

## ESTUDO EXPERIMENTAL DA AÇÃO ANTINOCICEPTIVA DA ACUPUNTURA E DA RADIAÇÃO LASER NO ACUPONTO E36 (ZUSANLI)

V. Erthal\* ; P. Nohama\* , A.R.S. Santos\*\* , M. Duarte\*\* , M.A. Quimelli\*\*\*

\* PPGTS, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, Brasil.

\*\* PGN, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil.

\*\*\* FIES, Faculdades Integradas Espírita, Curitiba, Brasil.

e-mail: fisiounibem@yahoo.com.br

**Abstract:** In the present study, antinociceptive effects of acupuncture and low-intensity laser were analyzed in chemical models. Mechanical stimulation was carried out with needles, retained during 15 min in St36 acupoint (Zusanli). Photonic stimulation was yielded through 830nm, 30mW AsGaAl laser, during 6 s, also in St36 acupoint. Both stimuli produced a significant inhibition in the writhing induced by 0.6% i.p acetic acid ( $p < 0,005$ ). In the same way, they caused significant inhibition of the neurogenic and inflammatory nociception induced by formalin. These results indicate that mechanical stimulation yielded by traditional acupuncture, as well as by photonic one induced by laser technology, present important antinociceptive activity in rats.

**Palavras-chave:** *nociceção, acupuntura, laser de baixa potência.*

### Introdução

O corpo humano possui inúmeros mecanismos de controle da homeostasia, entre eles a dor exerce uma função importante, pois seu papel fisiológico é alertar sobre possíveis ameaças ao bem estar e a integridade do organismo, e reter a atenção até que a causa de sua ativação tenha sido identificada e afastada [1]. A Associação Internacional do Estudo da Dor define dor como “uma experiência emocional e sensorial desagradável, com danos reais ou potenciais ao tecido” [2]. Desta forma, as sensações possuem vias neuroanatômicas, com receptores específicos que permitem a detecção e medida de um estímulo. O componente sensorial da dor é denominado nociceção, que pode ser definida como a resposta fisiológica a uma lesão tecidual [2]. A qualidade da dor e o início das respostas protetoras são determinados por variados fatores ativados pela medula espinhal e por estruturas cerebrais superiores envolvidas na integração e modificação dos sinais nociceptivos [3]. O alívio da dor constitui um dos objetivos da área de saúde; por isso, é preciso compreender sua dimensão para realização de quaisquer tratamentos [4].

A acupuntura é um procedimento que consiste na inserção de agulhas em regiões específicas do corpo, que possui efeito analgésico, através do sistema de modulação ascendente e descendente da dor e vem se mostrando eficiente no tratamento de doenças [5]. Nesta

técnica, ocorre a estimulação de determinados pontos da pele por meio das agulhas, a uma taxa de 2 a 3 Hz, ativando fibras nervosas, que conduzem os estímulos, provocando uma seqüência de reações fisiológicas [6]. Essas reações liberam substâncias analgésicas (opioides endógenos), que atuam no cérebro e também reforçam o controle da dor [7]. Os opioides  $\beta$ -endorfina, encefalina e a dinorfina são responsáveis por proporcionar um relaxamento mais efetivo, podendo levar a sonolência e alívio de tensões proporcionadas pelo estresse [5]. Os locais de introdução das agulhas foram empiricamente determinados por acupontos: regiões da pele que possuem uma concentração de terminações nervosas sensoriais e propriedades elétricas diversas, como: condutância elevada e menor resistência [8].

Há outras formas de estimulação dos pontos de acupuntura além de agulhas, podendo-se aplicar estimulação elétrica, dígito-pressão e radiação laser de baixa potência [8]. O laser, também conhecido como bio-estimulação não invasiva, é uma alternativa atraente utilizada nos últimos 25 anos, pois consiste em um tratamento rápido e com baixo risco de infecção, e considerada ideal para pacientes com fobia de agulhas. Cabrera, Perón e Afonso (2002) afirmam que o laser de baixa potência usado nos acupontos proporciona uma energia luminosa, capaz de produzir indução fotobiológica, produzindo efeitos bioquímicos e bioelétricos nas células, proporcionando uma terapia anti-inflamatória, antiálgica e regeneradora celular.

Desta maneira, vislumbrou-se como objetivo de pesquisa um estudo experimental em ratos que viesse a comparar a ação antinociceptiva da acupuntura e da radiação laser de baixa potência no acuponto E36 (Zusanli).

### Materiais e Métodos

Trata-se de uma pesquisa experimental provocada, randomizada, do tipo simples cego, aprovada pelo Comitê de Ética em pesquisa no uso de animais da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, sob o registro no CEUA/PUCPR nº 198. Foram utilizados ratos machos da linhagem Wistar, pesando entre 250-350g, procedentes do biotério da Universidade Federal de Santa Catarina, com idade variando entre seis e sete semanas. Os animais permaneceram climatizados, sob ciclo claro e escuro (12h/12h, claro às 7:00 h), com

temperatura controlada ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ) e livre acesso à água e comida. Os ratos foram homogeneamente distribuídos entre os grupos. Os animais foram divididos em seis grupos: (a) controle, correspondendo ao grupo que não recebeu o tratamento com agulhas ou laser; (b) *sham*, o qual recebeu estímulo de laser fora do ponto de acupuntura; (c) laser *off*, que recebeu o estímulo no acuponto com o aparelho desligado; (d) tratamento com agulhas de acupuntura; (e) tratamento com laser de baixa potência; (f) grupo que recebeu ambos os estímulos (agulhas e laser), sendo que nestes três últimos grupos estimulou-se o acuponto E36 (Zusanli), localizado 5 mm lateral e distalmente do tubérculo anterior da tibia. No grupo D, foram utilizadas agulhas de acupuntura 0,25 (diâmetro) x 0,7 (comprimento) mm inseridas no ponto E36 bilateralmente, no tempo de 15 min. No grupo E, os animais foram tratados com laser de baixa potência AsGaAl no ponto E36 bilateralmente, nas seguintes especificações: comprimento de onda 830nm (contínuo), e dosagem de  $3 \text{ J/cm}^2$ , na potência de 10mW e no tempo de 6 s sobre o ponto.

A avaliação antinociceptiva foi realizada pelo modelo de nociceção induzida pelo ácido acético, descrito como um modelo típico de nociceção inflamatória visceral e permite avaliar a atividade antinociceptiva de substâncias que atuam tanto em nível central quanto periférico. A resposta nociceptiva é induzida pela injeção intraperitoneal (i.p.) na quantidade de 10 ml/kg de ácido acético (0,6%) por animal, após a injeção os mesmos foram colocados em caixas de acrílico, para a observação individual e o número de contorções abdominais foram quantificadas cumulativamente, por outro pesquisador, durante o período de 60 min [10]. As contorções abdominais consistem na contração da musculatura abdominal juntamente com a extensão de uma das patas posteriores. A atividade antinociceptiva foi determinada pela inibição do número das contorções abdominais observadas nos animais tratados sistemicamente com acupuntura e com laser.

Outro modelo utilizado foi o de indução por formalina, que permite avaliar dois tipos de nociceção: a de origem neurogênica (estimulação direta das fibras nociceptivas) e a de origem inflamatória (caracterizada pela liberação de mediadores inflamatórios). Os animais receberam um volume de 50  $\mu\text{L}$  de solução de formalina 2,5% diluída em salina, injetado intraplantarmente (i.pl.) na superfície ventral da pata direita do animal, sendo individualmente medido o tempo que os animais permaneceram lambendo ou mordendo a pata, de 0-9 min na fase I (neurogênica), de 10-40 min na fase IIA (inflamatória), e de 41-60 min na fase IIB (inflamatória), após a injeção de formalina [11].

Os resultados são apresentados como média e erro padrão da média (E.P.M.), sendo as médias geométricas acompanhadas de seus respectivos limites de confiança em nível de 95%.

As análises estatísticas entre os grupos experimentais foram realizadas por meio de análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Newman

Keuls. Valores de  $p$  menores que 0,05 ( $p < 0,05$ ) foram considerados como indicativos de significância.

## Resultados

Os resultados apresentados na Figura 1 mostram que o estímulo mecânico e a foto-estimulação no ponto E36 (Zusanli) produziram inibição significativa na redução do número das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético em ratos de: estímulo mecânico no ponto E36:  $58 \pm 12\%$ , estímulo laser  $38 \pm 12\%$  e ambos estímulos  $43 \pm 7\%$ .

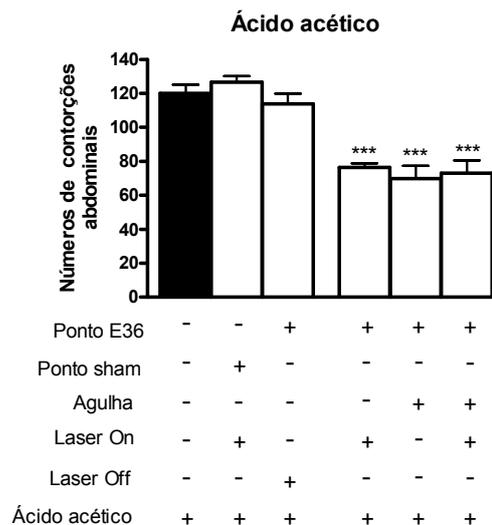


Figura 1. Avaliação do efeito antinociceptivo da acupuntura no ponto E36 (Zusanli) com duração do estímulo mecânico de 15 min e o estímulo fotônico de 6 s na nociceção induzida por ácido acético 0,6% (10ml/Kg, i.p.) em ratos. Cada grupo representa a média de 8 a 10 animais e as linhas verticais indicam o E.P.M. Os símbolos \*\*\* $p < 0,001$  indicam o nível de significância na comparação ao grupo controle (pelo teste de Newman Keuls); os sinais “+” indicam que foram administrados os respectivos tratamentos nos animais e os sinais “-” que não foram tratados.

Os resultados apresentados na Figura 2 indicam que o estímulo mecânico e a fotoestimulação no ponto E36 inibiram, de maneira significativa, a fase neurogênica da nociceção induzida pela formalina, verificada pela redução no tempo, do número de lambidas nas patas e na cauda do rato. As inibições causadas pela dose de 50  $\mu\text{L}$  i.pl. foram de  $57 \pm 10\%$  com estímulo mecânico,  $64 \pm 21\%$  com laser e  $62 \pm 5\%$  na aplicação de ambos.

A Figuras 3 e 4 mostram a inibição significativa da fase inflamatória (IIA e IIB) da nociceção induzida pela formalina (2,5%). As variações das inibições causadas pela dose de 50  $\mu\text{L}$  i.pl. fase IIA foram de  $55 \pm 5\%$  com estímulo mecânico,  $43 \pm 5\%$  na radiação laser e  $48 \pm 5\%$  na utilização de ambos. E na fase IIB  $97 \pm 1\%$ ,  $98 \pm 1\%$  e  $87 \pm 3\%$ , respectivamente.

## Discussão

A acupuntura, embora sendo uma técnica milenar no oriente, ainda é relativamente recente como objeto de estudo visando comprovação científica de sua eficácia,

no que tange aos mecanismos de ação como também a diferença entre os diversos acupontos existentes. Outro fator é avaliação da técnica utilizada, pois significativos são os trabalhos verificando o uso da eletroacupuntura, enquanto inexpressivo é o volume dos estudos que aplicam o estímulo da agulha e também a fotoestimulação.

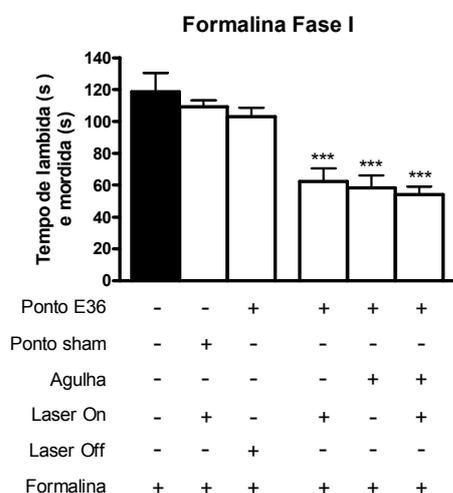


Figura 2: Efeito antinociceptivo da acupuntura no ponto E36 (Zusanli) com 15 min de retenção de agulha e 6 s de fotoestimulação em relação à primeira fase (I), da nocicepção induzida pela formalina (2,5%) em ratos avaliada no tempo de 0-9 min. As barras representam a média de 8 a 10 animais e as linhas verticais indicam o E.P.M. Os símbolos \*\*\* indicam o nível de significância  $p < 0,001$  quando comparados ao grupo controle (pelo teste de Newman Keuls), os sinais “+” indicam que foram administrados os respectivos tratamentos nos animais e os sinais “-” que não foram tratados.

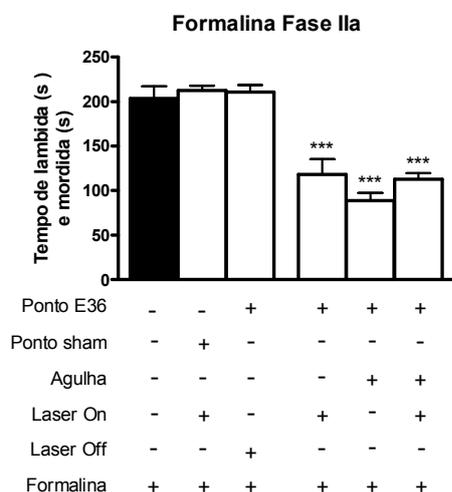


Figura3: Efeito antinociceptivo da acupuntura no ponto E36 (Zusanli) com 15 min de retenção de agulha e 6 s de fotoestimulação em relação à primeira fase (IIa) da nocicepção induzida pela formalina (2,5%) em ratos avaliada no tempo de 10-40 min. As barras representam a média de 8 a 10 animais e as linhas verticais indicam o E.P.M. Os símbolos \*\*\* indicam o nível de significância  $p < 0,001$  quando comparados ao grupo controle (pelo teste de Newman Keuls), os sinais “+” indicam que foram administrados os respectivos tratamentos nos animais e os sinais “-” que não foram tratados.

A escolha do acuponto E36 (Zusanli) para essa

pesquisa foi feita por sua ampla utilização na prática clínica em casos de dores. Os resultados no presente estudo mostraram que a estimulação deste acuponto foi capaz de reduzir de forma significativa as contorções abdominais induzidas pelo ácido acético, sendo que este efeito inicia-se a partir de 15 min de estímulo da agulha e 6 s de estimulação do LASER. Morioka (2002) não encontrou indícios de analgesia com o uso deste ponto em humanos com eletroacupuntura que, segundo ele, aumentaria o efeito da acupuntura. Já Li et al. (2005) utilizou a eletroacupuntura nos pontos B60 (Kunlun) e E36 (Zusanli) em camundongos e obteve efeito antinociceptivo. O modelo das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético, que é descrito como um modelo típico de nocicepção inflamatória visceral, é amplamente utilizado como ferramenta para detecção e avaliação de agentes com propriedades analgésicas e antiinflamatórias. Entretanto, segundo Reichert et al. (2001), este modelo apresenta uma boa sensibilidade, embora pouca especificidade, uma vez que a nocicepção induzida pelo ácido acético pode ser prevenida por agentes antiinflamatórios, analgésicos, relaxantes musculares e sedativos.

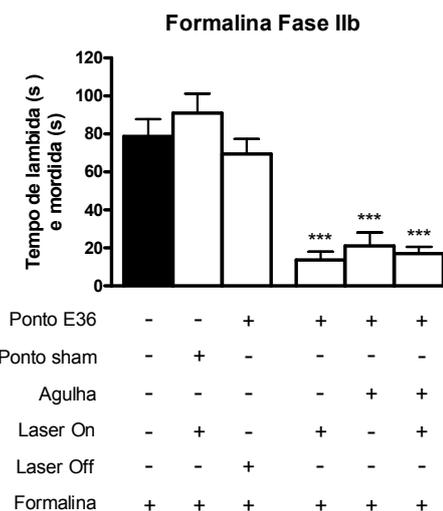


Figura 4: Efeito antinociceptivo da acupuntura no ponto E36 (Zusanli) com 15 min de retenção de agulha e 6 s de fotoestimulação em relação à segunda fase (IIb) da nocicepção induzida pela formalina (2,5%) em ratos avaliada no tempo de 41-60 min. As barras representam a média de 8 a 10 animais e as linhas verticais indicam o E.P.M. Os símbolos \*\*\*  $p < 0,001$  indicam o nível de significância na comparação ao grupo controle (pelo teste de Newman Keuls); os sinais “+” indicam que foram administrados os respectivos tratamentos nos animais e os sinais “-” que não foram tratados.

As publicações de estudos utilizando a laserpuntura têm indicado reduzidíssima eficácia, devido à dificuldade com os seus parâmetros, como: comprimento de onda, irradiação, tempo, propriedades e espessura de pele. Existe uma controvérsia entre os artigos e um número reduzido dos mesmos quando comparado à eletroacupuntura. Como exemplos, encontram-se Ludeberg e Zhou, que concluíram em seus experimentos com LASER *Helium-neon* (632,8nm) que o resultado para o alívio da dor possui efeitos placebo.

Entretanto, Okada e Kawakita, 2007, nos seus experimentos com animais, utilizando diferentes técnicas de acupuntura tiveram como resultado a participação do núcleo centro mediano do tálamo no fenômeno da analgesia por acupuntura, concluindo que seu efeito não é placebo. O presente estudo mostrou resultados antinociceptivos significativos nos modelos de nocicepção do ácido acético e formalina utilizando o LASER AsGaAl, em um comprimento de onda de 830nm, potência 30 mW, no tempo de 6 s, da mesma intensidade e proporção que o estímulo utilizando agulhas. Assim como Gottschlins et al., 2007, nos seus resultados em crianças com cefaléias crônicas, mostrou uma diminuição significativa nas dores quando comparado ao placebo, mostrando a eficácia do LASER com uma potência de 30mW e o comprimento de 830 nm. Neste estudo, também foi analisado se a fotoestimulação em uma região qualquer do corpo do animal que não fosse acuponto não produz efeito antinociceptivo, demonstrada através da estimulação do acuponto E36 (Zusanli). Observou-se que a estimulação do ponto sham não causou nenhuma alteração da resposta sensorial nos animais quando comparado ao controle. Da mesma maneira, apenas com o estímulo do toque da caneta LASER com o equipamento desligado no acuponto não ocorreu resposta antinociceptiva.

### Conclusão

Em síntese, o presente estudo demonstrou que a estimulação mecânica e a radiação LASER de baixa potência no acuponto E36 (Zusanli) apresentam atividades antinociceptiva em modelos de nocicepção induzida pelo ácido acético e formalina e os mesmos estímulos quando utilizados juntos não se potencializa o resultado. Comparando as técnicas ambas são eficazes, porém o tempo da técnica LASER, 6 s., é bem menor quando comparado com os 15 min. da estimulação mecânica por meio de agulha.

Os dados apresentados neste estudo mostram que realmente o ponto E36 (Zusanli) tem ação antinociceptiva em modelos de nocicepção aguda.

### Referências

- [1] Chapman, C.R., Gravin, J. (1999), Suffering: the contributions of persistent pain *Lancet*, v. 353, p. 2233-2237.
- [2] Millan, M.J. (1999), The induction of pain: an integrative review In: *Prog. Neurobiol.*, p.1-164.
- [3] Russo, C.M., Brode, W.G. (1998), Chronic pain, *Ann Ver. Med.*, v. 49, p 123-133.
- [4] Stux, G., Hammerschlag, R. (2005), *Acupuntura clínica*. Barueri, SP: ed. Manole, p.1-19.
- [5] Salazar, J., Reyes, R. (2004), Analgesia por acupuntura. *Rev. Cubana Méd. Milit.*, v 3, n. 1, p. 1-6.
- [6] Melzack, R. (1975), The McGill pain questionnaire: major properties and scoring methods, *Pain*, v. 1, n. 1, p. 1-277.
- [7] Valle, J., Jin, H.P. (2003), Mecanismos analgésicos da acupuntura. *Sociedade Médica de Acupuntura de São Paulo*, p. 1-8.
- [8] Scognamillo-Szabó, M.V.R., Bechara, G.H. (2001), *Acupuncture: Scientific basis and applications*. Ver. *Ciência Rural*, Santa maria, v.31, n.6, p. 1091-1099.
- [9] Cabrera, E.B.A., Perón, J.M.R., Alfonso, L.E. (2002), Laseracupuntura com Hélio-Neón en el tratamiento de pacientes traumatizados. *Rev. Cubana Med. Milit.*, v. 31, n. 1, p. 5-12.
- [10] Santos, A.R.S.; Miguel, O.G.; Yunes, R.A.; Calixto, J.B. (1999), Antinociceptive properties of the new alkaloid, cis-8, 10-di-Npropylbelidiol hydrochloride dihydrate isolated from *siphocampylus verticillatus*: evidence for the mechanism of action. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, v. 289, p. 417-426.
- [11] Tjolsen A.; Hole, K. Animal models of analgesia. In: Dickenson, A.; Besson, J. (1997), *The Pharmacology of pain*, Vol.130/I., Springer: Verlag, Berlin. p. 1-20.
- [12] Morioka, N., Akça, O., Doufas, A.G., Chernyak, G., Sessler, D.I. (2002), Electro-acupuncture at the Zusanli, Yanglingquan point does not reduce anesthetic. Requirement *Anesth Analg*, v.95, p. 98-102.
- [13] Li, W.M., Cui, K.M., Li, N., Gu, Q.B., Schwarz, W., Ding, G.H., Wu, G.C. (2005), Analgesic effects of electroacupuncture on complete Freund's adjuvant-induced inflammatory pain in mice: a model of antipain treatment by acupuncture in mice. *J. Physiol.* v. 55, p. 339-344.
- [14] Reichert, J.A.; Daughters, R.S.; Rivard, R.; Simone, D.A. (2001), Peripheral and preemptive opioid antinociception in a mouse visceral pain model. *Pain*, v. 89, p. 221-227.
- [15] Okada, K., Kawakita, K. (2007), Analgesic action of acupuncture and moxibustion: a review of unique approaches in Japan. *eCAM*, p. 1-7.
- [16] Gottshling, S., Meyer, S., Gribova, I., Distler, L., Berrang, J., Gortner, L., Graf, N., Shamdeen, G. (2007), Laser acupuncture in children with headache: a double-blind, randomized, bicenter, placebo-controlled trial. *Pain*, v. 10, p.1-8.