serotoninérgico.

Citação. Souza RR, Vasconcellos THF, Gonçalves TCT, Teixeira DG, Ferreira CMR. Avaliação da Participação do Receptor 5-HT₃ na Modulação da Analgesia Induzida pela TENS.

ABSTRACT

Objective. Verify the participation of the serotonergic pathway and the 5HT₃ receptor in modulation of TENS induced analgesia. **Method.** Male wistar rats were used weighing from 180 to 200g, which were pretreated with ondansetron (OND) 3mg/kg and physiologic saline before the therapy with TENS which lasted 30 minutes. Right after the end of the electric stimulation, the nociceptive thresholds were evaluated up to 60 minutes. **Results.** We observed that the serotonergic pathway and the 5HT₃ receptors take part at the modulation of the TENS induced analgesia, once the OND administration antagonized the antinociception of TENS in both high and low frequency (p<0,05). We also analyzed that high frequency TENS provided a stronger analgesia which also lasted longer than low frequency TENS. **Conclusion.** We can conclude that the serotonergic pathway and the 5HT₃ receptors are involved in the modulation of TENS induced analgesia.

Keywords. Analgesia, Transcutaneous Electric Nerve Stimulation - TENS, Serotonin Agents.

Citation. Souza RR, Vasconcellos THF, Gonçalves TCT, Teixeira DG, Ferreira CMR. Evaluation of Receptor 5HT₃ In the Modulation of Analgesia Induced by TENS.

Trabalho realizado no Laboratório de Neurociências do Centro Universitário de Patos de Minas – UNIPAM, Patos de Minas-MG, Brasil.

1. Farmacêutico, pós-graduando em Fisiologia pela Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM, Uberaba-MG, Brasil.

2. Psicólogo, pós-graduando do Departamento de Psicologia da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte-MG, Brasil.

3. Graduanda em Medicina pelo Centro Universitário de Patos de Minas – UNIPAM – Patos de Minas-MG, Brasil.

4. Farmacêutica, Doutora, Professora e coordenadora do Laboratório de Anatomia Humana do Centro Universitário de Patos de Minas – UNIPAM, Patos de Minas-MG, Brasil.

5. Fisioterapeuta, Doutor, Professor do departamento de Fisioterapia do curso de Fisioterapia da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM, Diamantina-MG, Brasil.

Endereço para correspondência:

Universidade dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM
Departamento de Fisioterapia, Clínica escola de Fisioterapia,
Campus JK - Rodovia MGT 367 – Km 583,
Nº 5000, Bairro Alto da Jacuba,
CEP 39100-000, Diamantina-MG, Brasil.
E-mail: cmdosrf@gmail.com

Original

Recebido em: 22/03/13

Aceito em: 29/10/13

Conflito de interesses: não

INTRODUÇÃO

A Estimulação Elétrica Nervosa Transcutânea (TENS) é um recurso terapêutico utilizado com objetivo de proporcionar a antinocicepção, tendo o seu embasamento científico na teoria das comportas. Sendo essa técnica um método não-farmacológico, amplamente utilizado pelos fisioterapeutas para o tratamento da dor¹.

De acordo com a teoria alguns neurônios teriam a capacidade de suprimir a transmissão do sinal doloroso no corno dorsal da medula, fechando assim um portão hipotético, e inibindo a passagem do impulso doloroso (teoria da comporta)^{2,3}. Os neurônios que fecham o portão incluem as fibras nervosas ascendentes de maior calibre, incitadas por estímulos cutâneos táteis indolores, e o sistema descendente inibitório da dor, constituído por fibras originárias de neurônios da substância cinzenta periaquedutal do mesencéfalo e do núcleo magno da rafe⁴. Essas fibras estimulam as células da lâmina II do corno dorsal da medula (substância gelatinosa), que consistem, principalmente, de interneurônios inibitórios curtos, que se projetam para as lâminas I e V, regulando a transmissão da via nociceptiva⁵. Desta forma, podemos descrever que a TENS utiliza da teoria da comporta, onde a corrente elétrica proporciona uma inibição pré-sináptica de interneurônios no corno dorsal da medula espinal (substância gelatinosa), e pela produção de opioides endógenos por parte do sistema nervoso central⁶. Assim, essa técnica induz efeito analgésico por promover uma estimulação de nervos periféricos, especificamente nas fibras proprioceptivas do tato⁷.

Estudos observaram que a frequência da corrente está intimamente relacionada ao seu mecanismo de ação. A TENS de alta frequência atua no sistema sensorial, ativando o portão modulador da dor no nível da medula espinal, e a de baixa frequência, atua no motor, em razão da liberação de opioides endógenos⁸.

As frequências da TENS mais utilizadas no tratamento da dor aguda e crônica são a de baixa frequência (menor que 10 Hz), e o “burst” que é a modulação de pulso de alta frequência (50 a 160 Hz), aplicada de forma espaçada, com o tempo de aplicação para proporcionar uma antinocicepção de no mínimo 20 minutos⁹.

É sugerido que a TENS poderia estar estimulando

as vias noradrenérgicas e serotoninérgicas para proporcionar a modulação da transmissão dos estímulos nociceptivos. Neste estudo, os autores demonstraram que o subtipo de receptor 5-HT_{2A} espinhais está envolvido na analgesia induzida pela TENS de baixa frequência, mas não na de alta frequência, sugerindo um importante papel do sistema serotoninérgico central em mediar a antinocicepção da TENS¹⁰.

Dados da literatura têm indicado que a serotonina, por meio de ação em diferentes subtipos de receptores, particularmente receptores 5HT₁, 5HT₂ e 5HT₃, podem induzir dor ou analgesia^{11,12}.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi de avaliar a participação da via serotoninérgica e do receptor 5-HT₃ na modulação da analgesia induzida pela TENS de alta e de baixa frequência em ratos *wistar*.

MÉTODO

Os experimentos foram realizados após aprovação do comitê de ética e pesquisa (CEP) do Centro Universitário de Patos de Minas - (UNIPAM), protocolo 27/11.

Animais

Foram utilizados ratos albinos, da linhagem *wistar* (*Rattus norvegicus*) machos, pesando entre 180 e 200g, originários do biotério do Centro Universitário de Patos de Minas – UNIPAM.

Os animais foram divididos em 6 grupos (n=6); o primeiro foi tratado com salina fisiológica (NaCl) à 0,9%, mais o TENS de baixa, o segundo, tratado com salina fisiológica associada com o TENS de alta frequência, o terceiro foi tratado com o fármaco ondansetrona (OND) antagonista para receptores 5HT₃ associado com o TENS de baixa frequência e o quarto recebeu o tratamento farmacológico da OND mais o TENS de alta frequência. Já o quinto grupo foi tratado com salina e sem TENS e o sexto e último grupo - tratado a droga antagonista e sem terapia elétrica (TENS) para fins de avaliação dos efeitos da droga.

Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas (3 animais por gaiola) sob condições ideais de temperatura (22-23°C) e no ciclo claro/escuro 12/12 horas. Durante toda a experimentação, os animais tiveram livre acesso à ração para roedores (Nuvilab®) e água.

Tratamento com droga

Nesse trabalho foi utilizado cloridrato de ondansetrona do laboratório da sigma, dissolvido em salina fisiológica (NaCl) a 0,9 % (SF), que foi igualmente utilizada como controle do veículo das drogas injetadas.

O cloridrato de ondansetrona (OND) foi administrado por via intraperitoneal (I.P.), na dose de 3mg/kg, sendo que o controle recebeu o mesmo volume em salina fisiológica.

Estimulação Elétrica Nervosa Transcutânea

Para indução do estado antinociceptivo, foi utilizado o aparelho TENS quark Vif 993 DUAL com aplicações de baixa (10 Hz) e alta frequências (150 Hz) com intensidade inicial de 15 mA, aumentando a cada 5 minutos (5mA), perfazendo um total de 30 minutos de terapia elétrica. Um par de eletrodos adesivos foi afixado na região distal e proximal da cauda do animal, construído especialmente para a estimulação, com aproximadamente 1 cm² de tamanho.

Teste Nociceptivo

Os animais de cada grupo tiveram seus limiares nociceptivos aferidos, utilizando o teste de retirada de cauda. Cada animal foi colocado em uma cela de contenção com paredes de acrílico, e sua cauda colocada sobre o sensor de uma fonte de calor (*tail-flick - analgesia instrument; stoelting*), cuja elevação progressiva de calorimetria foi automaticamente interrompida, tão logo o animal retirou a cauda do dispositivo. Um pequeno ajuste da intensidade e corrente foi realizado, quando necessário, no início do experimento, com o propósito de se obter três latências de retirada de cauda (LRC), consecutivas entre 2,5s e 3,5s. Caso o animal não removesse a cauda da fonte de calor dentro de 6s, o dispositivo era desligado para prevenir danos teciduais.

Protocolo Experimental

Os animais foram submetidos inicialmente ao teste de retirada de cauda, para obtenção da LRC, 24 horas depois, receberam a administração da droga OND 3mg/Kg ou salina fisiológica por via I.P. sendo os mesmos colocados por 10 minutos novamente na caixa e imediatamente foram tratados com TENS de baixa ou de alta

frequência durante 30 minutos. Ao término da terapia com a TENS, os limiares nociceptivos foram avaliados imediatamente nos tempos 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 minutos.

Os grupos que foram tratados com OND na dose 3mg/kg ou salina fisiológica, porém não participaram da terapia elétrica com TENS, tiveram a LRC analisada 24 horas antes da administração da substância, e após 30 minutos da administração da droga ou da salina fisiológica os limiares foram avaliados no tempo supra citado.

Análises Estatísticas

Os dados obtidos nas avaliações nociceptivas foram submetidos ao teste de análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas no software SPSS versão 15. Em caso de ocorrência de diferença estatisticamente significativa do tratamento *versus* tempo, foram utilizadas as análises de variância de uma via, seguidas pelo teste de Duncan, sendo realizados para cada intervalo de tempo estudado. Aceitou-se um nível de significância de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Os presentes resultados mostraram que a administração de OND a 3mg/kg por via intraperitoneal (I.P.) foi efetiva em antagonizar a analgesia da TENS tanto de alta quanto de baixa frequência ($p < 0,05$).

Desta forma, o fechamento do sistema de comporta desencadeado pela eletroestimulação da TENS de alta frequência associada com salina por via I.P. causou um incremento estatisticamente significativo na latência de retirada de cauda nos tempos de 0 até 60 minutos, sendo essa analgesia antagonizada pela administração OND 3mg/kg por via I.P. (Figura 1).

A análise *Post hoc* mostrou que houve elevação significativa nos limiares nociceptivos registrados no período imediato e permanecendo até 60 minutos após a administração do TENS 150Hz, sendo a mesma antagonizada pela OND [$F(3,20)$ =variando de 13,953 a 58,067; $p < 0,001$] (Figura 1).

Já o grupo tratado com TENS de baixa frequência, mostrou uma elevação dos limiares nociceptivos, proporcionando uma analgesia por um período de 20 minutos sendo ela antagonizada pela administração da ODN a 3mg/kg por via I.P. A análise *Post hoc* mostrou que hou-

ve significância nos período imediato e permanecendo até 20 minutos após a administração da TENS de 10Hz [F(3,20)=variando de 4,541 a 16,985; $p < 0,014$] (Figura 2).

Com objetivo de avaliar o efeito da droga presentemente utilizada sobre o limiar nociceptivo, os animais foram pré-tratados com administrações, por via I.P., de solução fisiológica (NaCl a 0,9%) ou OND, seguindo-se a administração da TENS (off), onde foi observada nenhuma alteração nos limiares nociceptivos, fortalecendo a ideia que a analgesia observada nesse modelo foi desencadeada pela eletroestimulação da TENS (Figura 1 e 2).

DISCUSSÃO

Nossos resultados vão ao encontro da literatura,

onde nos permite sugerir que a via serotoninérgica e os receptores 5HT₃ participam da modulação da antinociceção induzida pela TENS no modelo experimental com o teste de retirada de cauda (TRC).

Este teste (TRC) tem por característica utilizar fibras C amielínicas que fazem sinapse com interneurônios no corno dorsal da medula espinal, produzindo um arco-reflexo multissináptico¹³, o qual pode ser inibido pelo bloqueio da via serotoninérgica descendente por lesão dos núcleos superiores como magno da rafe e iganto celular ou por meio de aplicação da droga antagonista serotoninérgica para o subtipo de receptores 5HT₁, 5HT₂ e 5HT₃.

A serotonina estaria associada com o processamento e modulação da dor, essa sensação pode ser controlada

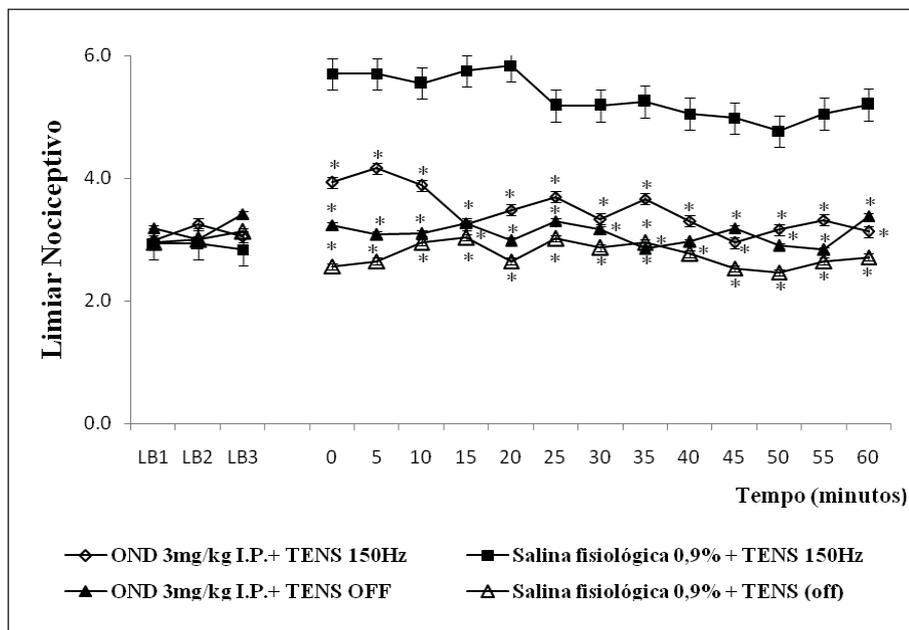


Figura 1. efeito da Ondansetrona (OND) sobre a antinociceção induzida pela TENS de 150Hz.

(*) diferença estatística em relação ao grupo salina fisiológica a 0,9% I.P. + TENS 10Hz.

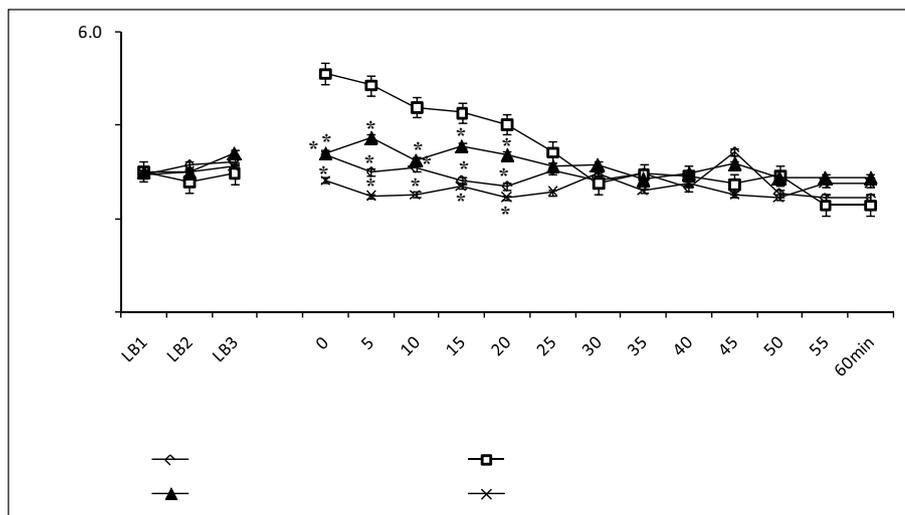


Figura 2. efeito da ondansetrona (OND) sobre a antinociceção induzida pela TENS de 10Hz.

(*) diferença estatística em relação ao grupo salina fisiológica a 0,9% I.P. + TENS 10Hz.

pela liberação da 5-HT em estruturas do tronco cerebral que irá exercer uma ação analgésica^{11,14}.

A 5-HT do plasma e/ou derivada dos tecidos pode ter ação direta nos receptores 5-HT₃, localizados nas fibras aferentes Aδ/C, produzindo nocicepção¹¹. Dessa forma, essa sugestão fortalece os nossos resultados já que a administração de antagonista serotoninérgico (OND) proporcionou uma reversão da analgesia induzida pela TENS.

Observamos também que a analgesia da alta frequência é maior do que a de baixa. Isso pode ser explicado por haver uma maior liberação 5-HT com TENS de alta do que com a de baixa frequência, sendo esses níveis de 5-HT analisados por outros estudos¹.

Essa teoria é baseada na ativação dos receptores específicos, pois a TENS de baixa frequência ativa os receptores opioides do tipo μ (mi 1 e 2) que liberam substâncias analgésicas endógenas promovendo, desta forma, uma analgesia. E, por outro lado, a TENS de alta frequência age por mecanismos diferentes, por meio da ativação de receptores opioides (sigma) na medula espinhal e na região do corno ventromedial^{15,16}.

Sendo assim, os efeitos analgésicos relacionam-se com um mecanismo de “fechamento da entrada” nas colunas dorsais da medula espinhal pode estar associada também com a liberação de opioides endógenos, uma vez utilizando-se um nível de intensidade forte de eletroestimulação, a qual vai induzir a liberação destas substâncias a nível encefálico e medular¹⁷.

CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo demonstraram que a estimulação elétrica nervosa transcutânea nos parâmetros definidos pelo estudo proporcionou uma analgesia a qual foi revertida com o uso de antagonista serotoninérgico (OND). Dessa forma podemos sugerir que a via serotoninérgica e o receptor 5HT₃ participam da modulação da analgesia induzida pela TENS de alta e de baixa frequência.

REFERÊNCIAS

1. Raimundo AKS, Sousa LA, Silveira RF, Cerqueira MCD, Rodrigues J, Dini PD. Dosagem de serotonina sistêmica após aplicação da eletroestimulação nervosa transcutânea (TENS). *Fisioter Mov* 2009;22;365-74.
2. Melzack R, Wall PD. Pain mechanisms: a new theory. *Science* 1965;150:971-9. <http://dx.doi.org/10.1126/science.150.3699.971>
3. Gosling AP. Physical therapy action mechanisms and effects on pain management. *Rev Dor* 2013;1:65-70.
4. Melzack R. From the gate to the neuromatrix. *Pain* 1999;82(Suppl 1):S121-6. [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-3959\(99\)00145-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-3959(99)00145-1)
5. Phillips WJ, Currier BL. Analgesic pharmacology: I. Neurophysiology. *J Am Acad Orthop Surg* 2004;12:213-20.
6. Tribioli RA. Análise crítica atual sobre a tens envolvendo parâmetros de estimulação para o controle da dor [dissertação de mestrado. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, curso de bioengenharia, programa de pós-graduação interinstituições em bioengenharia; 2003, p.1-85.
7. Santuzzi CH, Gonçalves WL, Rocha SS, Castro MEC, Gouvea SA, Abreu GR. Effects of cryotherapy, transcutaneous electrical stimulation and their combination on femoral nerve electrical activity in rats. *Rev Bras Fisioter* 2008;12:441-6. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-35552008005000007>
8. Barbosa GAS, Barbosa KVMS, Badaró FCR, Neves FD, Neto AJ. Recursos fisioterápicos para o tratamento das disfunções temporomandibulares. *J bras de oclusão, atm e dor oromiofacial* 2003;3:257-62.
9. Sluka KA, Walsh D. Transcutaneous electrical nerve stimulation: basic science mechanisms and clinical effectiveness. *J Pain* 2003;4:109-21. <http://dx.doi.org/10.1054/jpai.2003.434>
10. Radhakrishnan R, King EW, Dickman JK, Herold CA, Johnston NF, Spurgin ML, et al. Spinal 5-HT₂ and 5-HT₃ receptors mediate low, but not high, frequency TENS – induced antihyperalgesia in rats. *Pain* 2003;5:205-13. [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-3959\(03\)00207-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-3959(03)00207-0)
11. Sommer C. Serotonin in pain and analgesia: actions in the periphery. *Mol Neurobiol* 2004;30:117-25. <http://dx.doi.org/10.1385/MN:30:2:117>
12. Danneman PJ, Kiritsy-Roy JA, Morrow TJ, Casey KL. Central delay of the laser-activated rat tail-flick reflex. *Pain* 1994;58:39-44. [http://dx.doi.org/10.1016/0304-3959\(94\)90183-X](http://dx.doi.org/10.1016/0304-3959(94)90183-X)
13. Leandri M, Leandri S, Ghignotti M, Cilli M, Lunardi G. The ITFR, impulsive tail flick reflex by short duration nociceptive stimuli. *J Neurosci Methods* 2011;15;1:69-77. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jneumeth.2011.05.003>
14. Millan MJ. Descending control of pain. *Prog Neurobiol* 2002;66:355-474. [http://dx.doi.org/10.1016/S0301-0082\(02\)00009-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0301-0082(02)00009-6)
15. Resende MA, Gonçalves HH, Sabino GS, Pereira LSM, Francischi JN. Redução do efeito analgésico da estimulação elétrica nervosa transcutânea de baixa frequência em ratos tolerantes à morfina. *Rev Bras Fisioter* 2006;10:291-6. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-35552006000300007>
16. Ersek RA. Transcutaneous electrical neurostimulations: a new therapeutic modality for controlling pain. *Clin Orthop Relat Res* 1997;128:314-24.
17. Nizard J, Lefaucheur JP, Helbert M, de Chauvigny E, Nguyen JP. Non-invasive stimulation therapies for the treatment of refractory pain. *Discov Med* 2012;14(74):21-31.