

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**DEPARTAMENTO DE CIRURGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIRURGIA**

**LANESE MEDEIROS DE FIGUEIRÊDO**

**EFEITOS DA ACUPUNTURA E DA ELETROACUPUNTURA SOBRE A GLICEMIA,  
LACTACEMIA E AS CONCENTRAÇÕES DE LACTATO NO FÍGADO E RIM RATOS  
SADIOS**

**FORTALEZA**  
**2009**

**LANESE MEDEIROS DE FIGUEIRÊDO**

**EFEITOS DA ACUPUNTURA E DA ELETROACUPUNTURA SOBRE A GLICEMIA,  
LACTACEMIA E AS CONCENTRAÇÕES DE LACTATO NO FÍGADO E RIM DE  
RATOS SADIOS.**

Dissertação submetida à coordenação do Curso de Pós-Graduação em Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará (UFC), como requisito para obtenção do título de Mestre.

Orientador: **Prof. Dr. Sérgio Botelho  
Guimarães**

**Fortaleza-CE  
2009**

F49e Figueirêdo, Lanese Medeiros de

Efeitos da acupuntura e da eletroacupuntura sobre a glicemia, lactacemia e as concentrações de lactato no fígado e rim de ratos saudáveis/ Lanese Medeiros de Figueirêdo. – Fortaleza, 2009.  
86 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Botelho Guimarães  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará.  
Faculdade de Medicina. Programa de Pós-graduação em  
Cirurgia, Fortaleza, Ce.

1. Acupuntura 2. Eletroacupuntura 3. Glicose 4. Ácido Lático 5. Ratos I. Guimarães, Sérgio Botelho (orient.) II. Título.  
CDD: 615.892

## **LANESE MEDEIROS DE FIGUEIRÊDO**

**EFEITOS DA ACUPUNTURA E DA ELETROACUPUNTURA SOBRE A GLICEMIA, LACTACEMIA E AS CONCENTRAÇÕES DE LACTATO NO FÍGADO E RIM DE RATOS SADIOS.**

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Cirurgia.

Aprovada em \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_

### **BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dra. Maria do Desterro Leiros da Costa  
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

---

Prof. Dr. Maria Luzete Costa Cavalcante  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Sérgio Botelho Guimarães  
Universidade Federal do Ceará (UFC)  
(Orientador)

Aos meus pais, Luiz Alberto e Lourdes,  
responsáveis maiores pela pessoa que me  
tornei, exemplos de vida e incansáveis  
incentivadores e apoiadores dos meus  
sonhos.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Sérgio Botelho Guimarães, pelo incentivo, acolhimento, confiança, paciência e dedicação, sem os quais não seria possível alcançar meu objetivo. A ele, exemplo de sabedoria aliada ao aprendizado constante, minha eterna gratidão pela inestimável parcela de contribuição na minha formação.

Ao Prof. Dr. Paulo Roberto Leitão de Vasconcelos, coordenador do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Cirurgia, da Universidade Federal do Ceará, pelo apoio e pela grande dedicação em busca da excelência da pesquisa científica. Ao alunos da Faculdade de Medicina Alberico Ximenes do Prado Neto pela imprescindível ajuda e amizade.

À minha irmã Leina Medeiros de Figueirêdo, pelo apoio incondicional e constante disposição para me ajudar.

Aos amigos e amigas que acreditaram no meu sucesso mesmo nos períodos de dúvidas e dificuldades.

A todos os colegas da UTI Materna da Maternidade Escola Assis Chateaubriand e à Dra. Regina Coeli Marques de Carvalho, nossa chefe, pelo apoio e disponibilidade de fazer o possível para que eu tivesse mais tempo para dedicar-me à conclusão deste trabalho.

Aos colegas da UTI do Hospital Distrital Evandro Ayres de Moura – Antônio Bezerra, pela paciência e incentivo, e por sempre se prontificarem a me ajudar nos momentos necessários.

Aos Srs. Francisco Evanir Gonçalves de Lima, técnico da Unidade de Farmacologia da Universidade Federal do Ceará e Bento Francisco de Oliveira, assistente técnico do Biotério do Laboratório de Cirurgia Experimental da Universidade Federal do Ceará, pela disponibilidade e dedicação.

Às Sras. Maria Luciene Vieira de Oliveira e Magda Fontenele, do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, pela eficiência, atenção e dedicação sempre dispensadas aos alunos da pós-graduação.

À todos os professores da Pós-Graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, pelo empenho e incentivo à pesquisa.

À todos os colegas da pós-graduação que compartilharam os mesmos anseios e expectativas durante a realização do curso de mestrado.

Enfim, a todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para a execução deste trabalho.

"A sabedoria não nos é dada. É preciso descobri-la por nós mesmos, depois de uma viagem que ninguém nos pode poupar ou fazer por nós."  
(Marcel Proust)



## RESUMO

**EFEITOS DA ACUPUNTURA E DA ELETROACUPUNTURA SOBRE A GLICEMIA, LACTACEMIA E AS CONCENTRAÇÕES DE LACTATO NO FÍGADO E RIM DE RATOS SADIOS.** LANESE MEDEIROS DE FIGUEIRÊDO. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação (*Stricto Sensu*) em Cirurgia. Universidade Federal Ceará. Professor: Dr. Sérgio Botelho Guimarães

A Acupuntura (Ac) e a Eletroacupuntura (EAc) tem sido amplamente utilizadas na prática clínica para o tratamento de várias doenças. A Medicina Tradicional Chinesa (MTC) preconiza o uso dos acupontos Zusanli (E-36) e Zhongwan (RM-12) para alívio dos sintomas de diabetes mellitus. Por ação da Ac e EAc, ocorre liberação de opióides endógenos, incluindo  $\beta$ -endorfinas, que comprovadamente estimulam a secreção de insulina. O objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos da Ac e EAc nos acupontos E-36 e RM-12 sobre as concentrações de glicose e lactato no sangue, fígado e rim de ratos saudáveis. No presente estudo, 48 ratos foram divididos em 4 grupos (Valores Basais, Ac, EAc10Hz e EAc100Hz) e subdivididos em 2 subgrupos de acordo com os tempos de coleta dos substratos (T-30: imediatamente após o término da sessão de Ac ou EAc e T-60: 30 minutos após o término da sessão). Todos os ratos foram anestesiados e os grupos experimentais (Ac, EAc10Hz e EAc100Hz) foram submetidos, respectivamente, à Ac e à EAc (10 Hz e 100 Hz) nos acupontos E-36 e RM-12, durante 30 minutos. Foram dosadas as concentrações de glicose, lactato e LDH no sangue, fígado e rim dos animais nos tempos T-30 e T-60. A estimulação dos acupontos E-36 e RM-12 por EAc de 10Hz reduziu significativamente a glicemia em ratos saudáveis, ao término da estimulação elétrica ( $190,80 \pm 24,88$  vs.  $138,50 \pm 21,09$ ,  $p > 0,001$ ) e 30 minutos mais tarde ( $186,30 \pm 23,76$  vs.  $134,10 \pm 25,65$ ,  $p > 0,001$ ). Utilizando-se uma frequência 10 vezes maior (100Hz) demonstrou-se resultado semelhante (T-30,  $186,30 \pm 23,76$  vs.  $99,17 \pm 8,79$ ,  $p > 0,001$ ; e T-60,  $190,80 \pm 24,88$  vs.  $113,40 \pm 7,37$ ,  $p > 0,001$ ). A Ac não alterou significativamente a glicemia. Houve também redução significativa das concentrações de LDH imediatamente após o término da sessão de acupuntura e 30 minutos depois, tanto nos animais submetidos à AC (T-30,  $518,20 \pm 43,31$  vs.  $354,80 \pm 44,66$ ,  $p < 0,001$ ; T-60,  $637,80 \pm 61,01$  vs.  $325,70 \pm 10,54$ ,  $p < 0,001$ ) quanto à EA (10Hz: T-30,  $518,20 \pm 43,31$  vs.  $286,50 \pm 59,86$ ,  $p < 0,001$ ; T-60,  $637,80 \pm 61,01$  vs.  $268,80 \pm 43,51$ ,  $p < 0,001$  e 100Hz: T-30,  $518,20 \pm 43,31$  vs.  $213,80 \pm 24,85$ ,  $p < 0,001$ ; T-60,  $637,80 \pm 61,01$  vs.  $188,20 \pm 24,00$ ,  $p < 0,001$ ), sugerindo um menor metabolismo anaeróbico. No presente estudo, a redução significativa do lactato sérico 30 minutos após o início do estudo em ratos submetidos à EAc com 100 Hz sugere prevalência da glicólise aeróbica ( $2,10 \pm 0,23$  vs.  $1,19 \pm 1,02$ ,  $p < 0,001$ ). Resultado semelhante foi observado nos níveis de lactato no fígado (T-60, 10 Hz:  $1,92 \pm 0,42$  vs.  $0,69 \pm 0,29$ ,  $p < 0,001$  e 100 Hz:  $1,92 \pm 0,42$  vs.  $0,44 \pm 0,21$ ,  $p < 0,001$ ) e rim (T-30, 100 Hz:  $1,86 \pm 0,87$  vs.  $0,91 \pm 0,38$ ,  $p < 0,05$ ). Os resultados deste estudo mostram que a Ac e a EAc nos animais hiperglicêmicos podem reduzir as concentrações de glicose no sangue. Frequências maiores tem maior efeito hipoglicemiante. A redução da glicemia deve ser consequência da ação de opióides endógenos e da  $\beta$ -endorfina, como sugerido em estudos anteriores. O mecanismo de redução das concentrações de lactato e LDH parece estar relacionado a uma prevalência da glicólise aeróbica.

Palavras-chave: Ratos. Acupuntura. Eletroacupuntura. Glicose. Lactato.

## ABSTRACT

**EFFECTS OF ACUPUNCTURE AND ELECTROACUPUNCTURE ON GLYCEMIA, LACTACEMIA AND LACTATE CONCENTRATIONS IN THE LIVER AND KIDNEYS OF HEALTHY RATS.** LANESE MEDEIROS DE FIGUEIRÊDO. Dissertation (Master Degree). Post-Graduation Program (*Stricto Sensu*) in Surgery. Federal University of Ceará. Professor: Dr. Sérgio Botelho Guimarães

Acupuncture (Ac) and electroacupuncture (EAc) have been widely used in clinical practice for the treatment of various diseases. Traditional Chinese medicine (TCM) recommends the use of acupoints Zusanli (E-36) and Zhongwan (RM-12) for relief of symptoms of diabetes mellitus. Ac and EAc stimulation may release some endogenous opioids, including  $\beta$ -endorphins, enhancing insulin secretion. The aim of this study was to evaluate the effects of Ac and EAc on acupoints ST-36 and RM-12 on glycemia, lactacemia and liver and kidneys lactate concentrations in healthy rats. In this study, 48 rats were divided into 4 groups (baseline [GVB], Ac, EAc10Hz and EAc100Hz) and subdivided into 2 subgroups according to the time of samples collection (T-30, immediately after the end of the session or Ac or EAc and T-60: 30 minutes after the end of the session). All rats were anesthetized and experimental groups (Ac, EAc10Hz and EAc100Hz) were submitted respectively to the EAc and Ac (10 Hz and 100 Hz) on acupoints ST-36 and RM-12 for 30 minutes. Glucose, lactate and LDH were assayed in the blood. Tissue lactate concentration was assayed in liver and kidney of rats at T-30 and T-60 timepoints. Stimulation of acupoints ST-36 and RM-12 by EAc 10Hz significantly reduced blood glucose levels in healthy rats, at the end of electrical stimulation ( $190.80 \pm 24.88$  vs.  $138.50 \pm 21.09$ ,  $p > 0.001$ ) and 30 minutes later ( $186.30 \pm 23.76$  vs.  $134.10 \pm 25.65$ ,  $p > 0.001$ ). Using a frequency 10 times higher (100Hz) similar results were obtained (T-30,  $186.30 \pm 23.76$  vs.  $99.17 \pm 8.79$ ,  $p > 0.001$ , and T-60,  $190.80 \pm 24.88$  vs.  $113.40 \pm 7.37$ ,  $p > 0.001$ ). Ac stimulation did not significantly alter blood glucose. There was also a significant reduction in the concentrations of LDH immediately after the acupuncture session and 30 minutes later, both in animals subjected to Ac (T-30,  $518.20 \pm 43.31$  vs.  $354.80 \pm 44.66$ ,  $p < 0.001$ , T-60,  $637.80 \pm 61.01$  vs.  $325.70 \pm 10.54$ ,  $p < 0.001$ ) and EAc (10Hz: T-30,  $518.20 \pm 43.31$  vs.  $286.50 \pm 59.86$ ,  $p < 0.001$ , T-60,  $637.80 \pm 61.01$  vs.  $268.80 \pm 43.51$ ,  $p < 0.001$  and 100Hz: T-30,  $518.20 \pm 43.31$  vs.  $213, 80 \pm 24.85$ ,  $p < 0.001$ , T-60,  $637.80 \pm 61.01$  vs.  $188.20 \pm 24.00$ ,  $p < 0.001$ ), suggesting a lower anaerobic metabolism. In this study, a significant decrease in serum lactate 30 minutes after the start of the study in rats subjected to EAc 100 Hz suggests the prevalence of aerobic glycolysis ( $2.10 \pm 0.23$  vs.  $1.19 \pm 1.02$ ,  $p < 0.001$ ). Similar result was observed in the levels of lactate in the liver (T-60, 10 Hz:  $1.92 \pm 0.42$  vs.  $0.69 \pm 0.29$ ,  $p < 0.001$  and 100 Hz:  $1.92 \pm 0.42$  vs.  $0.44 \pm 0.21$ ,  $p < 0.001$ ) and kidney (T-30, 100 Hz:  $1.86 \pm 0.87$  vs.  $0.91 \pm 0.38$ ,  $p < 0.05$ ). The results of this study show that the Ac and EAc, can reduce the concentrations of blood glucose in hyperglycemic animals. Higher frequencies have greater hypoglycemic effect. The reduction of blood glucose should be a consequence of the action of endogenous opioids and  $\beta$ -endorphin, as suggested in previous studies. The mechanism of reduction of lactate and LDH appears to be related to a prevalence of aerobic glycolysis.

**KEY WORDS:** Rats. Acupuncture. Electroacupuncture. Glucose. Lactate

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de glicose (mg/dl) no sangue de ratos submetidos à acupuntura manual	44
<b>Tabela 2</b>	Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de glicose (mg/dl) no sangue de ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)	45
<b>Tabela 3</b>	Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de glicose (mg/dl) no sangue de ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)	46
<b>Tabela 4</b>	Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de LDH (UI/L) no sangue de ratos submetidos à acupuntura manual	47
<b>Tabela 5</b>	Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de LDH (UI/L) no sangue de ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)	48
<b>Tabela 6</b>	Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de LDH (UI/L) no sangue de ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)	49
<b>Tabela 7</b>	Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de lactato no sangue de ratos submetidos à acupuntura manual	50
<b>Tabela 8</b>	Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no sangue de ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)	51
<b>Tabela 9</b>	Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no sangue de ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)	52

<b>Tabela 10</b>	Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de lactato no fígado de ratos submetidos à acupuntura manual	53
<b>Tabela 11</b>	Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no fígado de ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)	54
<b>Tabela 12</b>	Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no fígado de ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)	56
<b>Tabela 13</b>	Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de lactato no rim de ratos submetidos à acupuntura manual	57
<b>Tabela 14</b>	Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no rim de ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)	58
<b>Tabela 15</b>	Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no rim de ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)	59
<b>Tabela 16</b>	Efeitos do trauma anestésico, da acupuntura e da eletroacupuntura sobre as concentrações de glicose, lactato e LDH no sangue, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30)	60
<b>Tabela 17</b>	Efeitos do trauma anestésico, da acupuntura e da eletroacupuntura sobre as concentrações de glicose, lactato e LDH no sangue, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60)	62

<b>Tabela 18</b>	Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no fígado, em ratos submetidos à estimulação manual e à eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30)	65
<b>Tabela 19</b>	Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no fígado, em ratos submetidos à estimulação manual e à eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60)	66
<b>Tabela 20</b>	Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no rim, em ratos submetidos à estimulação manual e à eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30)	67
<b>Tabela 21</b>	Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no rim, em ratos submetidos à estimulação manual e à eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60)	68
<b>Tabela 22</b>	Peso dos animais experimentais	79

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Agulhamento do acuponto E-36 bilateral	81
<b>Figura 2</b>	Agulhamento do acuponto RM-12	81
<b>Figura 3</b>	Eletroacupuntura com 10Hz	82
<b>Figura 4</b>	Eletroacupuntura com 100 Hz	82
<b>Figura 5.1</b>	Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de glicose (mg/dl) no sangue de ratos submetidos à acupuntura manual	44
<b>Figura 5.2</b>	Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de glicose (mg/dl) no sangue de ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)	45
<b>Figura 5.3</b>	Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de glicose (mg/dl) no sangue de ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)	46
<b>Figura 5.4</b>	Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de LDH (UI/L) no sangue de ratos submetidos à acupuntura manual	47
<b>Figura 5.5</b>	Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de LDH (UI/L) no sangue de ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)	49
<b>Figura 5.6</b>	Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de LDH (UI/L) no sangue de ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)	50
<b>Figura 5.7</b>	Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de lactato no sangue de ratos submetidos à acupuntura manual	51
<b>Figura 5.8</b>	Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no sangue de ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)	52

<b>Figura 5.9</b>	Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no sangue de ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)	53
<b>Figura 5.10</b>	Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de lactato no fígado de ratos submetidos à acupuntura manual	54
<b>Figura 5.11</b>	Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no fígado de ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)	55
<b>Figura 5.12</b>	Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no fígado de ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)	56
<b>Figura 5.13</b>	Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de lactato no rim de ratos submetidos à acupuntura manual	57
<b>Figura 5.14</b>	Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no rim de ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)	58
<b>Figura 5.15</b>	Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no rim de ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)	59
<b>Figura 5.16</b>	Efeitos do trauma anestésico, da acupuntura e da eletroacupuntura sobre as concentrações de <b>glicose</b> no sangue, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30)	61
<b>Figura 5.17</b>	Efeitos do trauma anestésico, da acupuntura e da eletroacupuntura sobre as concentrações de <b>lactato</b> no sangue, em ratos submetidos à estimulação manual e à eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30)	61

- Figura 5.18** Efeitos do trauma anestésico, da acupuntura e da eletroacupuntura sobre as concentrações de **LDH** no sangue, em ratos submetidos à estimulação manual e à eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30) 62
- Figura 5.19** Efeitos do trauma anestésico, da acupuntura e da eletroacupuntura sobre as concentrações de **glicose**, em ratos submetidos à estimulação manual e à eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60) 63
- Figura 5.20** Efeitos do trauma anestésico, da acupuntura e da eletroacupuntura sobre as concentrações de **lactato**, em ratos submetidos à estimulação manual e à eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60) 64
- Figura 5.21** Efeitos do trauma anestésico, da acupuntura e da eletroacupuntura sobre as concentrações de **LDH**, em ratos submetidos à estimulação manual e à eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60) 64
- Figura 5.22** Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de **lactato** no fígado, em ratos submetidos à estimulação manual e à eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30) 65
- Figura 5.23** Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de **lactato** no fígado, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60) 66
- Figura 5.24** Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de **lactato** no rim, em ratos submetidos à estimulação manual e à eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30) 67



<b>Figura 5.25</b>	Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de <b>lactato</b> no rim, em ratos submetidos à estimulação manual e à eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60)	68
<b>Figura 6</b>	Laparotomia exploradora	83
<b>Figura 7</b>	Coleta de sangue da aorta abdominal	83
<b>Figura 8</b>	Coleta do lobo hepático esquerdo	84
<b>Figura 9</b>	Coleta do pólo superior do rim direito	84
<b>Figura 10</b>	Aparelho de Eletroacupuntura EL 608	

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC	Acupuntura
MTC	Medicina Tradicional Chinesa
EA	Eletroacupuntura
E-36	Estômago 36
RM-12	Ren Mai 12
Hz	Hertz
GVB	Grupo Valores Basais
GAc	Grupo Acupuntura
GEAc10	Grupo Eletroacupuntura 10Hz
GEAc100	Grupo Eletroacupuntura 100 Hz
T30	Tempo 30 minutos do início do experimento
T60	Tempo 60 minutos do início do experimento
ip	Intraperitoneal
UFC	Universidade Federal do Ceará
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
CEPA	Comissão de Ética em Pesquisa Animal
IRS-1	Substrato 1 do receptor da insulina
PI3-quinase	Fosfatidil-inositol 3-quinase
GLUT-4	Transportador de glicose
mg/dl	Miligramas por decilitro
mg/ml	Miligramas por mililitro
LDH	Lactato desidrogenase
ATP	Adenosina trifosfato
UI/L	Unidades internacionais por litro
$\mu\text{mol/L}$	Micromol por litro
$\mu\text{mol/g}$	Micromol por grama
DP	Desvio padrão
EPM	Erro Padrão da Média
mm	Milímetros

mA	Miliampéres
ml	Mililitros
M	Mol
rpm	Rotações por minuto
°C	Graus Celsius
cm <sup>2</sup>	Centímetros quadrados
cm <sup>3</sup>	Centímetros cúbicos
NAD	Nicotinamida adenina dinucleotídeo
NADH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzido
NADPH	Fosfato de dinucleotídeo de nicotinamida e adenina
H <sup>+</sup>	Hidrogênio
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
Mg <sup>+</sup>	Magnésio
G <sub>6</sub> PD	Glicose-6-fosfato-desidrogenase
CO <sub>2</sub>	Gás carbônico
H <sub>2</sub> O	Água
Acetil-CoA	Acetilcoenzima A
g	Gramas
nm	nanômetro

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	
LISTA DE TABELAS	
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	
<b>1 INTRODUÇÃO</b>	20
<b>2 OBJETIVO</b>	29
<b>3 MÉTODO</b>	30
3.1 A amostra	30
3.2 Procedimento anestésico	31
3.3 Delineamento do estudo	31
3.4 Desenho do Experimento	33
3.5 Distribuição da amostra	34
3.6 Coleta de material para análise	34
3.7 O estudo	36
3.8 Análises laboratoriais	37
3.9 Materiais e Equipamentos utilizados	40
3.10 Análise estatística	41
<b>4 RESULTADOS</b>	42
4.1 No sangue	42
4.1.1 Glicose	42
4.1.2 Desidrogenase láctica	45
4.1.3 Lactato	48
4.2 No fígado	51
4.3 No rim	54
<b>5 DISCUSSÃO</b>	66
<b>6 CONCLUSÃO</b>	71
<b>7 REFERÊNCIAS</b>	72
<b>APÊNDICES</b>	79
<b>ANEXOS</b>	82

## 1 INTRODUÇÃO

A palavra Acupuntura (AC) deriva do latim *acum* (agulha) e *punctum* (picada ou punção). A origem da acupuntura remonta há cerca de quatro mil anos, na China, onde a doença é considerada uma alteração nas funções do corpo provocada por diversos fatores (externos, emocionais, nutricionais, envelhecimento), sendo possível, através do tratamento com acupuntura, reequilibrar estas funções e recuperar a saúde. O primeiro texto médico conhecido e ainda utilizado pela Medicina Tradicional Chinesa (MTC) é o Tratado de Medicina Interna do Imperador Amarelo (Nei Jing), escrito, segundo alguns autores, entre 475-221 a.C., na forma de um diálogo entre o lendário Imperador Amarelo Huang Di e seu ministro.

A Acupuntura foi introduzida na Europa, nos séculos XVI e XVII, pelos missionários jesuítas, após retornarem da China. Nos Estados Unidos, os primeiros contatos com a acupuntura deram-se através dos imigrantes orientais. Em 1912, William Osler descreveu a eficácia do tratamento da lombalgia aguda por acupuntura no seu livro *Os princípios e a prática da Medicina*. No Brasil, a prática da MTC também iniciou-se a partir da imigração chinesa, em 1810, expandindo-se entre os profissionais de saúde nos anos 70. A Acupuntura é reconhecida no Brasil como especialidade médica pelo Conselho Federal de Medicina desde 1995, e pela Associação Médica Brasileira desde 1998 (WANG; PAI, 2005).

A Acupuntura é uma modalidade terapêutica que busca a cura das enfermidades pela aplicação de estímulos através da pele, com a inserção de agulhas em pontos específicos denominados acupontos. A ação se dá através da liberação de substâncias químicas no organismo, com conseqüente efeito analgésico e/ou antiinflamatório, aliviando a dor e outros sintomas. Nas últimas décadas, muitos estudos foram realizados para esclarecer os mecanismos de ação e os fenômenos neuroquímicos que ocorrem durante a analgesia e anestesia por acupuntura, o que levou à compreensão da importância dos reflexos espinhais como importante mecanismo de ação desta modalidade de tratamento (WU, 1990).

Os pontos de acupuntura tem baixa resistência elétrica (SHANG, 1989) e grande concentração de energia, que pode ser mensurada utilizando-se um galvanômetro ohmímetro que mostra o potencial elétrico aumentado nesses pontos (LEONHARDT, 1980). Os pontos de acupuntura são áreas onde histologicamente existem maiores quantidades de receptores nervosos como terminações livres, fusos musculares, órgão tendinoso de Golgi, mastócitos e capilares, quando comparadas com áreas circunjacentes (DORNETTE, 1975; ZONGLIAN, 1979). A nível histológico, um estudo com grande número de preparações microscópicas originadas de 34 áreas da pele, incluindo 11 acupontos e múltiplas áreas cutâneas consideradas neutras, revelou dois tipos de acupontos: receptores e efetores (KELLNER, 1966), baseados na diferença de distribuição dos receptores somatosensoriais e no número de terminações nervosas livres. Estes incluem corpúsculos de Meissner, bulbos terminais de Krause, corpos glomus e músculo liso (KHO; ROBERTSON, 1997).

A inserção de agulhas causa despolarização das membranas, capazes de gerar um potencial de ação nos receptores dos nervos, originando um estímulo que é conduzido principalmente pelas fibras A delta e C (DORNETTE, 1975; GUOWEI *et al*, 1981; ZONGLIAN, 1979). O reflexo somato-somático é o arco reflexo que ocorre, quando um estímulo excita as fibras somáticas aferentes, provocando contração dos músculos flexores e relaxamento dos extensores na região do estímulo, explicando a sensação de Te Qi, ou seja, uma sensação de inchaço ou adormecimento, que acompanha o estímulo da acupuntura e é associado aos melhores efeitos do tratamento (NGUYEN; NGUYEN-RECOURS, 1984). O arco reflexo somato-visceral ocorre quando um estímulo periférico, desencadeando um potencial de ação nas fibras nervosas, principalmente as fibras C, é conduzido até a medula espinhal, onde, através de interneurônios, as fibras nervosas fazem sinapses com neurônios autonômicos pré-ganglionares, localizados na coluna medular lateral, entre os segmentos T1 e L2 e, através de fibras pós-ganglionares, alcançam as vísceras internas e vasos sanguíneos. Por este mecanismo, os pontos de acupuntura localizados na região somática podem afetar os órgãos internos. Em sentido inverso, por meio do reflexo víscero-somático, alterações em órgãos internos podem se manifestar, por exemplo, no aparelho locomotor como dor (YAMAMURA; TABOSA, 1995).

Por causa das sinapses da medula espinhal, os estímulos podem agir via víscero-visceral homolateral, víscero-somático cruzada ou atingir o encéfalo via trato ascendente, ao nível da formação reticular (HABER; MOORE; WILLIS, 1982; AMMONS, 1987), tálamo, sistema límbico e córtex cerebral.

A eletroacupuntura (EA) é um método terapêutico utilizado para potencializar os efeitos da acupuntura manual e consiste na aplicação de corrente elétrica de baixa intensidade e frequência variável em agulhas metálicas introduzidas no corpo do animal ou ser humano. Pesquisadores demonstraram que a EA de 2 Hertz (Hz) acelera a liberação de peptídeos opiáceos endógenos produzidos pelas glândulas suprarrenais (LIN; CHANG; CHENG, 2002). Quando frequências maiores foram usadas (15 Hz) os efeitos hipoglicemiantes foram mais pronunciados (LIN *et al*, 2004). Estudos revelaram que quando baixas (2Hz) e altas (100Hz) frequências são utilizadas consecutivamente com duração de 3 segundos, há liberação simultânea de três tipos de peptídeos opiáceos (encefalinas, endorfinas e dinorfinas). A interação sinérgica entre esses três peptídeos opiáceos endógenos produz um efeito analgésico mais potente (CHEN; HAN, 1992; HAN *et al*, 1991). É interessante observar que estímulos elétricos de 2 e 100 Hz utilizam diferentes vias nervosas para mediação do seu efeito analgésico (GUO *et al*, 1996 a; 1996 b).

A Medicina Tradicional Chinesa (MTC) tem sua base fisiopatológica baseada em dois princípios: o Yin e Yang e os Cinco Movimentos. O conceito de Yin e Yang é uma das mais antigas concepções filosóficas da China, sendo extremamente simples, ainda que profundo. Yin e Yang representam qualidades opostas mas também complementares e interdependentes, simbolizando dois estágios no processo de mudança e transformação de todas as coisas no Universo (MACIOCIA, 2005). A MTC incorporou o Yin e Yang para explicar a fisiologia e a patologia humana, considerando o corpo um todo organizado, composto de duas partes ligadas intimamente, porém opostas. O desequilíbrio entre estes elementos pode resultar em doenças. Na concepção da MTC, energia e matéria não são vistas separadas, mas sim como dois extremos de algo contínuo. A mente e o corpo, o espírito e a matéria tem uma intercomunicação permanente.

Diferentemente da dicotomia ocidental, em que a estrutura constitui a armação material e a função é tida como os resultados de um fluxo de energia através desta armação, o pensamento chinês vê a estrutura e a função como algo contínuo, não fazendo distinção nítida entre elas, que por isso, não são vistas como áreas separadas. Assim, os sistemas de órgãos da MTC não se relacionam tanto às estruturas, mas sim às funções que estes órgãos exercem no corpo e na mente (ROSS, 1994).

A teoria dos Cinco Movimentos complementa a teoria do Yin e Yang e se fundamenta na observação e interpretação dos fenômenos da natureza. Representa os cinco processos básicos, as cinco direções diferentes de movimentos dos fenômenos naturais. A Madeira representa o movimento expansivo exterior em todas as direções, o Metal representa o movimento contraído e interior, a Água representa movimento descendente, o Fogo representa o movimento ascendente e a Terra representa neutralidade ou estabilidade (MACIOCIA, 2005).

Segundo o conceito dos Cinco Movimentos, o ser humano, para ter saúde, precisa estar em harmonia com o meio no qual se encontra, ou seja, é um microcosmo dentro de um macrocosmo. Para isso ocorrer, ele possui cinco estruturas em seu interior cuja função é a manutenção da homeostase: Fígado (Gan), Coração (Xin), Baço-Pâncreas (Pi), Pulmão (Fei), Rins (Shen), denominados Órgãos, responsáveis por toda a fisiologia do organismo. Através dos meridianos, as Energias, essenciais para as diversas atividades, atingem todas as partes do corpo. Cada um destes Órgãos é responsável por funções específicas no organismo. Segundo a Medicina Tradicional Chinesa, podemos regularizar um Órgão comprometido através de seus meridianos ou pelos meridianos de Órgãos relacionados, utilizando os pontos de acupuntura, que são áreas restritas, localizadas ou não, sobre os meridianos que podem ser manipulados por agulhas específicas a fim de obter certas reações em outras regiões ou em algum Órgão (WENBU, 1993).



O termo Qi é usado para designar a Energia, que é uma concepção oposta à matéria (ROSS, 1994). De acordo com os princípios da MTC, acupuntura pode regular o Qi do corpo (LIAO; URATA; NISHIKAWA, 1998). A regulação do Qi se assemelha a mudanças nos efeitos cinéticos de substâncias internas como a insulina.

A Acupuntura e eletroacupuntura tem sido amplamente utilizada na prática clínica e várias instituições internacionais tem realizado pesquisas para avaliar seus mecanismos. Os conhecimentos sobre este tratamento tem sido extremamente úteis, principalmente nas áreas de bioquímica, hematologia e fisiologia nervosa (CHENG *et al*, 1998; HE, 1998), além das áreas de biologia molecular e bioeletrofisiologia.

O sistema nervoso central possui não apenas o sistema analgésico opióide endógeno mas também o sistema analgésico não-opióide endógeno. Foram encontrados que todos os três tipos de receptores opióides (CHEN; HAN, 1992; HAN *et al*, 1991) mu, delta e kappa na medula espinhal de ratos tem importante papel na mediação da analgesia induzida por EA de 2/15 Hz. Os níveis de neurotransmissores como endomorfina 1, beta-endorfina, encefalina e serotonina aumentam no plasma e tecido cerebral por efeito da acupuntura. O aumento desses neurotransmissores resulta em analgesia, sedação e recuperação das funções motoras. Além disso, há também efeito imunomodulador no sistema imune e efeitos lipolíticos no metabolismo. Por estes motivos, a utilização da acupuntura para o tratamento de síndromes dolorosas, doenças gastrointestinais, transtornos psíquicos, distúrbios motores e doenças metabólicas vem aumentando mundialmente (CABYOGLU; ERGENE; TAN, 1996).

Na MTC, EA nos acupontos Zusanli (E-36) e Zhongwan (RM-12) tem sido largamente utilizada para aliviar os sintomas de diabetes mellitus. Eventual liberação de beta-endorfinas pelas glândulas adrenais reduzindo a glicose plasmática tem sido demonstrada por EA no acuponto Zhongwan em ratos (LIN; CHANG; CHENG, 2002). EA em Zhongwan causa contração prolongada das fibras musculares abdominais e liberação de ATP associado a um aumento da circulação sanguínea que resulta em aumento no metabolismo da glicose (GUYTON, HALL, 2005).

Foi demonstrado que EA aplicada em diferentes frequências pode causar liberação de opióides endógenos por ativar receptores específicos (CHEN; HAN, 1992). Receptores presentes no pâncreas já foram previamente investigados quanto ao seu papel na regulação da glicose plasmática (BRUNI; WATKINS; YEN, 1979). Também já foi demonstrado que eletroacupuntura em pontos específicos (Zhongwan e Guanyuan) em ratos tem efeito hipoglicemiante prolongado e sustentado que não é relacionado à ingesta alimentar mas a um aumento da sensibilidade insulínica (SHAPIRA; APPELBAUM; HIRSHBERG, 2000).

A aplicação de EA no acuponto Zhongwan reduz transitoriamente as concentrações de glicose plasmática em ratos com ou sem hiperglicemia, contudo, nos ratos diabéticos esse efeito só ocorre naqueles com diabetes tipo II, não tendo influência nos ratos com diabetes induzida por drogas ou diabetes tipo I (CHANG *et al*, 1999). Isso sugere que a resposta hipoglicemiante só ocorre nos modelos animais com melhor função pancreática, indicando uma ação insulino-dependente. Não há dúvidas de que a secreção de insulina endógena é o mediador dessa hipoglicemia induzida por EA, portanto EA no acuponto Zhongwan seria mais efetiva nos pacientes nos quais as células pancreáticas ainda são capazes de liberar parcialmente insulina. (CHANG *et al*, 1999). O aumento plasmático de  $\beta$ -endorfinas por ação da EA em ratos pode estimular a secreção de insulina produzindo hipoglicemia, concordando com a hipótese de que  $\beta$ -endorfinas estão envolvidas na homeostase da glicose plasmática (RAMABADRAN; BANSINATH, 1990; CURRY; BENNET; LI, 1987; FELDMAN *et al*, 1983). Entretanto, ainda não está claro se ocorrem mudanças na concentração extracelular de glicose e lactato a nível celular.

A glicose tem a função básica de conduzir energia para membranas excitáveis. Esse novo conceito tem se tornado a fenomenologia puramente descritiva do metabolismo celular pela análise das mudanças bioquímicas na glicose e lactato nos nervos bioelétricos (NACHMANSOHN, 1977). Glicose e seus metabólitos estão associados com a função do ATP de formar um ciclo que controla as rápidas mudanças de permeabilidade de membrana e permite o fluxo de íons através de portões dinâmicos dentro do citoplasma e mitocôndria da célula.

Como estas mudanças bioquímicas não se estendem, a reação normal do corpo é um aumento do fluxo sanguíneo local para restaurar o Ph normal do tecido. Se as mudanças químicas excedem a capacidade corporal de retornar ao estado basal, as mudanças na glicose e relação lactato/glicose podem resultar em aumento da formação de ATP pelo metabolismo celular (TSENG *et al*, 2005).

A eletroestimulação é comparável ao sistema de comunicação bioelétrico do corpo. Quando a eletroacupuntura é liberada para os canais do corpo, há aumento da circulação, drenagem linfática, remoção de produtos residuais, metabolismo celular e outras formas de semicondução biológica que são similares ao fluxo do Qi. Pesquisas científicas mostram que os resultados não terminam na manipulação do Qi, mas também pelo estímulo neuroelétrico para a expressão gênica de neuropeptídeos. (OMURA, 1989; ULLET; HAN; HAN, 1998).

As contrações musculares que ocorrem durante a eletroacupuntura funcionam como um tipo de exercício e estimulam a liberação de peptídeos opióides endógenos (CHANG *et al*, 1999; LIN; CHANG; CHENG, 2002). Exercícios tem se mostrado efetivos em prevenir o desenvolvimento de diabetes mellitus não-insulino dependente no modelo de rato Otsuka-Long-Evans-Tokushima-Falty (OLETF) e em prevenir depósito de gordura abdominal (SHIMA *et al*, 1996).

Resultados de estudos recentes mostram a forte ligação entre sensibilidade à insulina e exercícios. Os resultados também mostram que o exercício aumenta a secreção de beta-endorfinas e a sensibilidade à insulina através de um aumento no pós-receptor de sinal de insulina relacionado ao IRS-1 associado ao passo PI-3 quinase que leva à translocação de GLUT 4 e melhora a disponibilidade de glicose em ratos obesos Zucker (SU *et al*, 2005). É possível que a eletroacupuntura, como o exercício, melhore a sensibilidade à insulina.

Já foi previamente mostrado que grandes quantidades de peptídeos opióides endógenos são secretados das glândulas adrenais quando os acupontos Zhongwan são estimulados usando-se eletroacupuntura com 2Hz (LIN; CHANG; CHENG, 2002). Quando uma frequência alta de eletroacupuntura (15Hz) foi aplicada para estimular o acuponto Zhongwan, múltiplas fontes de peptídeos opióides endógenos com melhores efeitos hipoglicemiantes foram descobertos (LIN *et al*, 2004).

Em estudos recentes, insulina causou a liberação de substâncias hepáticas insulino-sensibilizantes do fígado. Nervos parassimpáticos hepáticos tem um papel permissivo na liberação dessas substâncias (GUARINO *et al*, 2004; SADRI *et al*, 2005). Outros pesquisadores defendem que a eletroacupuntura está também envolvida nas ações dos nervos parassimpáticos (BEN; ZHU, 1995; SHIMOJU-KOBAYASHI *et al*, 2004). Os efeitos da eletroacupuntura sobre a função hepática de ratos incluem aumento de proteínas, RNA, fosfolípidos e colesterol, além de redução da peroxidação lipídica e da atividade da lipase (CHAKRABARTI *et al*, 1983).

Chang *et al*, (2006), demonstraram que eletroacupuntura com 15Hz nos acupontos Zusanli bilateral em ratos melhora a tolerância à glicose e reduz os níveis de glicose plasmática. Os efeitos hipoglicemiantes da insulina exógena são aumentados em ratos Wistar normais e em ratos com diabetes induzida por estreptomicina.

Anatomicamente, os acupontos Zusanli localizam-se na face muscular anterior da tíbia próximos aos joelhos e o acuponto Zhongwan na linha média do abdome, próximo ao pâncreas (CHANG *et al*, 1999; ROMITA; SUK; HENRY, 1997; YU, 1998).

A liberação de insulina deve ser mais estimulada por eletroacupuntura no acuponto Zhongwan do que nos acupontos Zusanli bilaterais, teoricamente, para reduzir a glicose plasmática. Entretanto, os acupontos Zusanli induzem maior hipoglicemia do que Zhongwan. A serotonina pode ter um papel neste fenômeno. Além disso, eletroacupuntura com 2 Hz em ambos os acupontos Zusanli induzem uma reação de hipoglicemia mediada pela serotonina e peptídeos opióides endógenos (CHANG *et al*, 2005). A eletroacupuntura deve ser considerada como um método complementar para melhorar a sensibilidade à insulina e/ou aumentar a atividade hipoglicemiante da insulina em ratos.

A MTC assume que a manutenção do balanço entre duas forças (Yin e Yang) é a chave para a boa saúde. Um desequilíbrio entre essas forças pode causar doenças. O equilíbrio pode ser restaurado por vários métodos incluindo exercícios, massagem, acupuntura e ervas. Alívio e séculos de experiência sugerem essa teoria. Hipóteses de que o diabetes pode ser influenciado por acupuntura e uso de ervas existem na literatura chinesa (FENG; LI; PANG, 1997; HU, 1995), porém há pouca comprovação científica da eficácia destes métodos (MO; CHEN; JI, 1996; CHEN; GONG; ZHAI, 1994).

A Associação Americana de Diabetes, em suas recomendações de 2004 (ADA Clinical Practice Recommendations), alerta sobre o uso de terapias não-aprovadas para o tratamento de diabetes e sugere a realização de pesquisas e consensos para caracterizar essas modalidades terapêuticas em termos de segurança e eficácia, utilizando princípios bem estabelecidos de investigação.

A utilização da acupuntura e da eletroacupuntura na estimulação de determinados acupontos, relacionados ao metabolismo energético, com a finalidade de modificar as concentrações de glicose no sangue e tecidos, já foi objetivo de muitas pesquisas, disponíveis nas bases de dados científicos.

Todas essas considerações justificam o presente estudo. O ineditismo da pesquisa assenta-se na utilização solitária da estimulação manual e elétrica dos acupontos Zusanli e Zhongwan, aplicando-se diferentes frequências, todas de mesma intensidade, com vistas à indução de modificações da glicemia e da fluidez do ciclo energético.

## **2 OBJETIVO**

Investigar os efeitos da estimulação manual (acupuntura) e elétrica (eletroacupuntura) nos acupontos Zusanli (E-36) e Zonghwan (RM-12), simultaneamente, sobre a glicose plasmática, lactato plasmático e as concentrações lactato no fígado e rim de ratos saudáveis.

### 3 MÉTODO

Trata-se de um estudo prospectivo, controlado e comparativo entre diferentes grupos de ratos Wistar saudáveis, submetidos aos efeitos da acupuntura e da eletroacupuntura, utilizando diferentes frequências (10 e 100 Hz).

A pesquisa foi realizada de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal obedecendo as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovada pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal do Ceará (CEPA), sob protocolo número 093/07.

#### 3.1 A AMOSTRA

Foram utilizados 48 ratos adultos, machos (*Rattus norvegicus*: var. *albinus*, Rodentia, Mammalia), com peso variando de 270 a 400g (Tabela 22, Apêndice A) da linhagem Wistar, saudáveis e bem nutridos, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará – Faculdade de Medicina, criados e mantidos sob condições ambientais e alimentares semelhantes.

Os animais ficaram hospedados em gaiolas de polipropileno, providas de tampa com grade metálica de aço inoxidável e forradas com maravalhas, alojadas em dependências refrigeradas ( $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ ). Observou-se a alternância dos ciclos claro/escuro a cada 12 horas. Água potável e ração comercial para ratos (Guabi Nutrilabor®, Mogiana Alimentos, São Paulo) foram ofertadas *ad libitum* até 12 horas antes do experimento. A higienização das gaiolas e o exame dos animais foram realizados diariamente pelo técnico responsável.

Os ratos foram previamente aclimatados por um período de 7 dias antes da realização do experimento para minimizar o estresse. Os procedimentos cirúrgicos foram realizados em ambiente refrigerado, no Laboratório de Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Ceará.

### 3.2 PROCEDIMENTO ANESTÉSICO

A anestesia foi obtida pela aplicação, por via intraperitoneal (ip) de uma solução anestésica, contendo cloridrato de Cetamina 90 mg/Kg + Xilazina 10 mg/Kg). Após 5 minutos (tempo para obter o nível anestésico adequado), o animal foi colocado na mesa operatória, em decúbito dorsal. A profundidade anestésica foi avaliada por parâmetros clínicos, como as freqüências respiratória e cardíaca, arritmias, movimentos das narinas ou outros grupos musculares. Dez animais necessitaram de mais anestésico, sendo aplicada metade da dose inicial (Tabela 22, Apêndice A).

### 3.3 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Quarenta e oito ratos foram distribuídos ao acaso em 4 grupos numericamente iguais (n=12). A seguir, os ratos de cada grupo foram redistribuídos em 2 subgrupos numericamente iguais (n = 6):

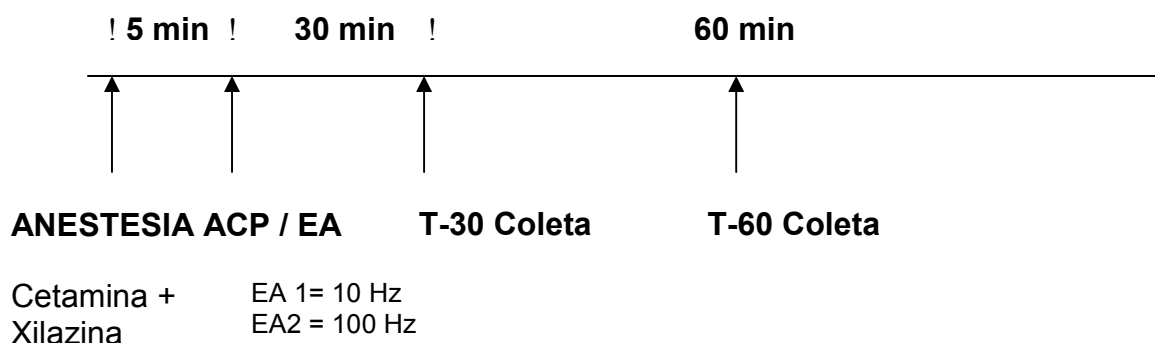
- **Grupo valores basais (GVB):** 12 ratos foram anestesiados, conforme descrito. Decorridos 30 minutos os primeiros 6 animais (subgrupo GVB-T30) foram submetidos à laparotomia, com coleta do pólo superior do rim direito, lobo hepático esquerdo e 3,0 ml de sangue arterial, por punção da aorta abdominal). Após 60 minutos da anestesia, outros 6 animais (GVB-T60) foram submetidos aos mesmos procedimentos (laparotomia com coleta do pólo superior do rim direito, lobo hepático esquerdo e 3,0 ml de sangue arterial, por punção da aorta abdominal).
- **Grupo Experimento (GE1AC):** 12 ratos foram anestesiados, em grupos de 6 animais, conforme descrito, e submetidos à acupuntura manual nos acupontos E-36 bilateral, localizado, no rato (Figura 1, Anexo 1), 5 mm abaixo da cabeça fibular e 2 mm lateral ao tubérculo anterior da fíbula; transitam, nessa região os ramos lateral do nervo sural cutâneo, o ramo cutâneo do nervo safeno e o ramo profundo do nervo peroneal (CHANG *et al*, 2006). A seguir, foi realizado o agulhamento do acupunto RM-12, localizado na linha mediana anterior do abdômen superior, 20 mm abaixo da sincondrose xifo-esternal do rato (Figura 2, Anexo 1). Esta região é inervada pelo ramo



cutâneo anterior do 8º nervo intercostal (CHANG *et al*, 2007). Decorridos 30 minutos as agulhas de todos os animais foram removidas e os primeiros 6 (subgrupo GE1AC-T30) submetidos à laparotomia, com coleta do pólo superior do rim direito, lobo hepático esquerdo e 3,0 ml de sangue arterial, por punção da aorta abdominal. Após 60 minutos da anestesia, os outros 6 animais (GE1AC-T60) foram submetidos aos mesmos procedimentos (laparotomia com coleta do pólo superior do rim direito, lobo hepático esquerdo e 3,0 ml de sangue arterial, por punção da aorta abdominal).

- **Grupo Experimento (GE2EA10)** - 12 ratos foram anestesiados, em grupos de 6 animais, conforme descrito, e submetidos à acupuntura manual nos acupontos E-36 bilateral e RM-12 . A seguir, eletrodos foram conectados às agulhas (E-36 direito e RM-12) e aplicada uma corrente de 10 mA, 10 Hz, pulsos quadrados, durante 30 minutos (Figura 3, Anexo 1). Concluído o período de estimulação elétrica os eletrodos e agulhas foram removidos e os primeiros 6 animais (subgrupo GE2EA10-T30) submetidos à laparotomia, com coleta do lobo hepático esquerdo, pólo superior do rim direito, e 3,0 ml de sangue arterial, por punção da aorta abdominal. Após 60 minutos, os outros 6 animais (GE2EA10-T60) foram submetidos aos mesmos procedimentos de coleta, já descritos.
- **Grupo Experimento (GE3EA100)** - 12 ratos foram anestesiados, em grupos de 6 animais, conforme descrito, e foram submetidos a acupuntura manual nos acupontos E-36 bilateral e RM-12 . A seguir, eletrodos foram conectados às agulhas (E-36 direito e RM-12) e aplicada uma corrente de 10 mA, 100 Hz, pulsos quadrados, durante 30 minutos (Figura 4, Anexo 1). Concluído o período de estimulação elétrica os eletrodos e agulhas foram removidos e os primeiros 6 animais (subgrupo GE2EA100-T30) submetidos à laparotomia, com coleta do lobo hepático esquerdo, pólo superior do rim direito, e 3,0 ml de sangue arterial, por punção da aorta abdominal. Após 60 minutos, os outros 6 animais (GE2EA100-T60) foram submetidos aos mesmos procedimentos de coleta, já descritos.

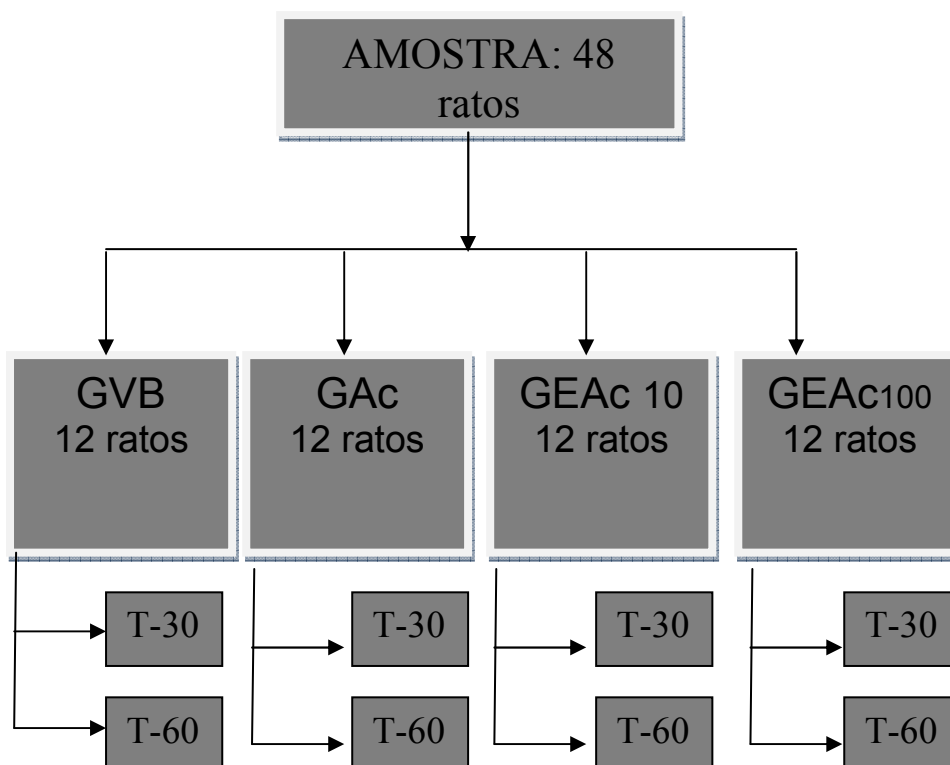
### 3.4 DESENHO DO EXPERIMENTO:



O Quadro 1 apresenta um resumo do experimento (animais, subgrupos e procedimentos)

Grupos	Número de animais, subgrupos e procedimentos	
GVB	12 ratos submetidos à anestesia e ao procedimento cirúrgico. Coleta de sangue e tecidos 30 minutos após o início da anestesia (T30) e 60 (T60) minutos mais tarde.	
GE1AC	12 ratos (subgrupos T30 e T60) submetidos à anestesia e à acupuntura manual dos acupontos E-36 bilateral e RM-12, durante 30 minutos. Após 30 minutos as agulhas foram removidas. A seguir foi realizado cirurgia para coletar as amostras de sangue e tecidos (T30). Novas coletas foram realizadas, passados outros 30 minutos (T60).	
GEAEA10	12 ratos (subgrupos T30 e T60) submetidos à anestesia. Após a indução da anestesia, agulhas foram inseridas nos acupontos E36 bilateral e RM-12. A seguir, um par de eletrodos foi conectado às agulhas inseridas nos acupontos E-36 direito e RM-12. Foi aplicada uma corrente de 10 mA, 10 Hz, pulsos quadrados, durante 30 minutos. Concluído o período de estimulação elétrica os eletrodos e agulhas foram removidos. A seguir foi realizada cirurgia para coleta das amostras de sangue e tecidos (T30). Novas coletas foram realizadas, passados outros 30 minutos (T60).	
GE3EA100	12 ratos (subgrupos T30 e T60) foram submetidos à anestesia. Após a indução da anestesia, agulhas foram inseridas nos acupontos E36 bilateral e RM-12. A seguir, um par de eletrodos foi conectado às agulhas inseridas nos acupontos E-36 direito e RM-12. Foi aplicada uma corrente de 10 mA, 100 Hz, pulsos quadrados, durante 30 minutos. Concluído o período de estimulação elétrica os eletrodos e agulhas foram removidos. A seguir foi realizada cirurgia para coleta das amostras de sangue e tecidos (T30). Novas coletas foram realizadas, passados 30 minutos (T60).	
GVB = Grupo valores basais GE1AC = Grupo Acupuntura	GE2EA10 = Grupo eletroacupuntura 10 GE3EA100 = Grupo eletroacupuntura 100	
<b>QUADRO 1 – Grupos, subgrupos, número de animais e procedimentos</b>		

### 3.5 DISTRIBUIÇÃO DA AMOSTRA:



**GVB:** Grupo Valores Basais (Controle) (anestesia)

**GAc:** Grupo Acupuntura (anestesia+acupuntura)

**GEAc10:** Grupo Eletroacupuntura 10 (anestesia+eletroacupuntura 10 Hz)

**GEAc100:** Grupo Eletroacupuntura 100 (anestesia+eletroacupuntura 100 Hz)

**T-30:** tempo decorrido entre o início da anestesia e a primeira coleta (30 minutos)

**T-60:** tempo decorrido entre o início da anestesia e a segunda coleta (60 minutos)

### 3.6 COLETA DO MATERIAL PARA ANÁLISE

Amostras de sangue arterial e de tecidos (fígado e rim) foram coletadas nos tempos T30 e T60, ou seja, ao término da sessão de acupuntura/ eletroacupuntura e 30 minutos mais tarde; no grupo valores basais (GVB) as amostras foram coletadas 30 minutos após a obtenção do efeito anestésico. Após as coletas, ainda sob efeito anestésico adequado, os animais foram sacrificados por dessangramento.

A coleta de sangue (3,0 ml) foi feita por punção da aorta abdominal, utilizando-se agulhas inoxidáveis G-23. Logo depois da coleta, o sangue foi colocado em tubos de ensaios, com capacidade para 10 ml, contendo 5ml de ácido perclórico 0,75M e imerso em gelo no interior de um recipiente de isopor. A imersão neste

ácido provoca inativação e precipitação rápida das proteínas para que possam ser removidas por centrifugação a 2000 rpm por 10 minutos. Após a centrifugação desprezou-se o precipitado e colocou-se o sobrenadante (extrato ácido) em tubos de ensaio de vidro de 10ml, previamente pesados. Os tubos foram novamente pesados, obtendo-se, desta maneira o volume ácido. A seguir, 2 gotas de um indicador de pH universal foram adicionadas ao volume ácido juntamente com uma solução de hidróxido de potássio à 20% até que o pH ficasse entre 7,0 e 8,0. Os tubos foram então repesados e centrifugados à 2000 rpm durante 10 minutos. O sobrenadante, agora extrato neutro, foi transferido para outro tubo de ensaio e utilizado para análise dos metabólitos por método espectrofotométrico. As dosagens dos metabólitos foram realizadas, no máximo, em até duas semanas. As amostras permaneceram congeladas e mantidas a  $-20^{\circ}\text{C}$ , até a realização dos ensaios.

Durante a coleta foram retirados o pólo superior do rim direito e o lobo hepático esquerdo de cada rato, separando-se um fragmento de aproximadamente  $1,0\text{ cm}^3$  de volume de cada órgão. Após a coleta, os fragmentos de rim e fígado foram lavados com soro fisiológico gelado ( $4^{\circ}\text{C}$ ) para remoção dos resquícios de sangue, e imediatamente prensados e mergulhados em nitrogênio líquido a cerca de  $-90^{\circ}\text{C}$ . Esta técnica baixa a temperatura das amostras de tecido a aproximadamente  $-80^{\circ}\text{C}$  em um tempo inferior a 0,1 segundo. O tecido foi triturado e transformado em pó com auxílio de gral e pistilo de porcelana, sempre acrescentando nitrogênio líquido para manter o tecido congelado (WILLIAMSON; LUND; KREBS, 1967). Da mesma maneira como feito com o sangue, cada amostra de tecido em forma de pó foi colocada em tubos de ensaio, com capacidade para 10ml, contendo 5ml de ácido perclórico 0,75M e imerso em gelo no interior de um recipiente de isopor e centrifugado a 2000 rpm por 10 minutos. Seguiram-se os mesmos passos como feito com o sangue, até a análise dos metabólitos por espectrofotometria.

### 3.7 O estudo

Os ratos de cada grupo foram pesados individualmente, ao início do experimento, para permitir o cálculo dos volumes das drogas anestésicas (Tabela 22, Apêndice A). Os animais receberam água e ração *ad libitum* até o início do experimento. Após a injeção intraperitoneal da solução anestésica, os animais permaneceram anestesiados durante todo experimento. Apenas 10 ratos necessitaram de uma dose adicional de anestésicos, após 45 minutos da aplicação inicial (Tabela 22, Apêndice A).

Tendo em vista a uniformidade do procedimento, utilizou-se um protocolo relacionando as várias etapas do experimento, conforme descrição detalhada que se segue:

- a) indução da anestesia e colocação do animal em decúbito dorsal, com as patas dianteiras e traseiras fixadas à prancha por tiras de esparadrapo;
- b) epilação da região adjacente à crista tibial, seguida por antisepsia com solução de polivinilpirrolidona-iodo;
- c) a acupuntura manual foi realizada inserindo-se agulhas metálicas de aço inoxidável de 0,25mm de diâmetro nos acupontos E-36, bilateralmente; uma terceira agulha foi inserida no ponto RM-12. Assim, cada agulha foi inserida aproximadamente 3 mm na massa muscular, 5 mm abaixo da cabeça fibular e 2 mm lateral ao tubérculo anterior da fíbula, no músculo tibial do membro inferior dos ratos, bilateralmente (HUANG et al., 2006; LAO et al., 2006) e no acuponto RM-12, localizado na linha mediana anterior do abdômen superior, 20 mm abaixo da sincondrose xifo-esternal do rato (YIN et al., 2008) (Figuras 1 e 2, Anexo 1);
- d) transcorridos 30 minutos, as agulhas foram removidas e os ratos do subgrupo T30 foram submetidos à laparotomia, com coleta do fígado (Figura 8, Anexo 1), rim direito (Figura 9, Anexo 1), e 3,0 ml de sangue arterial, por punção da aorta abdominal (Figuras 6 e 7, Anexo 1). Após 60 minutos de início do procedimento procedeu-se a coleta de material no subgrupo T60, como descrito acima;
- e) nos ratos submetidos à eletroacupuntura, após a inserção das agulhas, foram conectados os eletrodos, fixados as agulhas por garras tipo jacaré (Figuras 3

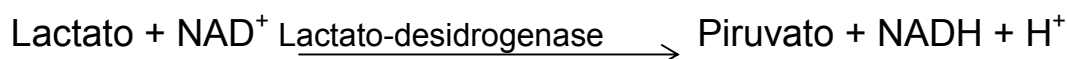
- e 4, Anexo1), sendo então aplicada uma corrente de 10 mA, 10 Hz (Grupo EAc10) ou de 100 Hz (GEAc100), pulsos quadrados, durante 30 minutos, com a utilização do eletroestimulador portátil (Figura 5, Anexo 1). Concluído o período de estimulação elétrica os eletrodos e agulhas foram removidos e os ratos do subgrupo T30 foram submetidos à laparotomia, com coleta do lobo hepático esquerdo, rim direito, e 3,0 ml de sangue arterial, por punção da aorta abdominal. Após 60 minutos de início do procedimento procedeu-se a coleta de material no subgrupo T60, como descrito acima;
- f) nos ratos do grupo GVB, a anestesia foi aplicada da maneira descrita; transcorridos 30 minutos os ratos do subgrupo T30 foram submetidos à laparotomia, com coleta do lobo hepático esquerdo, rim direito, e 3,0 ml de sangue arterial, por punção da aorta abdominal. Após 60 minutos de início do procedimento procedeu-se a coleta de material no subgrupo T60, como descrito acima;
- g) Após as coletas, ainda sob efeito anestésico adequado, os animais foram sacrificados por dessangramento.

### 3.8 ANÁLISES LABORATORIAIS

#### 3.8.1 Determinação do L-(+)-lactato

As concentrações de lactato foram determinadas no fígado, rim e sangue conforme o método de HOHORST (1963).

*Seqüência da reação:*



O equilíbrio da reação ocorre no lado do lactato e  $\text{NAD}^+$ . Contudo, para garantir a completa conversão do lactato, devem ser removidos os produtos da reação. Por intermédio de uma reação alcalina são aprisionados prótons; o piruvato

reage com hidrato de hidrazina na solução tampão, formando piruvato de hidrazona e, além disso, usa-se um grande excesso de  $\text{NAD}^+$  e enzima para se obter rapidamente um ponto final da reação. Como a lactato-desidrogenase reage somente com o L-(+)-lactato, tal fato confere especificidade para o ensaio.

*Solução tampão para o ensaio:*

40ml de Tris 0,2M

05ml de hidrato de hidrazina 100%

25mg de EDTA

água destilada até completar 100ml

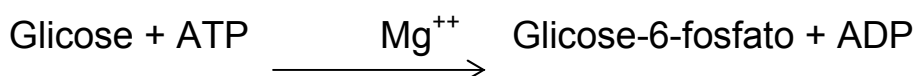
O pH da solução foi ajustado com ácido hidroclicóric 5M para 9,5. Esta solução pode ser estocada a 4 graus centígrados por até duas semanas. No início do ensaio, 1ml de  $\text{NAD}^+$  1% foi adicionado a cada 10ml de solução tampão. Em cada cubeta o volume total foi de 2ml (0,2ml da amostra neutralizada + 0,8ml de água destilada + 1ml de solução tampão contendo  $\text{NAD}^+$  1%). Todas as cubetas foram lidas a 340nm antes e 35 e 45 minutos após adição de 0,02ml de lactato-desidrogenase.

### 3.8.2. Determinação da D-glicose

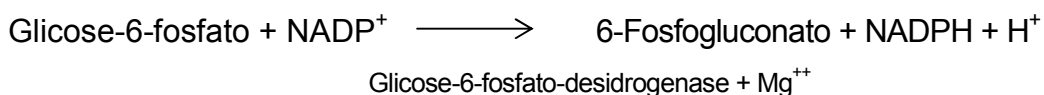
A glicose foi determinada seguindo o método descrito por SLEIN (1963).

*Seqüência da reação:*

a) Reação auxiliar



b) Reação indicadora



Com o pH 7,5 o equilíbrio da reação indicadora é desviado para a direita, o que garante o término completo de ambas as reações, uma vez que a glicose-6-fosfato formada na reação anterior é rapidamente usada na reação seguinte. Ainda que a hexoquinase catalise a fosforilação de vários outros monossacarídeos, a especificidade do ensaio consiste em a glicose-6-fosfato-desidrogenase (G<sub>6</sub>PD) só reagir com a glicose-6-fosfato, não o fazendo com outras hexoses e pentoses.

*Solução tampão para o ensaio:*

20ml de tampão Tris 0,1M, pH 8,0

02ml de cloreto de magnésio 0,1M

02ml de ATP 0,01M

02ml de NAD<sup>+</sup> 1%

0,13ml de G<sub>6</sub>PD (1mg/ml)

Esta solução foi renovada para cada ensaio. Cada cubeta tinha um volume total de 2ml (=0,1ml da amostra neutralizada + 0,9ml de água destilada + 1ml da solução tampão). A cubeta controle continha também 2ml (=1ml de água destilada + 1ml da solução tampão). Todas as cubetas foram lidas a 340nm antes, e 10 e 15 minutos após adição de 0,01ml de hexoquinase.

### **3.8.3. Cálculo dos metabólitos**

Todos os cálculos dos metabólitos se baseiam nas alterações de densidade óptica, medidas a 340nm nas amostras das cubetas após adição da enzima e subtraídas das mudanças inespecíficas que podem ocorrer nas cubetas de controle.



*Então:*

**Diferença de densidade óptica (DDO) = alterações da absorbância da amostra na cubeta – alterações da absorbância na cubeta controle**

Uma vez que o coeficiente molar de extinção de NADH é  $6,22\text{cm}^2/\text{micromol}$ , a quantidade de substrato na cubeta é igual a:  $(\text{DDO}/6,22) \times$  volume total da cubeta. Este resultado é então multiplicado por um fator de diluição para cada amostra, resultando na concentração do substrato.

**Micromol do metabólito/ml de sangue ou g de tecido hepático ou renal =**  
**(peso de sangue ou tecido +  $\text{HClO}_4$ /peso de sangue ou tecido) x (peso**  
**extrato neutro/peso extrato ácido) x (volume total da cubeta/volume**  
**extrato neutro na cubeta) x (DDO/6,22)**

### **3.9 MATERIAL E EQUIPAMENTO UTILIZADO:**

- **Agulhas:** Agulhas de acupuntura, esterilizadas, descartáveis, de aço inoxidável, medindo 0,25 mm de diâmetro e 30 mm de comprimento, marca Hwato, produzidas na China e importadas por Mr. Ma Comércio Exportação e Importação Ltda (São Paulo – SP).
- **Aparelho de eletroacupuntura:** modelo EL 608 (NKL Produtos Eletrônicos, Brusque, Santa Catarina, Brasil), capaz de gerar estímulos elétricos pulsados (pulso assimétrico balanceado, desacoplado por transformador, com formato retangular / exponencial invertido, com frequência variável de 2 a 100 Hz e largura de 600-200 microssegundos), de baixa intensidade (10 mA) e com temporização automática (Figura 5, Anexo1).

### 3.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para todas as variáveis, realizou-se uma análise descritiva dos dados onde foram determinadas as curvas de normalidade aplicando-se o teste de Kolmogorov-Smirnov e calculados a média amostral e o erro padrão da média (E.P.M). Tem-se:

$$E.P.M. = \frac{s}{\sqrt{n}}, \text{ onde } s \text{ é o desvio padrão amostral e } n \text{ o tamanho da amostra.}$$

ANOVA com comparações *post hoc* (teste de Tukey-Kramer) foi utilizada para comparações múltiplas entre os subgrupos (T-30 e T-60) do GVB e os subgrupos GAc, GEAc10 e GEAc100 (diferentes animais em momentos diferentes). Quando os dados obtidos não atendiam os critérios de normalidade, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis / Dunn. Para as comparações entre o GVB e os demais grupos utilizou-se o teste de Dunnett.

Os cálculos estatísticos foram realizados utilizando-se o programa de análise estatística *GraphPad Prism*® versão 5.00 para *Windows*, *GraphPad Software*, *San Diego, Califórnia, U.S.A.*, [www.graphpad.com](http://www.graphpad.com).

Os resultados foram apresentados sob forma de tabelas e gráficos. A significância estatística foi fixada em 0,05% ( $p < 0,05$ ), assinalando-se com o símbolo [\*] os valores significantes nas comparações inter-grupais.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. No sangue

#### 4.1.1 Glicose

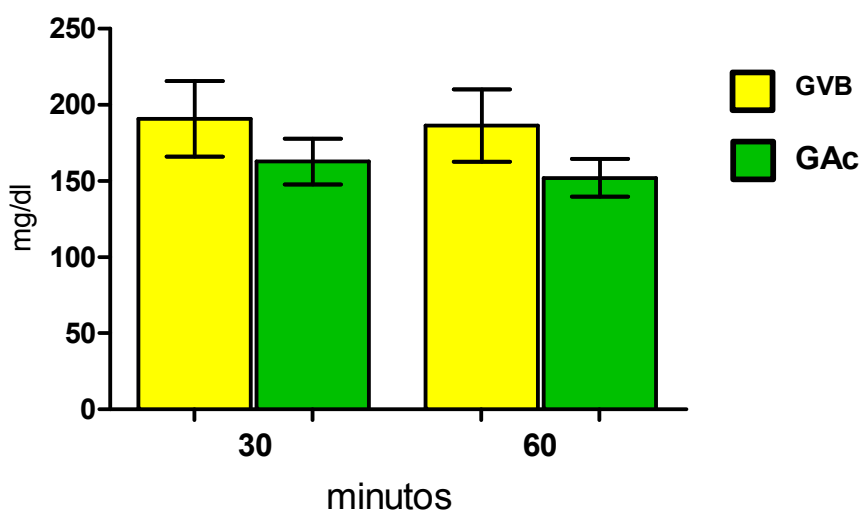
##### 4.1.1.1 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de glicose no sangue de ratos submetidos à Acupuntura manual

Não foram encontradas diferenças significantes nas concentrações de glicose no sangue dos ratos, comparando-se o Grupo Acupuntura (GAc), ao Grupo Valores Basais (GVB) em nenhum dos tempos estudados.

**TABELA 1** - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de glicose (mg/dl) no sangue de ratos submetidos à acupuntura manual

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
Grupo Valores Basais (GVB)	190,80±24,88	186,30±23,76
Grupo Acupuntura (GAc)	162,80±15,00	152,10±12,42

Teste de ANOVA / Tukey, em 12 ratos (Média±DP)



**FIGURA 5.1** - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de glicose (mg/dl) no sangue de ratos submetidos à acupuntura manual. Não foram encontradas diferenças significantes nas concentrações de glicose no sangue dos ratos, comparando-se o Grupo Acupuntura (GAc), ao Grupo Valores Basais (GVB) em nenhum dos tempos estudados. Teste de ANOVA / Tukey, em 12 ratos (Média±DP).

#### 4.1.1.2 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de glicose no sangue de ratos submetidos à Eletroacupuntura (10 Hz)

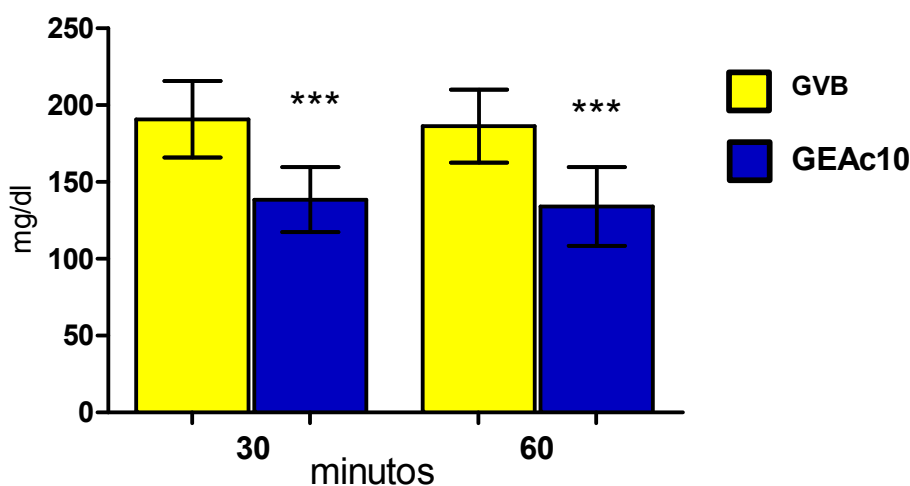
Ocorreu redução significativa ( $p < 0,001$ ) nas concentrações de glicose no GEAc10 após 30 (T30) e 60 minutos (T60) do início do experimento, comparado ao Grupo Valores Basais (GVB).

**TABELA 2** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de glicose (mg/dl) no sangue de ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
Grupo Valores Basais (GVB)	190,80±24,88	186,30±23,76
Grupo Eletroacupuntura 10 Hz (GEAc10)	138,50±21,09 ***	134,10±25,65 ***

Teste de ANOVA / Tukey, em 12 ratos (Média±DP)

\*\*\*  $p < 0,001$  comparado ao respectivo controle



**FIGURA 5.2** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de glicose (mg/dl) no sangue de ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos). Ocorreu redução significativa ( $p < 0,001$ ) nas concentrações de glicose no GEAc10 após 30 (T30) e 60 minutos (T60) do início do experimento, comparado ao Grupo Valores Basais (GVB). Teste de ANOVA / Tukey, em 12 ratos (Média±DP). \*\*\*  $p < 0,001$  comparado ao respectivo controle.

#### 4.1.1.3 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de glicose no sangue de ratos submetidos à Eletroacupuntura (100 Hz)

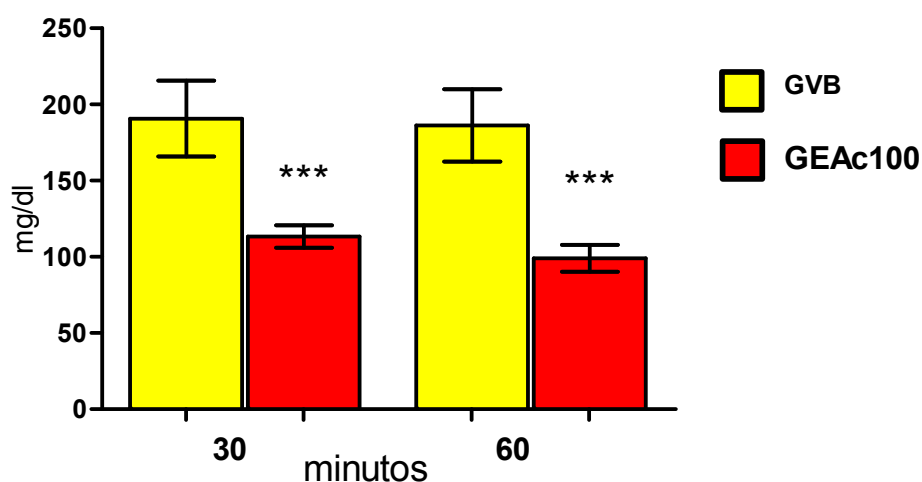
Ocorreu redução significativa ( $p < 0,001$ ) nas concentrações de glicose no GEAc100 após 30 (T30) e 60 minutos (T60) do início do experimento, comparado ao Grupo Valores Basais (GVB).

**TABELA 3** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de glicose (mg/dl) no sangue de ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
<b>Grupo Valores Basais (GVB)</b>	190,80±24,88	186,30±23,76
<b>Grupo Eletroacupuntura 100 Hz (GEAc10)</b>	113,40±7,37 ***	99,17±8,79 ***

Teste de ANOVA / Tukey, em 12 ratos (Média±DP)

\*\*\*  $p < 0,001$  comparado ao respectivo controle



**FIGURA 5.3** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de glicose (mg/dl) no sangue de ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos). Ocorreu redução significativa ( $p < 0,001$ ) nas concentrações de glicose no GEAc10 após 30 (T30) e 60 minutos (T60) do início do experimento, comparado ao Grupo Valores Basais (GVB). Teste de ANOVA / Tukey, em 12 ratos (Média±DP). \*\*\*  $p < 0,001$  comparado ao respectivo controle.

#### 4.1.2 Desidrogenase láctica (LDH)

##### 4.1.2.1 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de LDH no sangue de ratos submetidos à Acupuntura manual

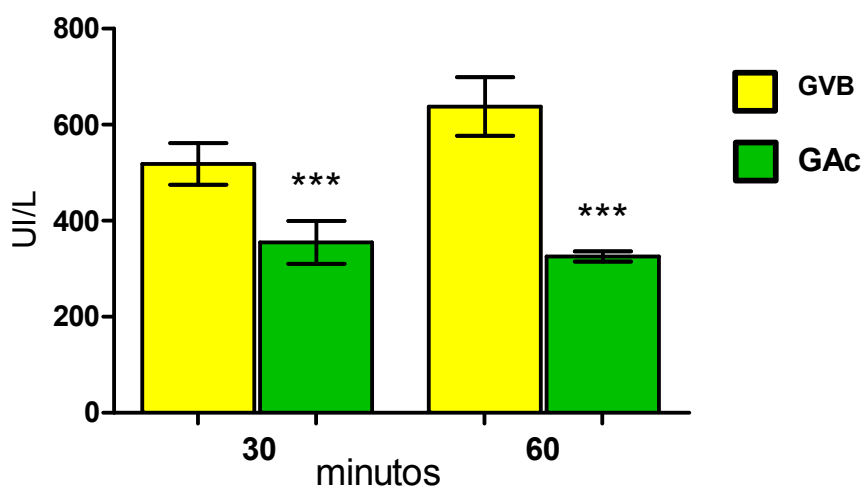
Houve redução significativa ( $p < 0,001$ ) das concentrações de LDH no sangue, comparando-se o Grupo Acupuntura (GAc), ao Grupo Valores Basais (GVB) em todos os tempos estudados.

**TABELA 4** - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de LDH (UI/L) no sangue de ratos submetidos à acupuntura manual

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
<b>Grupo Valores Basais (GVB)</b>	518,20±43,31	637,80±61,01
<b>Grupo Acupuntura (GAc)</b>	354,80±10,54 ***	325,70±10,54 ***

Teste de ANOVA / Tukey, em 12 ratos (Média±DP)

\*\*\*  $p < 0,001$  comparado ao respectivo controle



**FIGURA 5.4** - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de LDH (UI/L) no sangue de ratos submetidos à acupuntura manual. Houve redução significativa ( $p < 0,001$ ) das concentrações de LDH no sangue, comparando-se o Grupo Acupuntura (GAc), ao Grupo Valores Basais (GVB) em todos os tempos estudados. Teste de ANOVA / Tukey, em 12 ratos (Média±DP). Teste de ANOVA / Tukey, em 12 ratos (Média±DP). \*\*\*  $p < 0,001$  comparado ao respectivo controle.

#### 4.1.2.2 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de LDH no sangue de ratos submetidos à Eletroacupuntura (10 Hz)

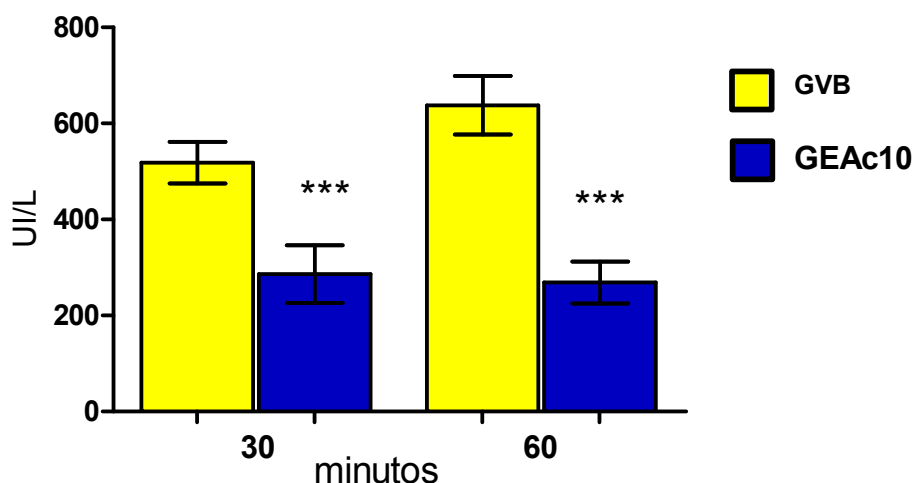
Houve redução significativa ( $p < 0,001$ ) das concentrações de LDH no sangue, comparando-se o Grupo Eletroacupuntura 10 (GEAc10), ao Grupo Valores Basais (GVB) em todos os tempos estudados.

**TABELA 5** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de LDH (UI/L) no sangue de ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
<b>Grupo Valores Basais (GVB)</b>	518,20±43,31	637,80±61,01
<b>Grupo Eletroacupuntura 10 Hz (GEAc10)</b>	286,50±59,86 ***	268,80±43,51 ***

Teste de ANOVA / Tukey, em 12 ratos (Média±DP)

\*\*\*  $p < 0,001$  comparado ao respectivo controle



**FIGURA 5.5** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de LDH (UI/L) no sangue de ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos). Houve redução significativa ( $p < 0,001$ ) das concentrações de LDH no sangue, comparando-se o Grupo Eletroacupuntura 10 (GEAc10), ao Grupo Valores Basais (GVB) em todos os tempos estudados. Teste de ANOVA / Tukey, em 12 ratos (Média±DP). \*\*\*  $p < 0,001$  comparado ao respectivo controle

#### 4.1.2.3 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de LDH no sangue de ratos submetidos à Eletroacupuntura (100 Hz)

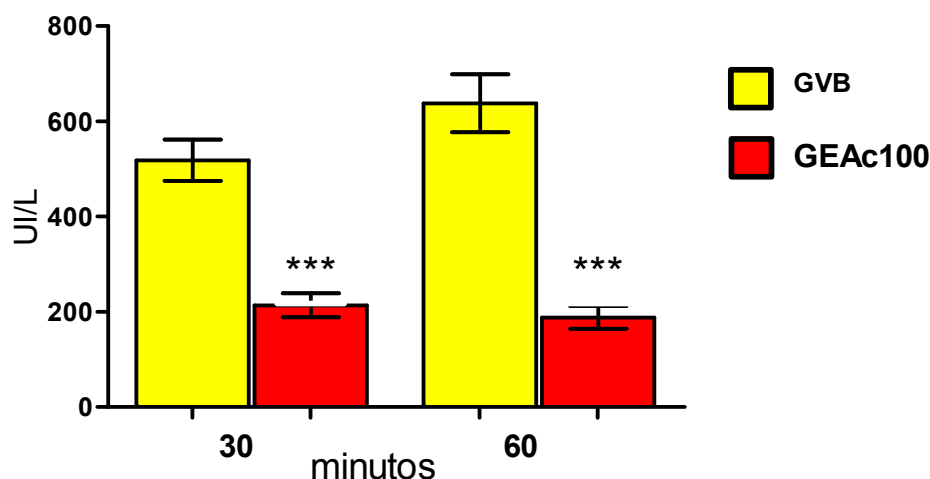
Houve redução significativa ( $p < 0,001$ ) das concentrações de LDH no sangue, comparando-se o Grupo Eletroacupuntura 100 (GEAc100), ao Grupo Valores Basais (GVB) em todos os tempos estudados.

**TABELA 6** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de LDH (UI/L) no sangue de ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
Grupo Valores Basais (GVB)	518,20±43,31	637,80±61,01
Grupo Eletroacupuntura 100 Hz (GEAc100)	213,80±24,85 ***	188,20±24,00 ***

Teste de ANOVA / Tukey, em 12 ratos (Média±DP)

\*\*\*  $p < 0,001$  comparado ao respectivo controle



**FIGURA 5.6** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de LDH (UI/L) no sangue de ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos). Houve redução significativa ( $p < 0,001$ ) das concentrações de LDH no sangue, comparando-se o Grupo Eletroacupuntura 100 (GEAc100), ao Grupo Valores Basais (GVB) em todos os tempos estudados. Teste de ANOVA / Tukey, em 12 ratos (Média±DP). \*\*\*  $p < 0,001$  comparado ao respectivo controle.



### 4.1.3 Lactato

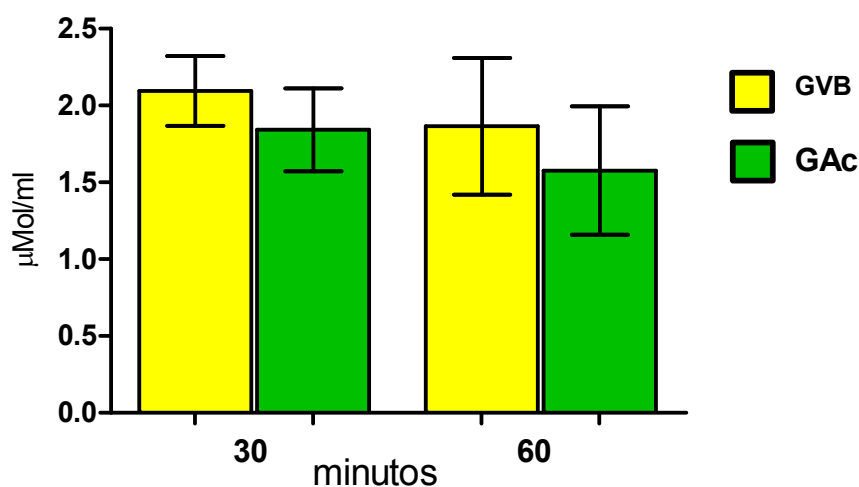
#### 4.1.3.1 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de lactato no sangue de ratos submetidos à Acupuntura manual

Não foram encontradas diferenças significantes nas concentrações de lactato no sangue, comparando-se o Grupo Acupuntura (GAc), ao Grupo Valores Basais (GVB) em nenhum dos tempos estudados.

**TABELA 7** - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de lactato no sangue de ratos submetidos à acupuntura manual

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
Grupo Valores Basais (GVB)	2,10±0,23	1,87±0,44
Grupo Acupuntura (GAc)	1,84±0,27	1,58±0,42

Teste de ANOVA / Tukey, em 12 ratos (Média±DP)



**FIGURA 5.7** - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de lactato no sangue de ratos submetidos à acupuntura manual. Não foram encontradas diferenças significantes nas concentrações de lactato no sangue, comparando-se o Grupo Acupuntura (GAc), ao Grupo Valores Basais (GVB) em nenhum dos tempos estudados. Teste de ANOVA / Tukey, em 12 ratos (Média±DP).

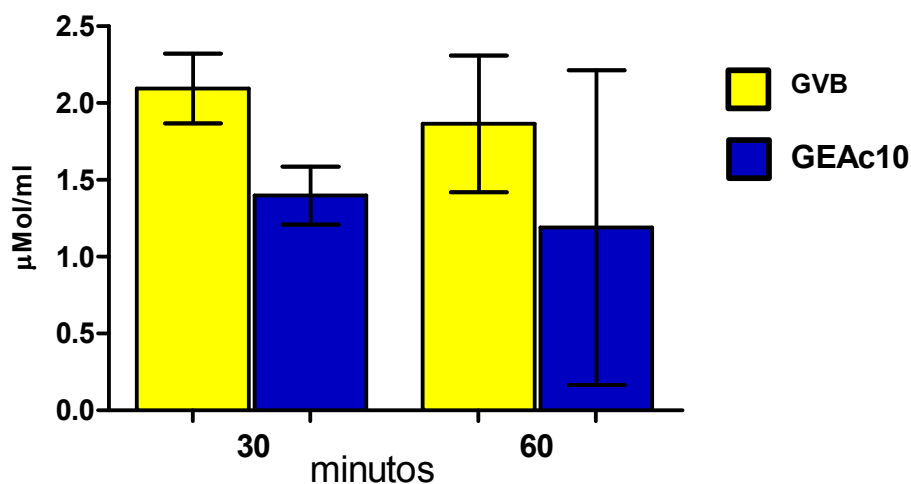
#### 4.1.3.2 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de lactato no sangue de ratos submetidos à Eletroacupuntura (10 Hz)

Não foram encontradas diferenças significantes nas concentrações de lactato no sangue, comparando-se o Grupo Eletroacupuntura 10 (GEAc10), ao Grupo Valores Basais (GVB) em nenhum dos tempos estudados.

**TABELA 8** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no sangue de ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
Grupo Valores Basais (GVB)	2,10±0,23	1,87±0,44
Grupo Eletroacupuntura 10 Hz (GEAc10)	1,40±0,19	1,19±1,02

Teste de ANOVA / Tukey, em 12 ratos (Média±DP)



**FIGURA 5.8** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no sangue de ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos). Não foram encontradas diferenças significantes nas concentrações de lactato no sangue, comparando-se o Grupo Eletroacupuntura 10 (GEAc10), ao Grupo Valores Basais (GVB) em nenhum dos tempos estudados. Teste de ANOVA / Tukey, em 12 ratos (Média±DP).

#### 4.1.3.3 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de lactato no sangue de ratos submetidos à Eletroacupuntura (100 Hz)

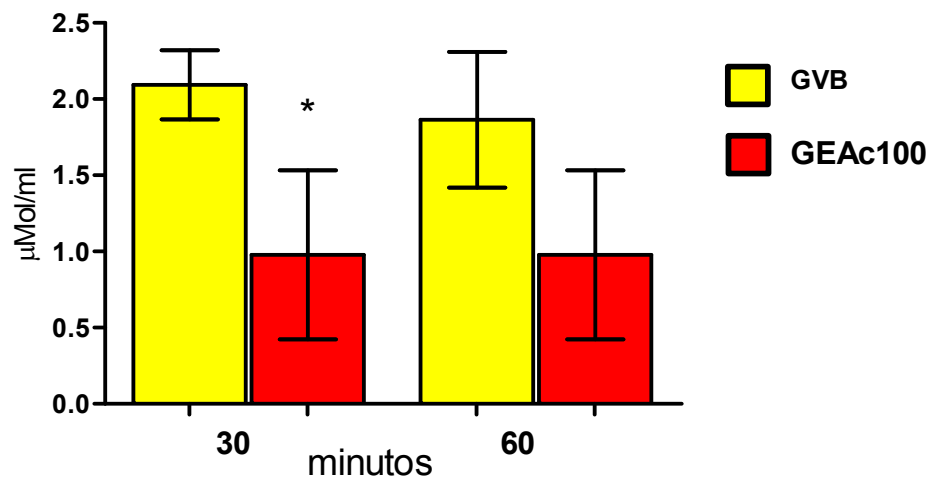
Houve redução significativa ( $p < 0,05$ ) nas concentrações de lactato no sangue, comparando-se o Grupo Eletroacupuntura (GEAc 100), ao Grupo Valores Basais (GVB), no T-30.

**TABELA 9** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no sangue de ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
Grupo Valores Basais (GVB)	2,10±0,23	1,87±0,44
Grupo Eletroacupuntura 100 Hz (GEAc100)	0,98±0,55 *	0,98±0,55

Teste de ANOVA / Tukey, em 12 ratos (Média±DP)

\*  $p < 0,05$  comparado ao respectivo controle



**FIGURA 5.9** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no sangue de ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos). Houve redução significativa ( $p < 0,05$ ) nas concentrações de lactato no sangue, comparando-se o Grupo Eletroacupuntura (GEAc 100), ao Grupo Valores Basais (GVB), no T-30. Teste de ANOVA / Tukey, em 12 ratos (Média±DP). \*  $p < 0,05$  comparado ao respectivo controle.

## 4.2. No fígado

### 4.2.1 Lactato

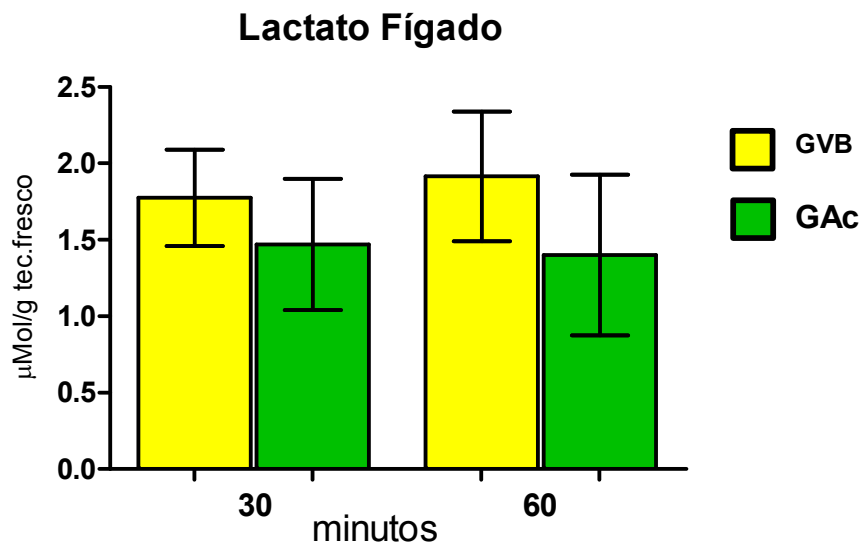
#### 4.2.1.1 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de lactato no fígado de ratos submetidos à Acupuntura manual

Não foram encontradas diferenças significantes nas concentrações hepáticas de lactato, comparando-se o Grupo Acupuntura (GAc), ao Grupo Valores Basais (GVB) em nenhum dos tempos estudados.

**TABELA 10** - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de lactato no fígado de ratos submetidos à acupuntura manual

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
Grupo Valores Basais (GVB)	1,78±0,32	1,92±0,42
Grupo Acupuntura (GAc)	1,47±0,43	1,40±0,52

Teste de ANOVA / Tukey em 12 ratos (Média±DP)



**TABELA 5.10** - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de lactato no fígado de ratos submetidos à acupuntura manual. Não foram encontradas diferenças significantes nas concentrações hepáticas de lactato, comparando-se o Grupo Acupuntura (GAc), ao Grupo Valores Basais (GVB) em nenhum dos tempos estudados. Teste de ANOVA / Tukey em 12 ratos (Média±DP).

#### 4.2.1.2 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de lactato no fígado de ratos submetidos à Eletroacupuntura (10 Hz)

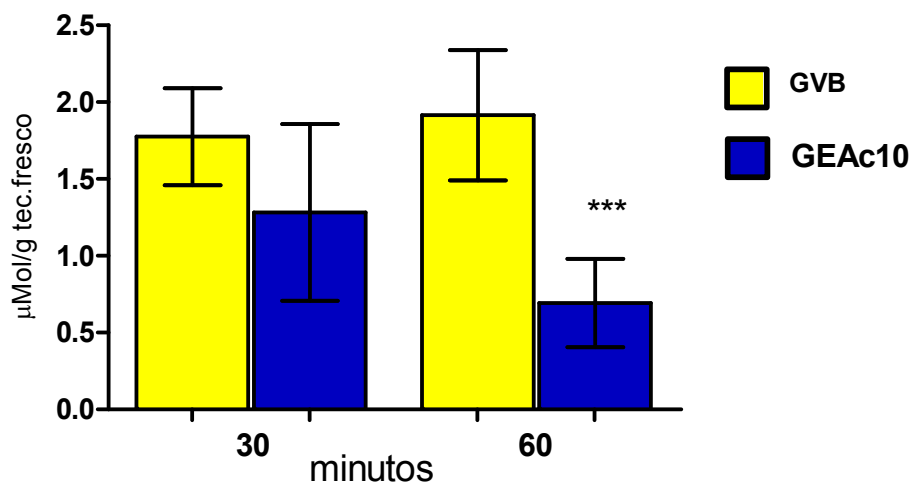
Ocorreu redução significativa ( $p < 0,001$ ) na concentração de lactato hepático GEAc10 após 30 minutos do término da sessão de eletroacupuntura (T-60), comparado ao Grupo Valores Basais (GVB).

**TABELA 11** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no fígado de ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
Grupo Valores Basais (GVB)	1,78±0,32	1,92±0,42
Grupo Eletroacupuntura 10 Hz (GEAc10)	1,28±0,57	0,69±0,29 ***

Teste de ANOVA / Tukey em 12 ratos (Média±DP)

\*\*\*  $p < 0,001$  comparado ao respectivo controle



**FIGURA 5.11** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no fígado de ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos). Ocorreu redução significativa ( $p < 0,001$ ) na concentração de lactato hepático GEAc10 após 30 minutos do término da sessão de eletroacupuntura (T-60), comparado ao Grupo Valores Basais (GVB). Teste de ANOVA / Tukey em 12 ratos (Média±DP). \*\*\*  $p < 0,001$  comparado ao respectivo controle.

#### 4.2.1.3 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de lactato no fígado de ratos submetidos à Eletroacupuntura (100 Hz)

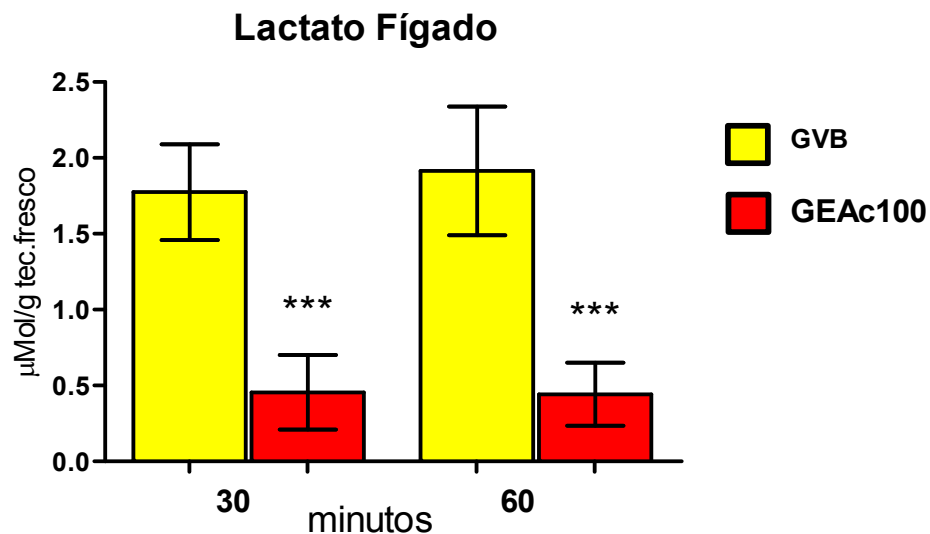
Houve redução significativa nas concentrações de lactato hepático, comparando-se o Grupo Eletroacupuntura (GEAc 100), ao Grupo Valores Basais (GVB), nos dois tempos estudados.

**TABELA 12** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no fígado de ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
Grupo Valores Basais (GVB)	1,78±0,32	1,92±0,42
Grupo Eletroacupuntura 100 Hz (GEAc100)	0,45±0,25 ***	0,44±0,21 ***

Teste de ANOVA / Tukey em 12 ratos (Média±DP).

\*\*\* p<0,001 comparado ao respectivo controle.



**FIGURA 5.12** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no fígado de ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos). Houve redução significativa nas concentrações de lactato hepático, comparando-se o Grupo Eletroacupuntura (GEAc 100), ao Grupo Valores Basais (GVB), nos dois tempos estudados. Teste de ANOVA / Tukey em 12 ratos (Média±DP). \*\*\* p<0,001 comparado ao respectivo controle.

### 4.3. No rim

#### 4.3.1 Lactato

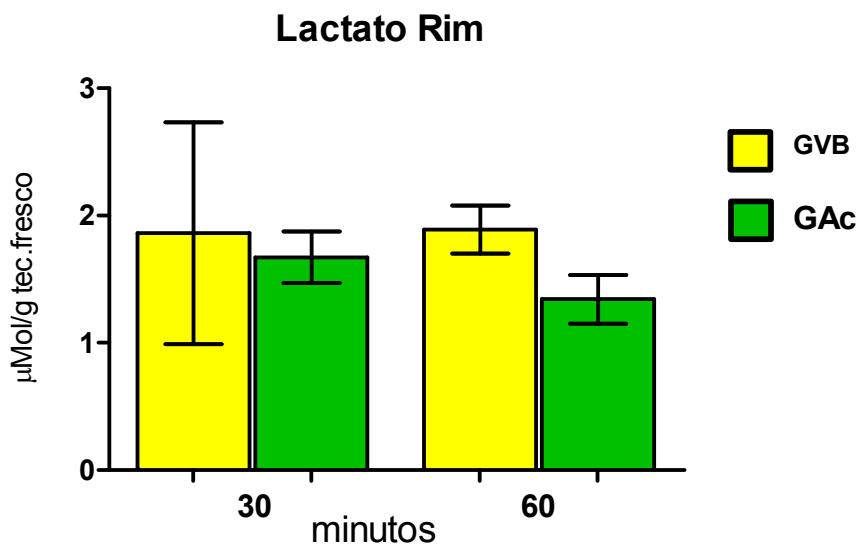
##### 4.3.1.1 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de lactato no rim de ratos submetidos à Acupuntura manual

Não foram encontradas diferenças significantes nas concentrações de lactato no rim, comparando-se o Grupo Acupuntura (GAc), ao Grupo Valores Basais (GVB) em nenhum dos tempos estudados.

**TABELA 13-** Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de lactato no rim de ratos submetidos à acupuntura manual.

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
<b>Grupo Valores Basais (GVB)</b>	1,86±0,87	1,89±0,19
<b>Grupo Acupuntura 10 Hz (GEAc10)</b>	1,67±0,20	1,34±0,19

Teste de ANOVA / Tukey em 12 ratos (Média±DP).  
\*\*\* p<0,001 comparado ao respectivo controle.



**FIGURA 5.13** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no rim de ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos). Não foram encontradas diferenças significantes nas concentrações de lactato, comparando-se o Grupo Acupuntura (GAc), ao Grupo Valores Basais (GVB), em nenhum dos tempos estudados. Teste de ANOVA / Tukey em 12 ratos (Média±DP).

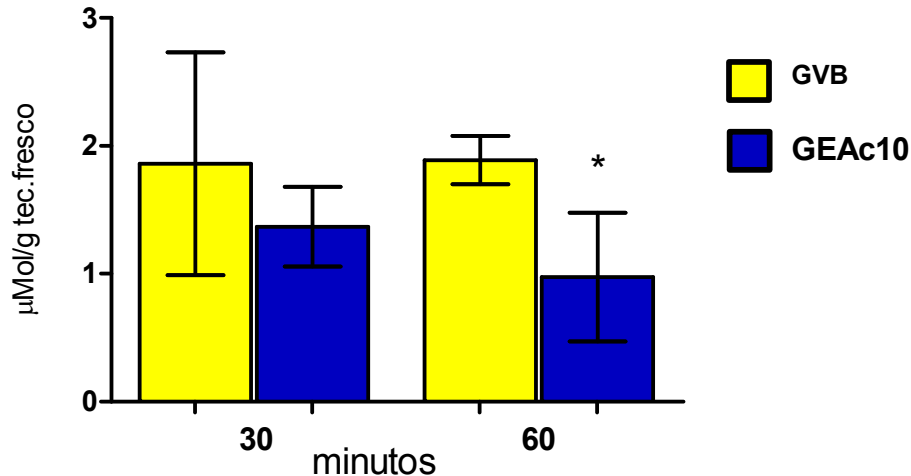
#### 4.3.1.2 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de lactato no rim de ratos submetidos à Eletroacupuntura (10 Hz)

Ocorreu redução significativa ( $p < 0,05$ ) na concentração de lactato no rim, no Grupo Eletroacupuntura 10 (GEAc10) após 30 minutos do término da sessão de eletroacupuntura (T-60), comparado ao Grupo Valores Basais (GVB).

**TABELA 14** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no rim de ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
Grupo Valores Basais (GVB)	1,86±0,87	1,89±0,19
Grupo Eletroacupuntura 10 Hz (GEAc10)	1,37±0,31	0,97±0,50 *

Teste de ANOVA / Tukey em 12 ratos (Média±DP).  
\*  $p < 0,05$  comparado ao respectivo controle



**FIGURA 5.14** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no rim de ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos). Ocorreu redução significativa ( $p < 0,05$ ) na concentração de lactato no rim no GEAc10 após 30 minutos do término da sessão de eletroacupuntura (T-60), comparado ao Grupo Valores Basais (GVB). Teste de ANOVA / Tukey em 12 ratos (Média±DP). \*  $p < 0,05$  comparado ao respectivo controle.



#### 4.3.1.3 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações de lactato no rim de ratos submetidos à Eletroacupuntura (100 Hz)

Ocorreram reduções significantes nas concentrações de lactato no rim comparando-se o Grupo Eletroacupuntura (GEAc 100), ao Grupo Valores Basais (GVB), nos dois tempos estudados (T-30 e T-60).

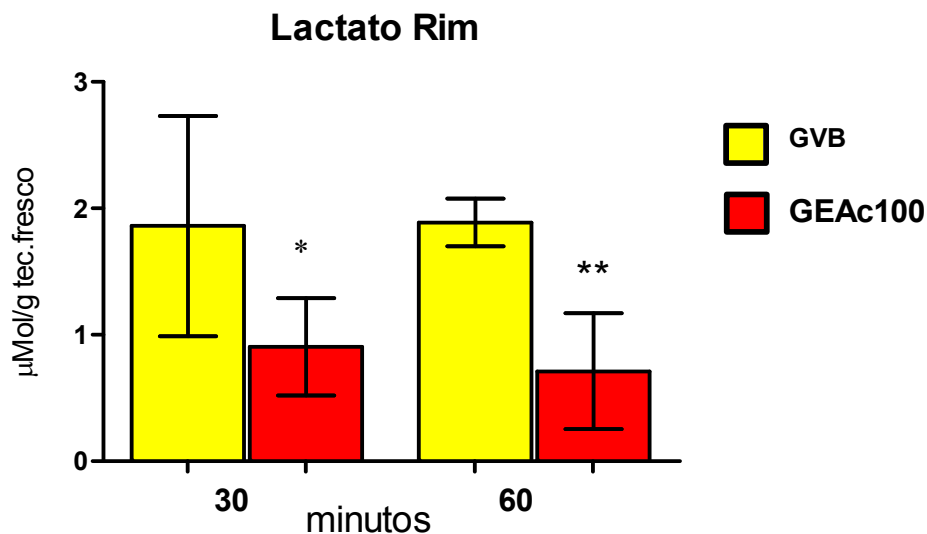
**TABELA 15** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no rim de ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
Grupo Valores Basais (GVB)	1,86±0,87	1,89±0,19
Grupo Eletroacupuntura 100 Hz (GEAc10)	0,91±0,38 *	0,71±0,46 **

Teste de ANOVA / Tukey em 12 ratos (Média±DP).

\* p<0,05 comparado ao respectivo controle

\*\* p<0,01 comparado ao respectivo controle



**FIGURA 5.15** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no rim de ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos). Ocorreram reduções significantes nas concentrações de lactato no rim comparando-se o Grupo Eletroacupuntura (GEAc 100), ao Grupo Valores Basais (GVB), nos dois tempos estudados (T-30 e T-60). Teste de ANOVA / Tukey em 12 ratos (Média±DP). \* p<0,05 comparado ao respectivo controle \*\* p<0,01 comparado ao respectivo controle.

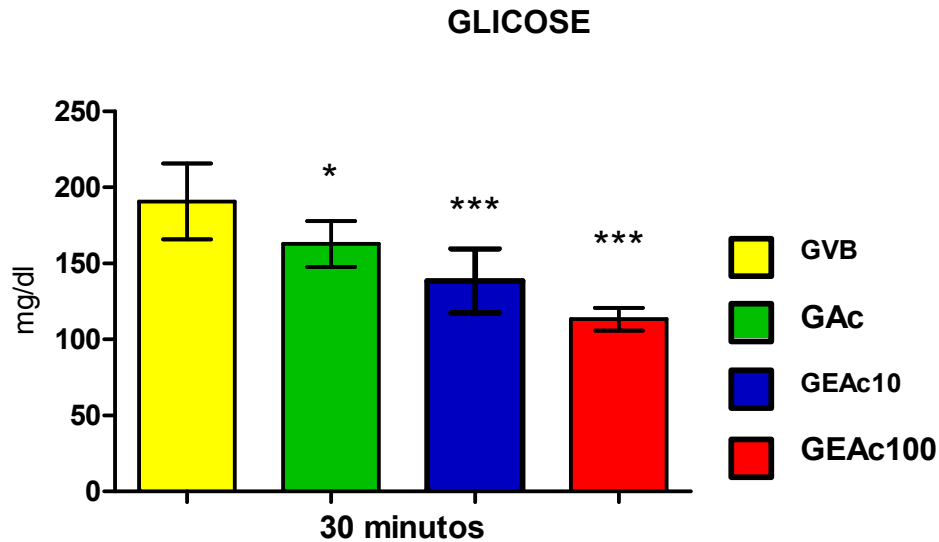
#### 4.4 Concentrações de metabólitos (glicose e lactato) e enzima (LDH) no sangue, comparando-se os grupos GAc, GEAc10 e GEAc100 ao GVB

##### 30 minutos

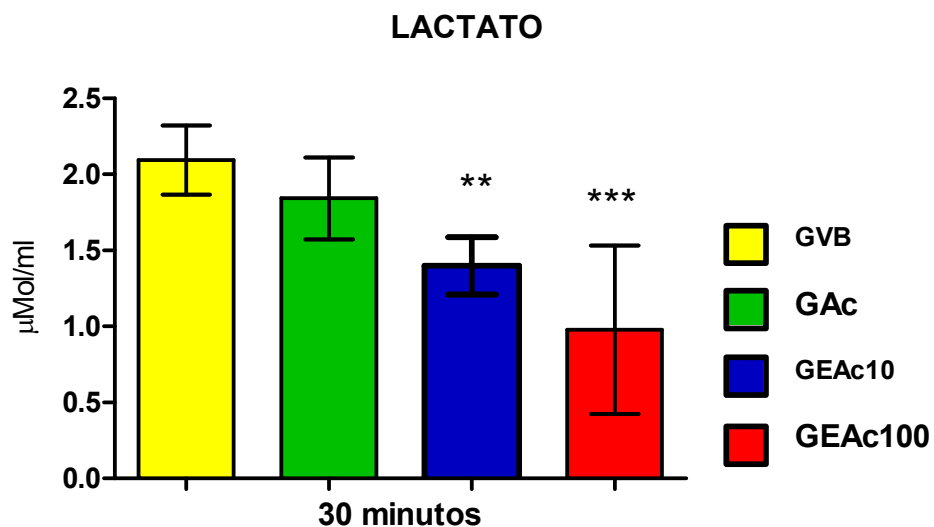
Houve redução significativa das concentrações de glicose, lactato e LHD no sangue dos ratos submetidos à estimulação manual e elétrica (10 e 100 Hz) nos acupontos E-36 e RM-12, nos grupos GAc, GEAc10 e GEAc100, comparados ao GVB, 30 minutos após o início do experimento.

**TABELA 16** - Efeitos do trauma anestésico, da acupuntura e da eletroacupuntura sobre as concentrações de glicose, lactato e LDH no sangue, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30)

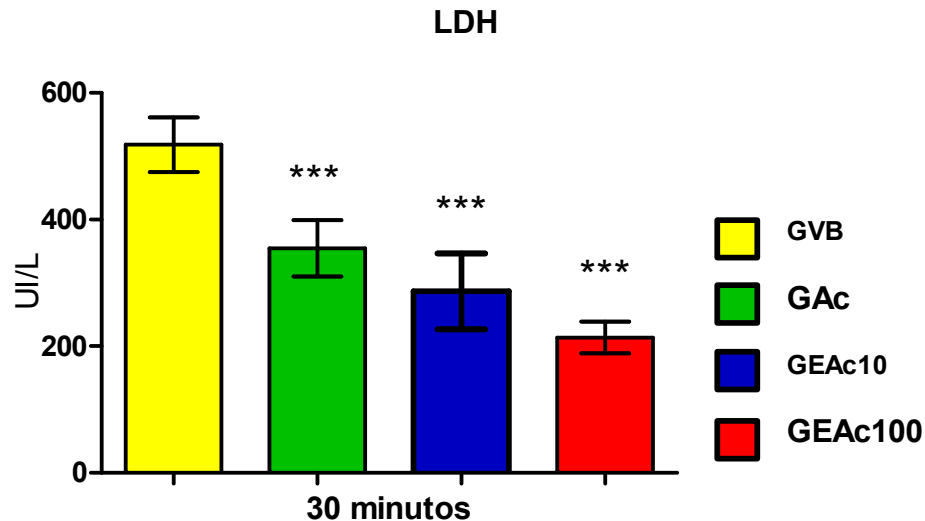
<b>Grupos</b>	<b>Glicose</b>	<b>LDH</b>	<b>Lactato</b>
GVB	190,80±24,88	518,20± 43,31	2,10±0,23
GAc	162,80±15,00 *	354,80±44,66 ***	1,84±0,27
GEAc10	138,50±21,09 ***	286,50±59,86 ***	1,19±1,02 **
GEAc100	113,40±7,37 ***	213,80±24,85 ***	0,98±0,55 ***
<b>Teste de Dunnett (GLICOSE)</b>		<b>Teste de Dunnett (LDH)</b>	
GAc: * p<0,05 comparado ao GVB		GAc: *** p<0,001 comparado ao GVB	
GEAc10: *** p<0,001 comparado ao GVB		GEAc10: *** p<0,001 comparado ao GVB	
GEAc100 *** p<0,001 comparado ao GVB		GEAc100 *** p<0,001 comparado ao GVB	
<b>Teste de Dunnett (LACTATO)</b>			
GEAc10: ** p<0,01 comparado ao GVB		GEAc100 *** p<0,001 comparado ao GVB	



**FIGURA 5.16** - Efeitos do trauma anestésico, da acupuntura e da eletroacupuntura sobre as concentrações de **glicose** no sangue, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30). Houve redução significativa das concentrações de glicose no sangue dos ratos submetidos à estimulação manual e elétrica (10 e 100 Hz) nos acupontos E-36 e RM-12, nos grupos GAc, GEAc10 e GEAc100, comparados ao GVB, 30 minutos após o início do experimento. Teste de Dunnett. \*  $p < 0,05$ , \*\*\* $p < 0,001$  comparado ao GVB.



**FIGURA 5.17** - Efeitos do trauma anestésico, da acupuntura e da eletroacupuntura sobre as concentrações de **lactato** no sangue, em ratos submetidos à estimulação manual e à eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30). Houve redução significativa das concentrações de lactato no sangue dos ratos submetidos à estimulação manual e elétrica (10 e 100 Hz) nos acupontos E-36 e RM-12, nos grupos GEAc10 ( $p < 0,01$ ) e GEAc100 ( $p < 0,001$ ), comparados ao GVB, 30 minutos após o início do experimento. Teste de Dunnett. \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$  comparado ao GVB.



**FIGURA 5.18** - Efeitos do trauma anestésico, da acupuntura e da eletroacupuntura sobre as concentrações de **LDH** no sangue, em ratos submetidos à estimulação manual e à eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30). Houve redução significativa das concentrações de LDH no sangue dos ratos submetidos à estimulação manual e elétrica (10 e 100 Hz) nos acupontos E-36 e RM-12, nos grupos GAc, GEAc10 e GEAc100, comparados ao GVB, 30 minutos após o início do experimento. Teste de Dunnett. \*\*\*,  $p < 0,001$  comparado ao GVB.

### **60 minutos**

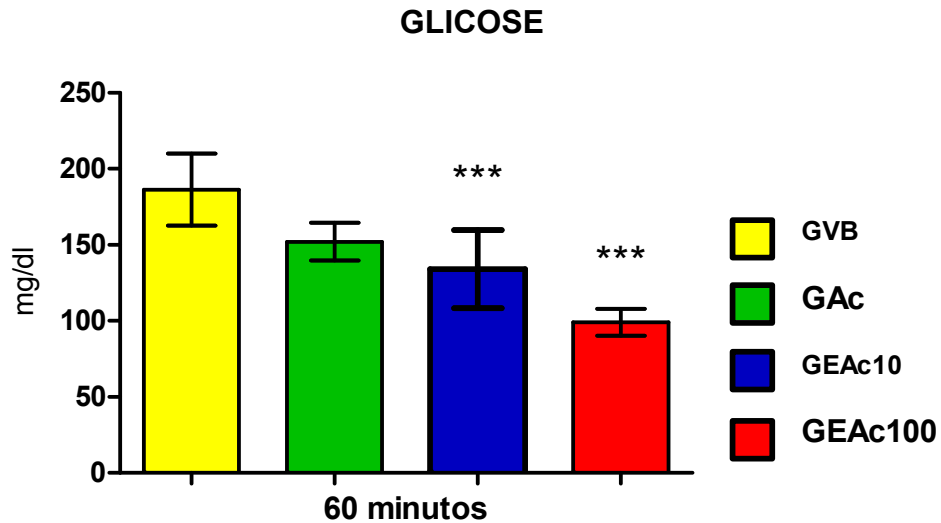
Houve redução significativa das concentrações de glicose e LHD no sangue dos ratos submetidos à estimulação manual e elétrica (10 e 100 Hz) nos acupontos E-36 e RM-12, nos grupos GAc, GEAc10 e GEAc100, comparados ao GVB, 60 minutos após o início do experimento. As concentrações de lactato não foram diferentes.

**TABELA 17** - Efeitos do trauma anestésico, da acupuntura e da eletroacupuntura sobre as concentrações de glicose, lactato e LDH no sangue, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60)

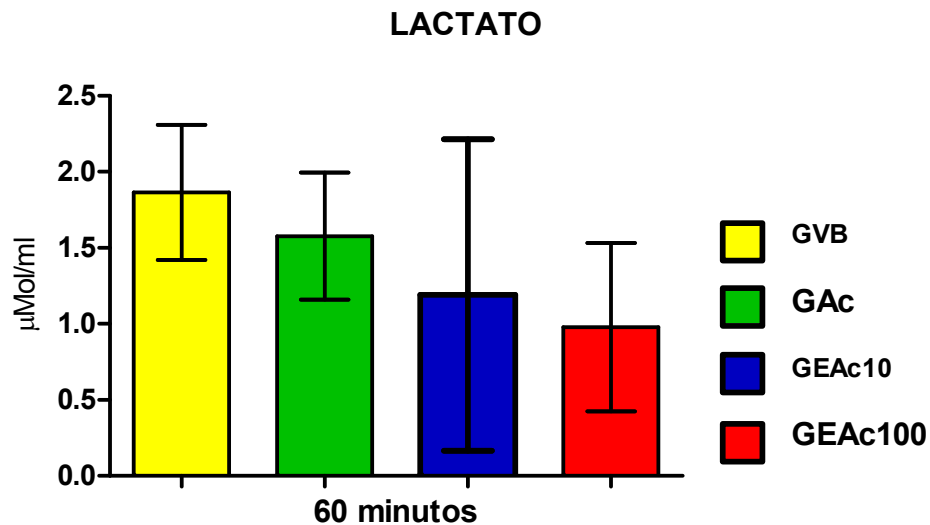
Grupos	Glicose	Lactato	LDH
GVB	186,30±23,76	1,87±0,44	637,80±61,01
GAc	152,10±12,42 *	1,58±0,42	325,70±10,54 ***
GEAc10	134,10±25,65 ***	1,19±1,02	268,80±43,51 ***
GEAc100	99,17±8,79 ***	0,98±0,55	188,20±24,00 ***

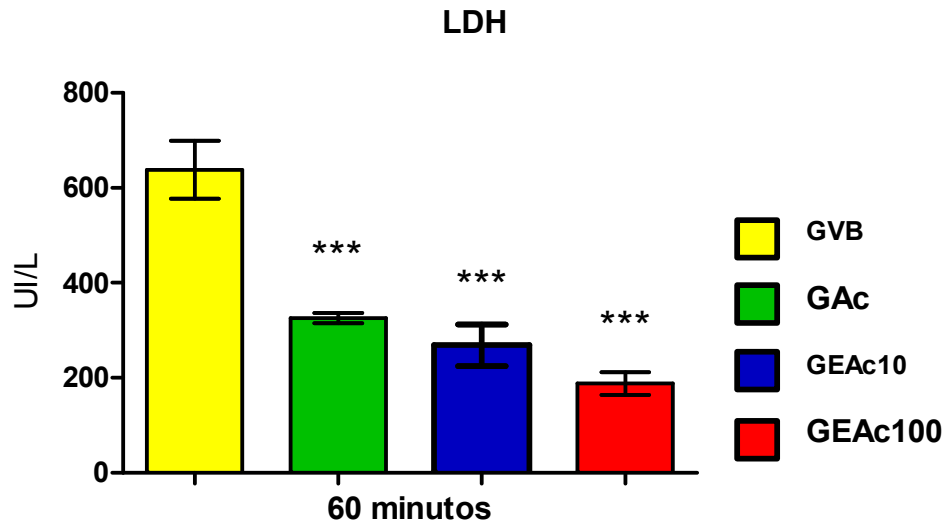
<b>Teste de Dunnett (GLICOSE)</b>	<b>Teste de Dunnett (LDH)</b>
GAc: * $p < 0,05$ comparado ao GVB	GAc: *** $p < 0,001$ comparado ao GVB
GEAc10: *** $p < 0,001$ comparado ao GVB	GEAc10: *** $p < 0,001$ comparado ao GVB
GEAc100 *** $p < 0,001$ comparado ao GVB	GEAc100 *** $p < 0,001$ comparado ao GVB
<b>Teste de Dunnett (LACTATO) = ns</b>	



**FIGURA 5.19** - Efeitos do trauma anestésico, da acupuntura e da eletroacupuntura sobre as concentrações de **glicose**, em ratos submetidos à estimulação manual e à eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60). Houve redução significativa das concentrações de glicose no sangue dos ratos submetidos à estimulação manual e elétrica (10 e 100 Hz) nos acupontos E-36 e RM-12, nos grupos GEAc10 e GEAc100 ( $p < 0,001$ ), comparados ao GVB, 60 minutos após o início do experimento. Teste de Dunnett, \*\*\*  $p < 0,001$  comparado ao GVB.



**FIGURA 5.20** - Efeitos do trauma anestésico, da acupuntura e da eletroacupuntura sobre as concentrações de **lactato**, em ratos submetidos à estimulação manual e à eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60). Não ocorreram alterações significantes das concentrações de lactato no sangue dos ratos submetidos à estimulação manual e elétrica (10 e 100 Hz) nos acupontos E-36 e RM-12, nos grupos GAc, GEAc10 e GEAc100, comparados ao GVB, 60 minutos após o início do experimento. Teste de Dunnett.



**FIGURA 5.21** - Efeitos do trauma anestésico, da acupuntura e da eletroacupuntura sobre as concentrações de **LDH**, em ratos submetidos à estimulação manual e à eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60). Houve redução significativa das concentrações de LDH no sangue dos ratos submetidos à estimulação manual e elétrica (10 e 100 Hz) nos acupontos E-36 e RM-12, nos grupos GAc, GEAc10 e GEAc100 ( $p < 0,001$ ), comparados ao GVB, 60 minutos após o início do experimento. As concentrações de lactato não foram diferentes. Teste de Dunnett, \* $p < 0,05$ , \*\*\* $p < 0,001$  comparado ao GVB.

#### 4.5 Concentrações de lactato no fígado, comparando-se os grupos GAc, GEAc10 e GEAc100 ao GVB

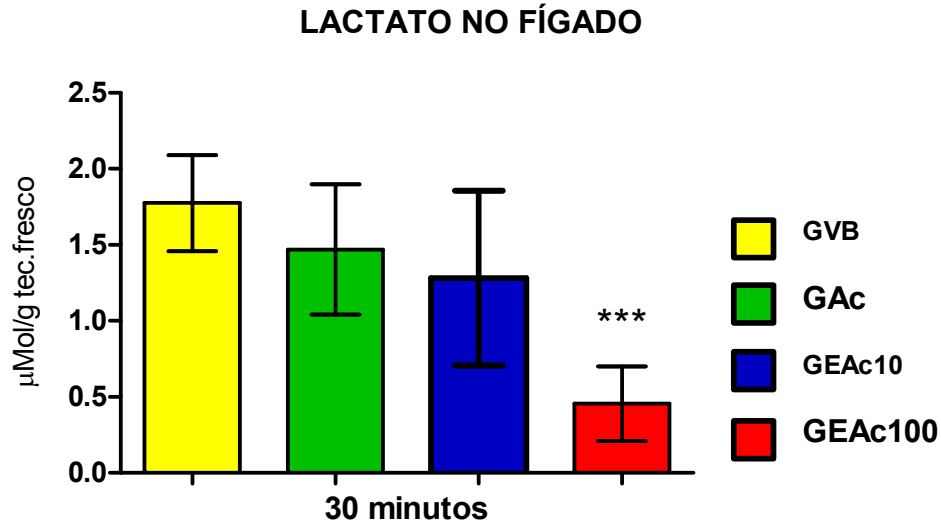
##### 30 minutos

Houve redução significativa das concentrações de lactato ( $p < 0,001$ ) no fígado, nos ratos submetidos a eletroacupuntura de 100 Hz (GEAc100).

**TABELA 18** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no fígado, em ratos submetidos à estimulação manual e à eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30)

GVB	1,78±0,32
GAc	1,47±0,43
GEAc10	1,28±0,57
GEAc100	0,45±0,25 ***

Teste de Dunnett em 24 ratos. GEAc100 \*\*\*  $p < 0,001$  comparado ao GVB



**FIGURA 5.22** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de **lactato** no fígado, em ratos submetidos à estimulação manual e à eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30). Houve redução significativa das concentrações de lactato ( $p < 0,001$ ) no fígado, nos ratos submetidos à eletroacupuntura de 100 Hz (GEAc100). Teste de Dunnett, \*\*  $p < 0,001$  comparado ao GVB.

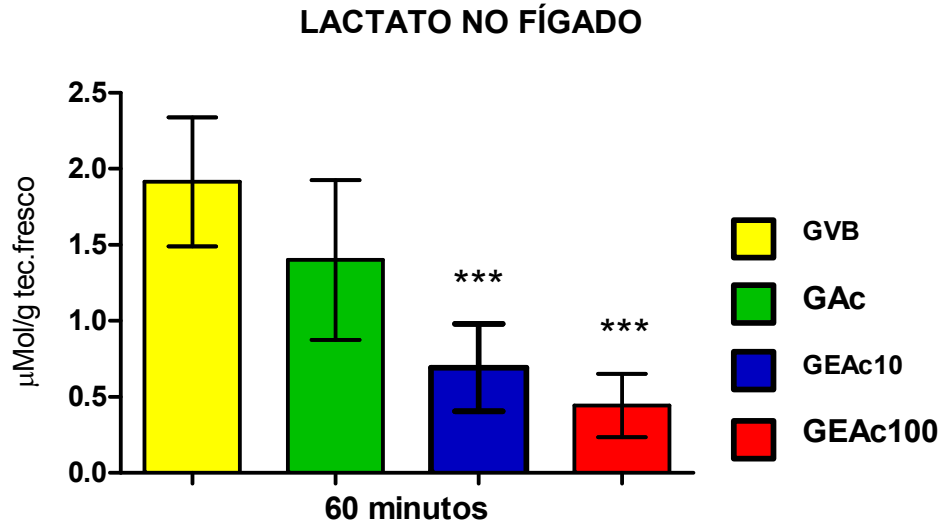
### 60 minutos

Houve redução significativa das concentrações de lactato ( $p < 0,001$ ) no fígado, nos ratos submetidos à eletroacupuntura de 10 Hz (GEAc10) e 100 Hz (GEAc100), no T-60.

**TABELA 19** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no fígado, em ratos submetidos à estimulação manual e à eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60)

GVB	1,92±0,42
GAc	1,40±0,52
GEAc10	0,69±0,29 ***
GEAc100	0,44±0,21 ***

Teste de Dunnett em 24 ratos. GEAc100 \*\*\*  $p < 0,001$  comparado ao GVB  
 GEAc10 \*\*\*  $p < 0,001$  comparado ao GVB



**FIGURA 5.23** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de **lactato** no fígado, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60). Houve redução significativa das concentrações de lactato ( $p < 0,001$ ) no fígado, nos ratos submetidos à eletroacupuntura de 10 Hz (GEAc10) e 100 Hz (GEAc100), no T-60. Teste de Dunnett, \*\*\*  $p < 0,01$  comparado ao GVB.

#### 4.6 Concentrações de lactato no rim, comparando-se os grupos GAc, GEAc10 e GEAc100 ao GVB

##### 30 minutos

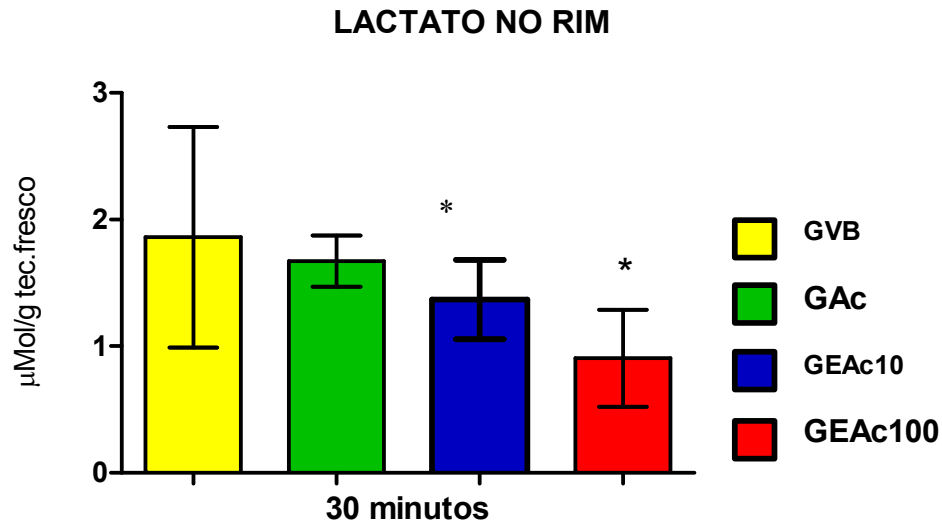
Houve redução significativa das concentrações de lactato ( $p < 0,05$ ) no rim, nos ratos submetidos a eletroacupuntura de 10 Hz (GEAc10) e 100 Hz (GEAc100), no T-30.

**TABELA 20** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no rim, em ratos submetidos à estimulação manual e à eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30)

GVB	1,86±0,87
GAc	1,67±0,20
GEAc10	1,37±0,31 *
GEAc100	0,91±0,38 *

Teste de Dunnett em 24 ratos. GEAc100 \*  $p < 0,05$  comparado ao GVB





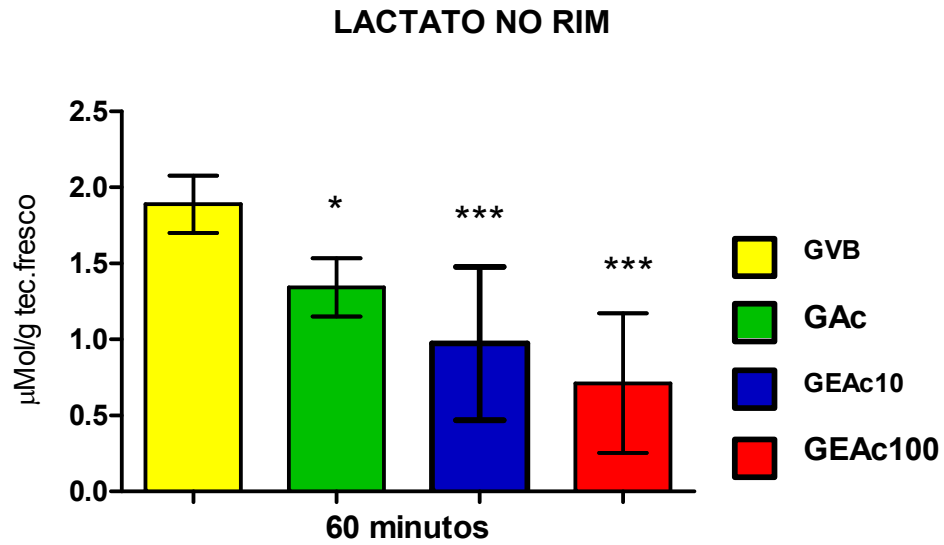
**FIGURA 5.24** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de **lactato** no rim, em ratos submetidos à estimulação manual e à eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30). Houve redução significativa das concentrações de lactato ( $p < 0,05$ ) no rim, nos ratos submetidos a eletroacupuntura de 10 Hz (GEAc10) e 100 Hz (GEAc100), no T-30. Teste de Dunnett, \*  $p < 0,05$  comparado ao GVB.

### 60 minutos

Houve redução significativa das concentrações de lactato ( $p < 0,001$ ) no rim, nos ratos submetidos à acupuntura e eletroacupuntura de 10 Hz (GEAc10) e 100 Hz (GEAc100), no T-60.

**TABELA 21** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de lactato no rim, em ratos submetidos à estimulação manual e à eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60)

GVB	1,89±0,19
GAc	1,34±0,19 *
GEAc10	0,97±0,50 ***
GEAc100	0,71±0,46 ***
<b>Teste de Dunnett em 24 ratos.</b>	GEAc100 *** $p < 0,001$ comparado ao GVB
GEAc: * $p < 0,05$ comparado ao GVB	GEAc100: *** $p < 0,001$ comparado ao GVB



**FIGURA 5.25** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de **lactato** no rim, em ratos submetidos à estimulação manual e à eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60). Houve redução significativa das concentrações de lactato no rim, nos ratos submetidos à acupuntura ( $p < 0,05$ ), à eletroacupuntura de 10 Hz (GEAc10) e 100 Hz (GEAc100) ( $p < 0,001$ ), no T-60. Teste de Dunnett, \*  $p < 0,05$  comparado ao GVB, \*\*\*  $p < 0,001$  comparado ao GVB.

## 5 DISCUSSÃO

O rato (*Rattus norvegicus*), da linhagem *Wistar* foi escolhido como animal de experimentação. Trata-se de um mamífero de baixo custo de aquisição e manutenção, de fácil manuseio e elevada resistência à infecção e ao trauma cirúrgico, com admirável sistema de hemostasia. Por estas razões é o animal preferido pela maioria dos pesquisadores para estudos experimentais (FESTING, 1979).

É crença comum que a hiperglicemia decorrente do estresse cirúrgico seja conseqüência da dor e dos procedimentos operatórios. Entretanto a anestesia, independentemente da ocorrência do estresse cirúrgico, pode estimular a liberação de catecolaminas e cortisol (CARRUBA et al, 1987) e até mesmo alterar a liberação da insulina (EWART; RUSY; BRADFORD, 1981; DESBOROUGH, KNOWLES, HALL, 1998). Vários estudos indicam que os anestésicos voláteis e a mistura cetamina-xilazina podem produzir hiperglicemia (DESBOROUGH, KNOWLES, HALL, 1998; LATTERMANN *et al*, 2001; SAHA *et al*, 2005).

A cetamina, uma substância freqüentemente usada em animais laboratoriais, incluindo o camundongo e o rato, é um agente com propriedades anestésicas e analgésicas e seus efeitos, tanto em humanos como em animais experimentais, são conhecidos como anestesia dissociativa (WRIGHT, 1982; LEI *et al*, 2001). A administração da xilazina isoladamente pode produzir hiperglicemia, sem que haja mudança nas concentrações de glucagon, em cães e em grandes animais (bovinos). (SYMONDS; MALLINSON, 1978; GOLDFINE; ARIEFF, 1979).

A regulação da glicemia depende de complexos mecanismos neuro-humorais. As concentrações de glicose plasmática são mantidas pela liberação de vários hormônios com potencial para elevar a glicemia, tais como o glucagon, as catecolaminas, o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), o hormônio do crescimento (GH) e o cortisol associado ao estresse (TOSO *et al*, 1993). Como já foi demonstrado (SAHA *et al*, 2005) que a utilização da mistura cetamina-xilazina induz um quadro de hiperglicemia em ratos previamente alimentados, o que não ocorre quando os animais são mantidos em jejum total, optou-se por utilizar essa combinação anestésica para estudar os possíveis efeitos hipoglicemiantes da acupuntura e eletroacupuntura. Por esta razão, os ratos utilizados no presente estudo receberam ração e água *ad libitum*, até a realização do experimento. No

presente estudo utilizou-se uma solução anestésica, contendo cloridrato de Cetamina 90 mg/Kg + Xilazina 10 mg/Kg), aplicada por via intraperitoneal (ip).

Pouco se sabe sobre os mecanismos pelos quais a combinação cetamina+xylazina induz hiperglicemia. Valores glicêmicos acima de 160 mg/dl são considerados superiores aos valores normais e rotulados como hiperglicemia (SAHA *et al*, 2005). No presente estudo a glicemia média dos ratos do grupo valor basal (GVB) foi  $190,80 \pm 24,88$  mg/dl após 30 minutos (T-30) do início do procedimento e  $186,30 \pm 23,76$  mg/dl após 60 minutos, caracterizando um quadro de hiperglicemia.

O agulhamento do acuponto RM-12 (Zhongwan) tem sido freqüentemente usado por praticantes da MTC para alívio dos sintomas do diabetes mellitus (CHANG *et al*, 1999). Estudos demonstraram que a aplicação da EA (15 Hz) nos acupontos E-36 (Zusanli), bilateralmente, em ratos, melhora a tolerância à glicose e reduz os níveis de glicose plasmática (CHANG *et al*, 2006). No homem, o acuponto RM-12 está localizado na parede abdominal, em um ponto central entre a cicatriz umbilical e o apêndice xifóide, na linha alba. Nesta região são encontradas as seguintes estruturas anatômicas: pele, tecido subcutâneo, ramos anteriores do 8º nervo intercostal, artérias e veias toracoepigástricas superficiais, músculo reto do abdômen, ramos do nervo intercostal contendo fibras do 7º ao 12º nervos torácicos [T7 a T12] (MARTINS, 2003; FOCKS, 2005). O acuponto E-36, por seu turno, se localiza abaixo do joelho, na face lateral da perna, à margem anterior e abaixo da tuberosidade da tíbia, entre os músculos tibial anterior e extensor comum dos dedos. Pontificam, nessa região a pele, tecido subcutâneo, ramificações do nervo cutâneo sural lateral do nervo fibular comum [L5], músculo tibial anterior, ramificações do nervo fibular profundo, contendo fibras do 4º nervo lombar ao primeiro sacral [L4, L5, S1], artéria e veias tibiais anteriores, membrana interóssea com ramificações do nervo fibular profundo em sua parte posterior e ramificações do nervo tibial posterior, músculo tibial posterior, ramificações do nervo tibial, contendo fibras do 5º nervo lombar e 1º sacral [L5 e S1], nervo tibial, artérias e veias posteriores (MARTINS, 2003; FOCKS, 2005). Chang *et al* (1999) investigaram os efeitos da eletroacupuntura (15 Hz, 10 mA) aplicada durante 30 minutos no acuponto RM-12 em modelo de ratos diabéticos e encontraram uma redução significativa das concentrações de glicose plasmática em ratos normais e diabéticos tipo II.

Estudos demonstraram que a aplicação da EA usando diferentes freqüências promove a liberação de opióides endógenos capazes de ativar receptores

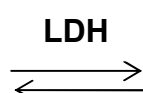
específicos (CHEN; HAN, 1992). Os receptores pancreáticos já foram previamente estudados (KHAWAJA *et al*, 1990) na busca de informações sobre seu papel na regulação dos níveis glicêmicos (BRUNI; WATKINS; YEN, 1979). Por outro lado, sabe-se que as  $\beta$ -endorfinas estimulam a secreção de insulina (CURRY; BENNET; LI, 1987). Utilizou-se, no presente estudo, uma corrente de 10 mA. Pesquisadores demonstraram que essa corrente, quando utilizada na EA estimula todas as fibras nervosas aferentes, mielinizadas e não mielinizadas (MORI *et al*, 2000).

A utilização da eletroacupuntura de 10 Hz, no presente estudo, também induziu uma redução significativa da glicemia em ratos saudáveis, ao término da estimulação elétrica (T-30,  $190,80 \pm 24,88$  vs.  $138,50 \pm 21,09$ ,  $p > 0,001$ ) e 30 minutos mais tarde (T-60,  $186,30 \pm 23,76$  vs.  $134,10 \pm 25,65$ ,  $p > 0,001$ ) (Tabela 2, Figura 5.2). O mesmo resultado foi demonstrado utilizando uma frequência 10 vezes maior (100 Hz) no T-30 ( $190,80 \pm 24,88$  vs.  $113,40 \pm 7,37$ ,  $p > 0,001$ ) e no T-60 ( $186,30 \pm 23,76$  vs.  $99,17 \pm 8,79$ ,  $p > 0,001$ ). (Tabela 3, Figura 5.3). A estimulação manual (acupuntura) não alterou significativamente a glicemia no presente estudo. (Tabela 1, Figura 5.1).

A desidrogenase láctica (LDH) é a enzima que catalisa a conversão reversível do lactato para piruvato. Sendo a reação de oxidação uma parte integral da passagem glicolítica do metabolismo carboidrato, o LDH está presente em todo o tecido do corpo. Há cinco isoenzimas de LDH em quantidades variáveis no tecido humano e cada tecido tem uma composição de isoenzimas característica. Níveis elevados de LDH sérico podem ser causados por lesão em quase todo tecido.

A redução significativa das concentrações de LDH no T-30, no sangue dos ratos submetidos à estimulação manual ( $518,20 \pm 43,31$  vs.  $354,80 \pm 10,54$ ,  $p < 0,001$ ) e elétrica (10 e 100 Hz) ( $518,20 \pm 43,31$  vs.  $286,50 \pm 59,86$ ,  $p < 0,001$  e  $518,20 \pm 43,31$  vs.  $213,80 \pm 24,85$ ,  $p < 0,001$ ) e no T-60 (GAc:  $637,80 \pm 61,01$  vs.  $325,70 \pm 10,54$ ,  $p < 0,001$ ; GEAc10:  $637,80 \pm 61,01$  vs.  $268,80 \pm 43,51$ ,  $p < 0,001$  e GEAc100:  $637,80 \pm 61,01$  vs.  $188,20 \pm 24,00$ ,  $p < 0,001$ ) sugere um menor metabolismo anaeróbico (Tabelas 4, 5 e 6; Figuras 5.4, 5.5 e 5.6).

A única via de síntese para a produção do lactato dentro das células é a conversão do piruvato em lactato, mediada pela enzima lactato-desidrogenase (LDH). Por reação inversa, o lactato pode se converter em piruvato. O NADH é um fator obrigatório para a reação (GREKIN, 1988):



Piruvato + NADH + H<sup>+</sup>

Lactato + NAD<sup>+</sup>

Conseqüentemente, os níveis de lactato dentro de uma célula estão determinados pelos níveis de piruvato e a relativa prevalência de NADH e NAD<sup>+</sup> (KREISBERG, 1972). Todas as células podem gerar lactato e liberá-lo na circulação, como também todas elas são capazes de extrair lactato do sangue para usá-lo no metabolismo, exceto as hemácias, as células da retina e da medula da glândula supra-renal que são essencialmente glicolíticas.

Em condições normais, o músculo esquelético, o cérebro, as hemácias e a pele são os principais produtores de lactato, enquanto o fígado e o rim cuidam de sua eliminação. Nestes órgãos, mais intensamente no fígado, através da LDH, o lactato se converte em piruvato que se transforma em glicose (gliconeogênese) ou através do ciclo tricarboxílico em ATP, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O. Denomina-se ciclo de Cori a geração de lactato nas hemácias, músculo esquelético, cérebro e pele, com posterior gliconeogênese pelo fígado. É útil como mecanismo para manutenção da oferta de energia a órgãos que requerem glicose durante estados de jejum (WATERHOUSE; KEILSON, 1969).

No presente estudo, a redução significativa da lactacemia 30 minutos após o início do estudo, em ratos submetidos à EA de 100 Hz (2,10±0,23 vs. 0,98±0,55, p<0,001) sugere uma maior conversão do piruvato em acetil-CoA no ciclo de Krebs, com prevalência da glicólise aeróbica (Tabela 9, Figura 5.9). Fenômeno semelhante foi observado no fígado no T-60 (10 Hz: 1,92±0,42 vs. 0,69±0,29, p<0,001 e 100 Hz: 1,92±0,42 vs. 0,44±0,21, p<0,001) e no rim (T-30-100 Hz :1,86±0,87 vs. 0,91±0,38, p<0,05). Após 60 minutos ocorreu redução significativa das concentrações de lactato renal nos grupos submetidos à EA (10Hz e 100Hz) quando comparados ao GVB. (Tabelas 14 e 15, Figuras 5.14 e 5.15).

Os resultados dessa pesquisa mostram que a acupuntura e a eletroacupuntura podem reduzir as concentrações de glicose no sangue, nos animais hiperglicêmicos. Freqüências maiores (100 Hz) tem um maior efeito hipoglicemiante. A hiperglicemia encontrada nos animais sadios foi possivelmente conseqüência da anestesia com a mistura cetamina+xilazina em ratos alimentados. A redução da glicemia deve ser conseqüência da ação de opióides endógenos e da

$\beta$ -endorfina como foi sugerido pelas pesquisas apresentadas. A inserção das agulhas não parece produzir traumatismos musculares capazes de elevar os níveis de LDH. O mecanismo de redução das concentrações de lactato e de LDH parece estar relacionado a uma prevalência da glicólise aeróbica. Novas pesquisas poderão contribuir para uma melhor compreensão dos mecanismos envolvidos nos resultados aqui apresentados.

## 6 CONCLUSÃO

1. A eletroacupuntura (10 e 100 Hz) dos acupontos E-36 e RM-12, reduz a glicemia, em ratos sadios.
2. Os efeitos da EA sobre a glicemia são mais intensos quando se utilizam altas frequências (100 Hz).
3. A redução da lactacemia ocorre quando se utilizam frequências altas (100 Hz) na EA
4. A EA de baixa frequência (10 Hz) reduz as concentrações de LDH no sangue de ratos sadios.



## 7 REFERÊNCIAS

ADA Clinical Practice Recommendations. Position Statement – Unproven Therapies. **Diabetes Care**, v.27, n.1, p. S135, 2004.

AMMONS, W.S. Characteristics of spinoreticular and spinothalamic neurons with renal input. **J. Neurophysiol.**, v.58, n.3, p. 480-495, 1987.

BEN, H.; ZHU, Y. The effect of electro-acupuncture at auricular and body acupoints on the curve changes of the pressure-volume of urinary bladder and the electric activity of pelvic nerves of rat, **Acupunct Res.** v.20, n.2, p.51–54, 1995.

BRUNI, J.F.; WATKINS, W.B.; YEN, S.S.  $\beta$ -endophin in the human pancreas. **J Clin. Endocrinol. Metab.**,v.49, p. 649-651, 1979.

CABYOGLU, M.T.; ERGENE, N.; TAN, U. The mechanism of acupuncture and clinical applications. **Int. J. Neurosci.**,v.116, n. 2, p.115-125, 1996.

CARRUBA, M.O.; BONDILOTTI, G.; PICOTTI, G.B.; CATTERUCCIA, N.; DA PRADA, M. Effects of diethyl ether, halothane, ketamine and urethane on sympathetic activity in the rat. **Eur. J. Pharmacol.**,v. 28, p. 15–24, 1987.

CHAKRABART A.K.; CHATTERJEE K.; GHOSH J.J.; GANGULY A. Electroacupuncture and its effect on rat hepatic functions. **Acupunct Electrother Res.**, v. 8, n. 2, p. 111-26, 1983.

CHANG, S.L.; LIN, J.G.; CHI, T.C.; LIU, I.M.; CHENG, J.T. An insulin-dependent hypoglycaemia induced by electroacupuncture at the Zhongwan (CV12) acupoint in diabetic rats. **Diabetologia** ,v.42, n. 2, p. 250-255, 1999.

CHANG, S.L.; LIN, J.G.; HSIEH, C.L.; CHENG, J.T.; CHANG, T.L. Comparison of hypoglycemic effect in different acupoints response to 2 Hz electroacupuncture. **J. Chin. Med.**, v.13, p. 111-117, 2002.

CHANG, S.L.; TSAI, C.C.; LIN, J.G.; HSIEH, C.L.; LIN, R.T.; CHENG, J.T. Involvement of serotonin in the hypoglycemic response to 2 Hz electroacupuncture of Zusanli acupoint (ST 36) in rats. **Neuroscience Letters**, v.379, p. 69-73, 2005.

CHANG, S.L.; LIN, K.J.; LIN, R.T.; HUNG, P.H.; LIN, J.G.; CHENG, J.T. Enhanced insulin sensitivity using electroacupuncture on bilateral Zusanli acupoints (ST 36) in rats. **Life Sciences**, v.79, p. 967-971, 2006.

CHEN, X.H.; HAN, J.S. Analgesia induced by electroacupuncture of different frequencies is mediated by different types of opioid receptors: another cross-tolerance study. **Behav. Brain Res.**, v. 47, p.143-149, 1992.

CHEN, D.; GONG, D.; ZHAI, Y. Clinical and experimental studies in treating diabetes mellitus by acupuncture. **J. Trad. Chin. Med.**, v.14, p.163-166, 1994.

CHENG, X.D.; WU, G.C.; HE, Q.Z.; CAO, X.D. Effect of electroacupuncture on the activities of tyrosine protein kinase in subcellular fractions of activated T lymphocytes from the traumatized rats. **Acupunct. Electrother. Res.**, v.23, p.161-170, 1998.

CURRY, D.L.; BENNET, L.L.; LI, C.H. Stimulation of insulin secretion by  $\beta$ -endorphins (I-27 & I-31). **Life Sci.**, v.40, p.2053-58, 1987.

DESBOROUGH, J.P.; KNOWLES, M.G.; HALL, G.M. Effects of isoflurane-nitrous oxide anaesthesia on insulin secretion in female patients. **Br.J. Anaesth.**, v.80, p. 250-2, 1998.

DORNETTE, W.H.L. The anatomy of acupuncture. **N. Y. Acad. Med.** v.51, n.8, p. 895-902, 1975.

EWART, R.B.L.; RUSY, B.F.; BRADFORD, M.W. Effects of enflurane on release of insulin by pancreatic islets in vitro. **Anesth. Analg.**, v. 60, p. 878-84, 1981.

FELDMAN, M.; KISER, R.S.; UNGER, R.H.; LI, C.H.  $\beta$ -endorphin and the endocrine pancreas: studies in healthy and diabetic human beings. **N. Engl. J. Med.**, v. 308, p. 349-353, 1983.

FESTING, M. F. W. Suitability of the rat for different investigations. In: ALTMAN, P. I.; KATZ, D. D. (Eds.)- **Inbred and genetically defined strains of laboratory animals, mouse and rat**. Bethesda, **Fed. Am. Soc. Exp. Biol.**, v.1, p. 237-238, 1979.

FENG, M.; LI, Y.; PANG, B.; WANG, Z.; WANG, S. Acupuncture combines with application of xiaoke plaster for treatment of 309 cases of diabetes mellitus. **J. Tradit. Chin. Med**, v.17, p. 247-249, 1997

FOCKS, C. **Atlas de Acupuntura**. Barueri, SP: Ed. Manole, 2005. 255 p.

GREKIN, R. J. Cetoacidosis, estado hiperosmolar y acidosis láctica. In: KOKKO, J. R.; TANNEN, R. L. **Líquidos y electrolitos**. Buenos Aires: Panamericana, cap. 17, p. 811-813, 1988.

GOLDFINE, I.D.; ARIEFF, A.I. Rapid inhibition of basal and glucose stimulated insulin release by xylazine. **Endocrinology**, v.105, p. 910-20, 1979.

GUARINO, M.P.; CORREIA, N.C.; LAUTT, W.W.; MACEDO, M.P. Insulin sensitivity is mediated by the activation of the ACh/NO/cGMP pathway in rat liver. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.** , v. 287, p. 527-32, 2004.

GUO, H.F.; TIAN, J.; WANG, X.; FANG, Y.; HOU, Y.; HAN, J. Brain substrates activated by electroacupuncture of different frequencies (I): Comparative study on the expression of oncogene c-fos and genes coding for three opioid peptides Brain Res. **Mol. Brain Res.**, v. 43, n. 1-2, p. 157-66, 1996 (a).

GUO, H.F.; TIAN, J.; WANG, X.; FANG, Y.; HOU, Y.; HAN, J. Brain substrates activated by electroacupuncture (EA) of different frequencies (II): Role of Fos/Jun proteins in EA-induced transcription of preproenkephalin and preprodynorphin genes. **Brain Res. Mol. Brain Res.**, v.31, n. 1-2, p. 167-73, 1996 (b).

GUOWEI, L.; JINGQIANG, X.; YONGNING, W.; QILIN, W. Afferent nerve fiber composition at point zusanli in relation to acupuncture analgesia: a functional morphologic investigation. **Chin. Med. J.**, v.94, n. 4, p. 255-63, 1981.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. (ed) **The Textbook of Medical Physiology**. 11<sup>st</sup> ed. New York: WB Saunders, 2005. 1116p.

HABER, L.H.; MOORE, B.D.; WILLIS, W.D. Electrophysiological response properties of spinoreticular neurons in the monkey. **J. Compar. Neurol.**, v.297, p. 75-84, 1982.

HAN, J.S.; CHEN, S.L.; SUN, X.J.; XU, Y.; YUAN, S.C.; YAN, JX.; HAO and L. TERENIUS. Effect of low and high-frequency TENS on Met-enkephalin-Arg-Phe and dynorphin A immunoreactivity in human lumbar CSF. **Pain**, v. 47, p. 295-298, 1991.

HE, B. Bioelectricity of living tissue. **IEEE Eng. Med. Biol. Mag.**, v.17, n.5, p. 72-117, 1998.

HOHORST, H.J. D-Glucose-6-phosphate and D-fructose-6-phosphate. Determination with glucose-6-phosphate dehydrogenase and phosphoglucose isomerase. In: BERGMAYER, H.U. (Ed). **Methods of Enzymatic Analysis**, Verlag Chemie, Weinheim/Academic Press: New York, London, 1963. p.134-138.

HU, H. A review of treatment of diabetes by acupuncture during the past forty years. **J. Tradit. Chin. Med.**, v.15, p. 145-154, 1995.

HUANG, C.L.; HUANG, C.J.; TSAI, P.S.; YAN, L.P.; XU, H.Z. Acupuncture stimulation of ST-36 (Zusanli) significantly mitigates acute lung injury in lipopolysaccharide-stimulated rats. **Acta Anesthesiol Scand.**, v.50, n.6, p. 722-30, 2006.

KELLNER, G. Bau und function der haut. **Dtsch. Ztschr. Akup.**, v.3, p. 1-31, 1966.

KHAWAJA, X.Z.; GREEN, I.C.; THORPE, J.R.; TITHERADGE, M.A. The occurrence and receptor specificity of endogenous opioid peptides within the pancreas and liver of rats in comparison with the brain. **Biochem. J.**, v.267, p. 233-40, 1990.

KHO, H.; ROBERTSON, E.N. The mechanisms of acupuncture analgesia: Review and update. **Am. J. Acupunct.**, v.25, p. 261-281, 1997.

KREISBERG, R. A. Glucose-lactate interrelations in man. **N. Engl. J. Med.**, v.287, p. 132-137, 1972.

LAO, H.C.; HUANG, C.L.; TSAI, P.S.; YAN, L.P.; ZE, X.H.; HUANG, C.J. Pre-treatment of acupuncture stimulation of ST36 (Zusanli) significantly attenuates CAT-2, CAT-2B and GTPCH transcription in septic rat lungs. **Acta Anaesthesiol. Taiwan**, v.44, p. 83-91, 2006.

LATTERMANN, R.; SCHRICKER, T.; WACHTER, U.; GEORGIEFF, M.; GOERTZ, A. Understanding the mechanisms by which isoflurane modifies the hyperglycemic response to surgery. **Anesth. Analg.**, v.93, p. 121-7, 2001.

LEI H.; GRINBERG, O.; NWAIGWE, C.I.; HOU, H.G.; WILLIAMS, H.; SWARTZ, H.M. The effects of ketamine-xylazine anesthesia on cerebral blood flow and oxygenation observed using nuclear magnetic resonance perfusion imaging and electron paramagnetic resonance oximetry. **Brain Res.**, v.913, p. 174-79, 2001.

LEONHARDT, H. **Fundamentals of Electroacupuncture According to Voll.** Uelzen: Medizinisch Literarische Verlagsgesellschaft, 1980.

LIAO, T.J.; URATA, S.; NISHIKAWA, H. Transient decrease in skin resistance response and level at the de-chi stage caused by manual acupuncture. **Tohoku J. Exp. Med.**, v.186, n.1, p. 19-25, 1998.

LIN, J.G.; CHANG, S.L.; CHENG, J.T. Release of beta-endorphin from adrenal gland to lower plasma glucose by the electroacupuncture at Zhongwan acupoint in rats. **Neuroscience Letters.**, v.326, n.1, p. 17-20, 2002.

LIN, J.G.; CHEN, W.C.; HSIEH, C.L.; TSAI, C.C.; CHENG, Y.W.; CHENG, J.T.; HANG, S.L. Multiple sources of endogenous opioid peptide involved in the hypoglycemic response to 15 Hz electroacupuncture at the Zhongwan acupoint in rats. **Neuroscience Letters.**, v.366, n.1, p. 39-42, 2004.

MACIOCIA, G. **The foundations of Chinese Medicine.** Second Edition, Churchill Livingstone, 2005. 676p.

MARTINS, E.I.S. **Pontos de acupuntura: guia ilustrado de referência.** São Paulo: Roca, 2003. 180 p.

MO, X.; CHEN, D.; JI, C.; ZHANG, J.; LIU, C.; ZHU, L. Effect of electro-acupuncture and transcutaneous electric nerve stimulation on experimental diabetes and its neuropathy. **Chen Tzu Yen Chiu.**, v.21, p. 55-59, 1996.

MORI, H.; UCHIDA, S.; OHSAWA, H.; NOGUCHI, E.; KIMURA, T.; NISHIJO, K., Electro-acupuncture stimulation to a hindpaw and a hind leg produces different reflex responses in sympathoadrenal medullary function in anesthetized rats. **J. Auton. Nerv. Syst.**, v.79, p. 93-98, 2000.

NACHMANSOHN, D. Nerve excitability: transition from descriptive phenomenology to chemical analysis of mechanisms. **Klin. Wochenschr.**, v.55, p. 715-723, 1977.

NGUYEN, V.N.; NGUYEN-RECOURS, C. **Médecine traditionnelle chinoise**. Marseille, A. Robert, 1984.

OMURA, Y. Connections found between each meridian (heart, stomach, triple burner, etc.) and organ representation area of corresponding internal organs in each side of the cerebral cortex: release of common neurotransmitters and hormones unique to each meridian and corresponding acupuncture point and internal organ after acupuncture, electric stimulation, mechanical stimulation (included shiatsu), soft laser stimulation or Qi Gong. **Acupunct. Electrother. Res.**, v.14, p. 155-186, 1989.

RAMABADRAN, K.; BANSINATH, M. Glucose homeostasis and endogenous opioid peptides. **Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.**, v.28, p. 89-98, 1990.

ROMITA, V.V.; SUK, A.; HENRY, J.L. Parametric Studies on Electroacupuncture-Like Stimulation in a Rat Model: Effects of Intensity, Frequency, and Duration of Stimulation on Evoked Antinociception. **Brain Res Bull.**, v. 42, n.4, p. 289-296, 1997.

ROSS, J. **Zang Fu – Sistema de Órgãos e Visceras da Medicina Tradicional Chinesa**. Segunda Edição. São Paulo, Roca, 1994. 268p.

SADRI, P.; LEGARE, D.J.; TAKAYAMA, S.; LAUTT, W.W. Increase incidence of hepatic insulin-sensitizing substance (HISS)-dependent insulin resistance in female rats prenatally exposed to ethanol. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, v.83, n.4, p. 383-387, 2005.

SAHA, J.K.; XIA, J.; GRONDIN, J.M.; ENGLE, S.K.; JAKUBOWSKI, J.A. Acute Hyperglycemia Induced by Ketamine/Xylazine Anesthesia in Rats: Mechanisms and Implications for Preclinical Models. **Exp Biol Med.**, v. 230, p. 777–84, 2005.

SHANG, C. Singular point organizing center and acupuncture point. **Am. J. Chin. Med.**, v.17, n. 3-4, p. 119-127, 1989

SHAPIRA, M.Y.; APPELBAUM, E.Y.; HIRSHBERG, B et al. A sustained, non-insulin related, hypoglycaemic effect of electroacupuncture in diabetic *Psammomys obesus*. **Diabetologia**, v.43, p. 809-813, 2000

SHIMA, K.; SHI, K.; MIZUNO, A.; SANO, T.; ISHIDA, K.; NOMA, Y. Exercise training has a long-lasting effect on prevention of non-insulin-dependent diabetes mellitus in Otsuka-Long-Evans-Tokushima Fatty rats. **Metabolism**, v.45, n. 4, p. 475-480, 1996

SHIMOJU-KOBAYASHI, R.; MARUYAMA, H.; YONEDA, M.; KUROSAWA, M. **Autonom Neurosc.**, v.115, n. 1-2, p. 7-14, 2004.

SLEIN, M.W. Determination with hexokinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase. In: Bergmeyer H.-U (Ed). **Methods of Enzymatic Analysis**, Verlag Chemie, Weinheim/Academic Press: New York, London, 1963. p.117-123.

SU, C.F.; CHANG, Y.Y.; PAI, H.H.; LIU, I.M.; LO, C.Y.; CHENG, J.T. Mediation of beta-endorphin in exercise-induced improvement in insulin resistance in obese Zucker rats. **Diabetes/Metabolism Research and Reviews**, v.21, n. 2, p. 175-183, 2005.

SYMONDS, H.W.; MALLINSON, C.B. The effect of xylazine and xylazine followed by insulin on blood glucose and insulin in the dairy cow. **Vet. Rec.**, v.102, p. 27-9, 1978.

TOSO, C.F.; RODRIGUEZ, R.R.; RENAULD, A.R.; MARQUEZ, A.G.; LINARES, L.M. Adrenocorticotrophic hormone, cortisol and catecholamine concentrations during insulin hypoglycemia in dogs anaesthetized with thiopentone. **Can. J. Anaesth.**, v. 40, p. 1084-91, 1993.

TSENG, C.S.; WU, C.S.; FU, C.C.; GUAN, W.C.; TSAI, C.L.; CHING, L.H. Dynamic change of energy metabolism by electroacupuncture stimulation in rats. **Am. J. Chin. Med.**, v. 33, n. 5, p. 767-778, 2005.

ULLETT, G.A.; HAN, J.; HAN, S. Traditional and evidence-based acupuncture: history, mechanisms, and present status. **South. Med. J.**, v.91, p. 1115-1120, 1998.

WANG, L.G.; PAI, H.J. **Tratado Contemporâneo de Acupuntura e Moxibustão**. São Paulo, CEIMEC, 2005. 672p.

WATERHOUSE C., KEILSON J. Cori cycle activity in man. **J Clin Invest.**, v.48, p. 2359-66, 1969.

WENBU, X. **Tratado de Medicina Chinesa**. São Paulo, Roca, 1993. 691p.

WILLIAMSON, D.H.; LUND, P.; KREBS, HA. The redox state of free nicotinamide-adenine dinucleotide in the cytoplasm and mitochondria of rat liver. **Biochem J.**, v.103, n. 2, p. 515-27, 1967.

WRIGHT, M. Pharmacologic effects of ketamine and its use in veterinary medicine. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.180, p. 1462-71, 1982.

WU, D.Z. Acupuncture and neurophysiology. **Clin. Neurol. Neurosurg.**, v.92, n.1, p.13-25, 1990.

YAMAMURA, Y.; TABOSA, A. Aspectos integrativos das medicinas occidental e chinesa. **Rev. Paul. Acupunt.**, v.1, n.1, p. 26-32, 1995.

YIN, C.S.; JEONG, H.S.; PARK, H.J.; BAYK, Y.; YON, M.H.; CHOI, C.B.; KOH, H.G. A proposed transpositional acupoint system in a mouse and rat model. **Res Vet Sci.**, v.84, n. 2, p. 159-65, 2008.

YU, Y. Role of endogenous interferon- $\gamma$  on the enhancement of splenic NK cell activity by electroacupuncture stimulation in mice. **Journ Neuroimmunol.**, v.90, n. 2, p. 176-186, 1998.

ZONGLIAN, H. A study on the histologic structure of acupuncture points and types of fibers conveying needling sensation. **Chin. Med. J.**, v.92, n. 4, p. 223-31, 1979.

## APÊNDICE A

**Tabela 22: Peso dos animais experimentais**

Animais	Peso (g)
GVB1	325
GVB2	325
GVB3	255
GVB4	310
GVB5	290
GVB6	270
GVB7	280
GVB8	400
GVB9	315
GVB10	320
GVB11	300
GVB12	340

\*

\*

\*

\*

\*

Animais	Peso (g)
GAc1	305
GAc2	350
GAc3	355
GAc4	315
GAc5	275
GAc6	330
GAc7	330
GAc8	365
GAc9	365
GAc10	330
GAc11	300
GAc12	300

\*

\*

GEAc(10)1	330
GEAc(10)2	330
GEAc(10)3	335
GEAc(10)4	295
GEAc(10)5	350
GEAc(10)6	325
GEAc(10)7	350
GEAc(10)8	360
GEAc(10)9	350
GEAc(10)10	285
GEAc(10)11	325
GEAc(10)12	280

\*

\*

\*

GEAc(100)1	345
GEAc(100)2	315
GEAc(100)3	365
GEAc(100)4	325
GEAc(100)5	355
GEAc(100)6	325
GEAc(100)7	340
GEAc(100)8	350
GEAc(100)9	315
GEAc(100)10	295
GEAc(100)11	335
GEAc(100)12	340

**Tabela 22: Peso dos Animais Experimentais**

GVB – Grupo Valores Basais

GAc – Grupo Acupuntura

GEAc (10) – Grupo Eletroacupuntura 10Hz

GEAc (100Hz) – Grupo Eletroacupuntura 100Hz

\* re-anestesia com metade da dose inicial



## APÊNDICE B - DADOS BRUTOS

### GLICOSE SANGUE

GVB30	GVB60	GAc30	GAc60	GEAc10_30	GEAc10_60	GEAc100_30	GEAc100_60
180,06	209,27	146,91	165,45	138,40	140,73	121,35	90,17
178,37	208,15	190,45	156,74	163,93	113,48	112,64	98,88
239,89	183,71	163,20	159,55	119,38	128,65	118,26	107,87
193,54	200,56	157,87	136,24	126,69	100,84	112,64	102,53
175,56	159,83	153,65	157,58	164,33	148,60	100,00	87,36

### LACTATO – SANGUE

GVB30	GVB60	GAc30	GAc60	GEAc10_30	GEAc10_60	GEAc100_30	GEAc100_60
2,24	1,05	1,88	1,03	1,46	0,18	1,21	1,21
1,82	2,31	2,07	1,47	1,19	0,13	1,82	1,82
1,81	2,18	1,36	1,37	1,49	2,55	0,33	0,33
2,35	1,77	1,80	1,83	1,65	1,73	0,59	0,59
2,16	1,88	1,82	1,51	1,16	0,59	1,28	1,28

### LDH – SANGUE

GVB30	GVB60	GAc30	GAc60	GEAc10_30	GEAc10_60	GEAc100_30	GEAc100_60
523,00	658,00	330,00	320,00	230,00	245,00	225,00	156,00
536,00	717,00	402,00	312,00	284,00	301,00	254,00	169,00
521,00	562,00	335,00	330,00	251,00	320,00	183,00	189,00
532,00	585,00	320,00	320,00	235,00	301,00	202,00	221,00
562,00	691,00	421,00	330,00	351,00	225,00	220,00	208,00

## APÊNDICE C - DADOS BRUTOS

### LACTATO – FÍGADO

GVB30	GVB60	GAc30	GAc60	GEAc10_30	GEAc10_60	GEAc100_30	GEAc100_60
2,027	2,050	1,419	1,677	0,865	0,835	0,797	0,507
1,325	2,019	1,072	1,579	1,294	0,194	0,082	0,608
2,156	1,818	2,221	1,692	1,900	0,644	0,468	0,119
1,809	2,307	1,090	1,529	0,941	0,665	0,626	0,695
1,490	1,115	1,355	0,337	2,044	0,752	0,327	0,320

### LACTATO - RIM

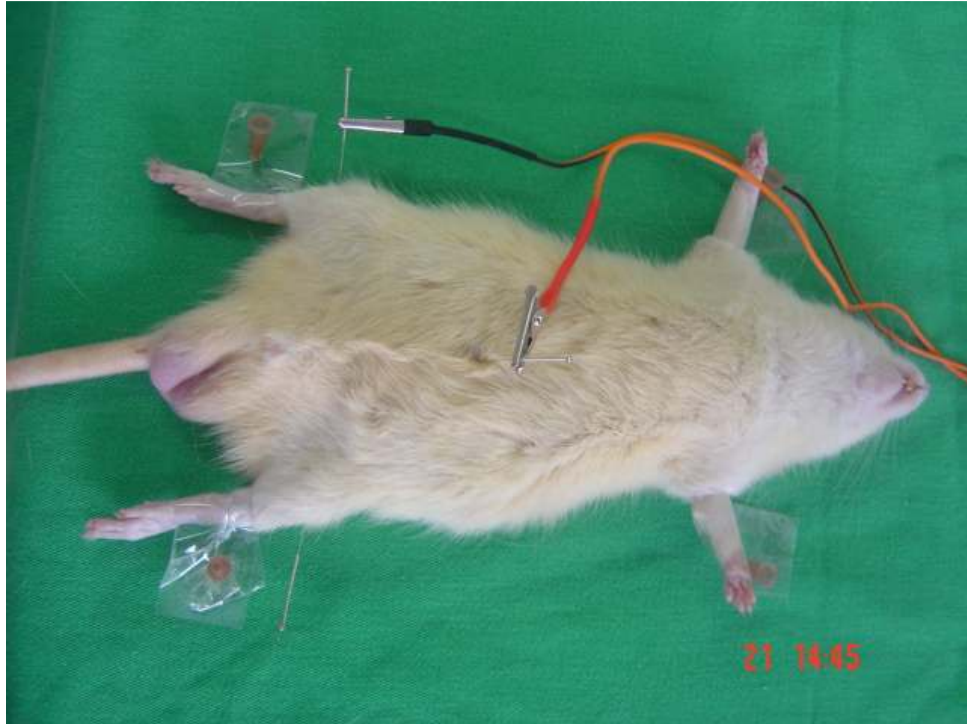
GVB30	GVB60	GAc30	GAc60	GEAc10_30	GEAc10_60	GEAc100_30	GEAc100_60
2,142	2,193	1,631	1,464	1,511	0,666	0,421	0,687
2,787	1,898	1,308	1,110	1,208	0,258	0,618	1,344
0,207	1,787	1,669	1,475	1,251	1,772	0,942	1,005
2,040	1,632	1,700	1,396	0,912	1,030	0,856	0,157
1,830	1,848	1,844	1,093	1,815	1,116	1,528	0,856

**ANEXO 1**

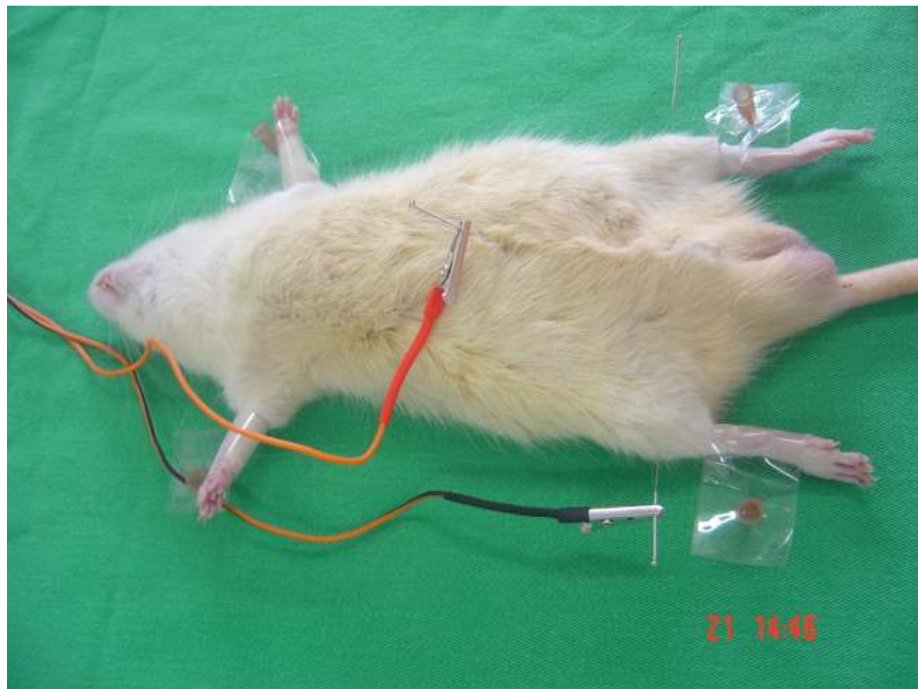
**Figura 1: Agulhamento do acuponto E-36 bilateral no rato**



**Figura 2: Agulhamento do acuponto RM-12 no rato**



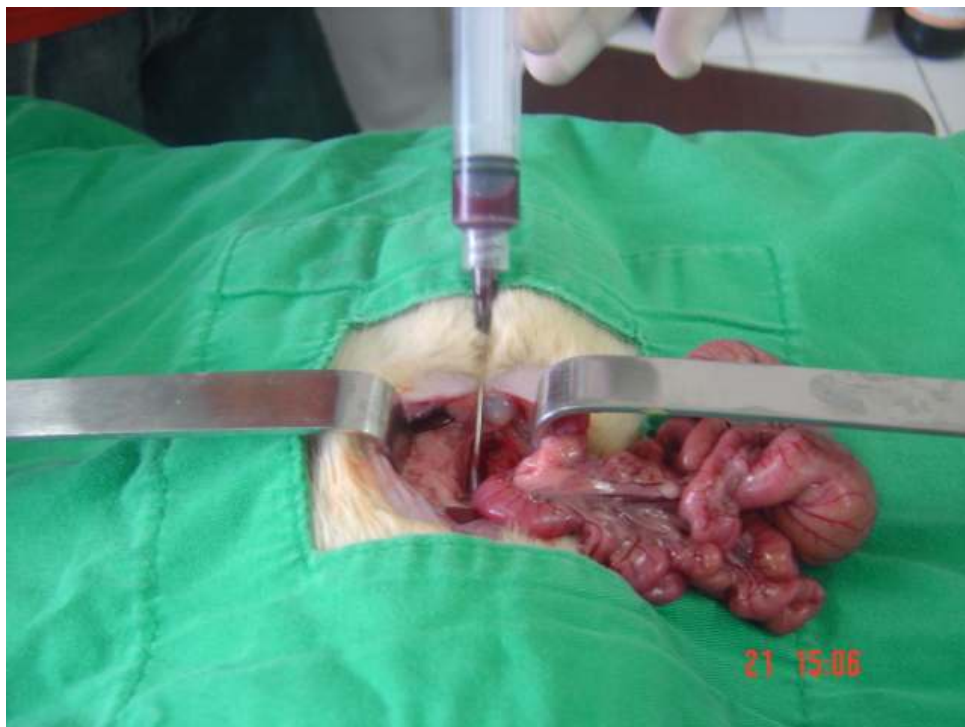
**Figura 3: Eletroacupuntura com 10Hz nos acupontos E-36 à direita e RM-12**



**Figura 4: Eletroacupuntura com 100 Hz nos acupontos E-36 à D e RM-12**



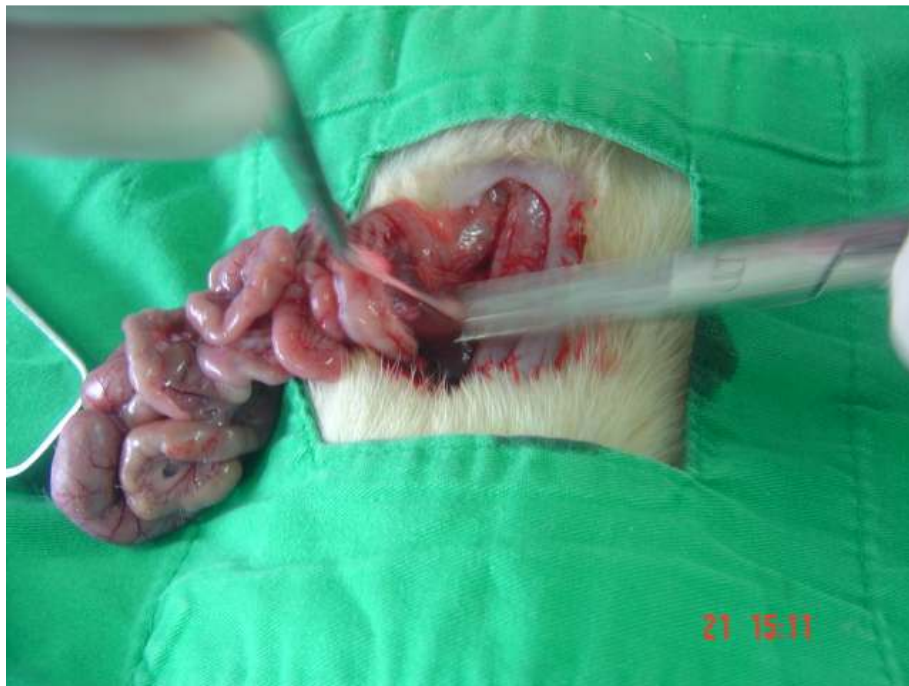
**Figura 6: Laparotomia exploradora com exposição da aorta abdominal**



**Figura 7: Coleta de 3ml de sangue da aorta abdominal**



**Figura 8: Coleta do lobo hepático esquerdo**



**Figura 9: Coleta do pólo superior do rim direito**



Figura 5: Aparelho de Electroacupuntura – Modelo EL608