



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
FACULDADE DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICO-CIRÚRGICAS**

**ANDRÉ BRITO BASTOS GUIMARÃES**

**PÓS-CONDICIONAMENTO COM CURCUMA E ELETROACUPUNTURA: EFEITOS  
SOBRE A INFLAMAÇÃO E O ESTRESSE OXIDATIVO INDUZIDOS POR  
GENTAMICINA NO TESTÍCULO EM RATOS WISTAR**

**FORTALEZA**

**2022**

**ANDRÉ BRITO BASTOS GUIMARÃES**

**PÓS-CONDICIONAMENTO COM CURCUMA E ELETROACUPUNTURA: EFEITOS  
SOBRE A INFLAMAÇÃO E O ESTRESSE OXIDATIVO INDUZIDOS POR  
GENTAMICINA NO TESTÍCULO EM RATOS WISTAR**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Médico-Cirúrgicas do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências Médico-Cirúrgicas.

Área de concentração: Metabolismo, Fisiologia e Biologia Celular no Estresse

Orientador: Prof. Dr. Francisco das Chagas Medeiros

Coorientador: Prof. Dr. Sérgio Botelho Guimarães

**FORTALEZA**

**2022**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

G976p Guimarães, André Brito Bastos.

Pós-condicionamento com cúrcuma e eletroacupuntura: efeitos sobre a inflamação e o estresse oxidativo induzidos por gentamicina no testículo em ratos Wistar / André Brito Bastos Guimarães. – 2022.

80 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médico-Cirúrgicas, Fortaleza, 2022.

Orientação: Prof. Dr. Francisco das Chagas Medeiros.

Coorientação: Prof. Dr. Sergio Botelho Guimarães.

1. Gentamicinas. 2. Estresse Oxidativo. 3. Testículo. 4. Curcuma . 5. Eletroacupuntura. I. Título.

**ANDRÉ BRITO BASTOS GUIMARÃES**

**PÓS-CONDICIONAMENTO COM CURCUMINA E ELETROACUPUNTURA:  
EFEITOS SOBRE A INFLAMAÇÃO E O ESTRESSE OXIDATIVO INDUZIDO POR  
GENTAMICINA NO TESTÍCULO EM RATOS WISTAR**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Médico-Cirúrgicas do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências Médico-Cirúrgicas.  
Área de concentração: Metabolismo, Fisiologia e Biologia Celular no Estresse  
Orientador: Prof. Dr. Francisco das Chagas Medeiros  
Coorientador: Prof. Dr. Sérgio Botelho Guimarães

Aprovada em: 26/08/2022

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Francisco das Chagas Medeiros (Orientador)  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ (UFC)

---

Prof. Dr. Orleancio Gomes Ripardo de Azevedo  
FACULDADE DE MEDICINA IDOMED DE CANINDÉ

---

Prof. Dr. Marcelo Nasser Rocha Hissa  
UNICHRISTUS – Centro Universitário Christus

---

Prof. Dra. Meyssa Quezado de Figueiredo Cavalcante Casadevall  
IVEPESP/ USP – Ribeirão Preto

---

Prof. Dr. Sergio Botelho Guimarães  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ (UFC)

A Deus, pela sua presença na minha vida,  
toda honra e toda glória;  
Aos meus pais, Sergio e Maria de Lourdes  
(*in memoriam*).

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, PROF. DR. FRANCISCO DAS CHAGAS MEDEIROS, pelo estímulo para a realização deste trabalho de pesquisa em tempo de pandemia.

Ao meu coorientador, PROF. DR. SÉRGIO BOTELHO GUIMARÃES, pelo incentivo, ensinamentos, apoio e confiança para a conclusão deste projeto.

Ao Prof. DR. LUSMAR RODRIGUES VERAS (*in memoriam*) ex-coordenador do Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Cirurgia, da Universidade Federal do Ceará pelo apoio e ensinamentos preciosos.

Às Sras. MARIA LUCIENE VIEIRA DE OLIVIERA e MAGDA MARIA GOMES FONTENELE secretárias do Programa de Pós-graduação *strictu sensu* em Ciências Médico-Cirúrgicas da U.F.C. por seu inestimável apoio no cumprimento das normas administrativas do Programa.

À jovem KARINA GATTI DE ABREU, estudante de Veterinária e estagiária do Biotério Setorial da Faculdade de Medicina, por sua participação efetiva no cuidado dos animais usados no estudo e na fase de pós-condicionamento (administração das gavagens).

Ao DR. WESLEY LYEVERTON CORREIA RIBEIRO, veterinário coordenador do Biotério Setorial da Faculdade de Medicina, por sua acolhida e suporte material para a efetiva realização dos experimentos.

Ao SR. FRANCISCO EVANIR GONÇALVES DE LIMA, técnico da Unidade de Farmacologia da Universidade Federal do Ceará pela disponibilidade e contribuição na coleta e análise laboratorial das amostras.

À todos os professores do Programa de Pós-graduação *stricto sensu* em Ciências Médico-Cirúrgicas da U.F.C. pela sua dedicação e amor à ciência.

Aos professores ORLEANCIO GOMES RIPARDO DE AZEVEDO, MEYSSA QUEZADO DE FIGUEIREDO CAVALCANTE CASADEVALL E MARCELO ROCHA NASSER HISSA, integrantes da banca de qualificação pelo tempo, pelas valiosas

orientações e sugestões para o aprimoramento deste trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Ceará (FUNCAP) pelo apoio financeiro.

## RESUMO

As gônadas, órgãos fundamentais para a reprodução animal, exibem baixos níveis de defesas antioxidantes e requerem grande aporte de energia para desempenhar sua função. A gentamicina (GM) pode promover o aumento das concentrações de espécies reativas de oxigênio, resultando em estresse oxidativo. A cúrcuma é o rizoma de uma planta herbácea, rica em terpenóides que apresenta atividade antioxidante e anti-inflamatória. A eletroacupuntura (EAc) é uma modalidade terapêutica neuromoduladora que utiliza pequenos estímulos elétricos aplicados a duas ou mais agulhas inseridas em pontos de acupuntura. Para avaliação da atividade antioxidante e antiinflamatória da cúrcuma (CCM) e da EAc realizou-se um estudo prospectivo, controlado e comparativo em ratos da linhagem Wistar submetidos aos efeitos tóxicos da GM. Cinquenta e seis ratos machos, com peso médio de 156,8 g. foram aleatoriamente distribuídos em sete grupos: G1–Controle Salino, G2- Controle diluente G3-CCM 100mg, G4-CCM 200mg, G5-EAc100 (Eletroacupuntura 100 Hz), G6 – CCM 100mg+EAc 100Hz e G7-CCM 200mg+EAC. Todos animais receberam GM (100mg/Kg i.p.) durante 5 dias consecutivos. A partir do 7º dia os ratos foram tratados com CCM e EAc em dias alternados, durante 12 dias. Amostras de sangue arterial e os testículos foram coletados 48 horas após o término do experimento, sob anestesia com ketamina+xilazina i.p. Parâmetros bioquímicos analisados incluíram glicose, ureia, creatinina, nitritos (NO<sub>2</sub>), substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), glutathiona reduzida (GSH) e mieloperoxidase (MPO). Houve aumento significativo das concentrações de NO<sub>2</sub> no testículo, aumento de GSH no plasma e testículo e diminuição das concentrações de TBARS no plasma e testículo além da diminuição da atividade de MPO no testículo. Conclui-se que o uso da cúrcuma isoladamente ou associado à EAc 100 Hz tem efeito protetor sobre a lesão testicular induzida por altas doses de GM, demonstrado pelo aumento significativo das concentrações de GSH, redução das concentrações de TBARS e da atividade da MPO. A lesão oxidativa do testículo foi confirmada pelo aumento do NO<sub>2</sub>.

**Descritores:** Gentamicinas; Estresse Oxidativo; Testículo; Curcuma; Eletroacupuntura



## ABSTRACT

The gonads, fundamental organs for animal reproduction, exhibit low levels of antioxidant defenses and require a large amount of energy to perform their function. Gentamicin (GM) can promote increased concentrations of reactive oxygen species, resulting in oxidative stress. Curcuma is the rhizome of a herbaceous plant, rich in terpenoids that has antioxidant and anti-inflammatory activities. Electroacupuncture (EAc) is a neuromodulatory therapeutic modality that uses small electrical stimuli applied to two or more needles inserted into acupuncture points. To evaluate the antioxidant and anti-inflammatory activity of turmeric (CCM) and EAc, a prospective, controlled and comparative study was carried out in Wistar rats subjected to the toxic effects of GM. Fifty-six male rats, with an average weight of 156.8 g. were randomly distributed into seven groups: G1–Saline Control, G2- Diluent Control G3-CCM 100mg, G4-CCM 200mg, G5-EAc100 (Electroacupuncture 100 Hz), G6 – CCM 100mg+EAc 100Hz and G7-CCM 200mg+EAC. All animals received GM (100mg/Kg i.p.) for 5 consecutive days. From the 7th day, the rats were treated with CCM and EAc on alternate days, for 12 days. Arterial blood samples and testes were collected 48 hours after the end of the experiment, under anesthesia with ketamine+xylazine i.p. Biochemical parameters analyzed included glucose, urea, creatinine, nitrites (NO<sub>2</sub>), thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), reduced glutathione (GSH) and myeloperoxidase (MPO). There was a significant increase in NO<sub>2</sub> concentrations in the testis, an increase in plasma and testis GSH and a decrease in TBARS concentrations in the plasma and testis, in addition to a decrease in MPO activity in the testis. It is concluded that the use of turmeric alone or associated with EAc 100 Hz has a protective effect on testicular damage induced by high doses of GM, demonstrated by the significant increase in GSH concentrations, reduction in TBARS concentrations and MPO activity. Testicular oxidative damage was confirmed by increased NO<sub>2</sub>.

**Keywords:** Gentamicins; Oxidative stress; Testicle; Curcuma; Electroacupuncture.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Fórmula molecular da curcumina .....	25
Figura 2	Cúrcuma longa – folhas, rizoma, pó.....	26
Figura 3	Aplicação da EAc no rato (dispositivo de contenção).....	26
Figura 4	Eletro-estimulador EL-608.....	27
Figura 5	Pulso não polarizado.....	28
Figura 6	Localização dos acupontos utilizados no rato .....	30
Figura 7	Distribuição dos grupos.....	30
Figura 8	Fluxograma de execução do experimento .....	32
Figura 9	Analisador automático LABMAX PLENNO.....	33
Gráfico 1	Peso inicial / final dos ratos .....	40
Gráfico 2	Variação de peso do testículo direito no 19º dia.....	41
Gráfico 3	Concentrações de Glicose no plasma (mg/dL) .....	42
Gráfico 4	Concentrações de Uréia no plasma (mg/dL) .....	43
Gráfico 5	Concentrações de Creatinina no plasma (mg/dL).....	44
Gráfico 6	Concentrações de NO <sub>2</sub> no testículo (µM/g).....	45
Gráfico 7	Concentrações de GSH no testículo (µM/g).....	46
Gráfico 8	Concentrações de GSH no plasma (µM/ml) .....	47
Gráfico 9	Concentrações de TBARS no plasma ((µMol MDA/mL) .....	48
Gráfico 10	Concentrações de TBARS no testículo (µMol MDA/g tecido) .....	49
Gráfico 11	Atividade da MPO no testículo.....	50

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Peso médio dos ratos.....	40
Tabela 2	Peso dos testículos .....	41
Tabela 3	Concentrações plasmáticas de glicose .....	42
Tabela 4	Concentrações plasmáticas de ureia.....	43
Tabela 5	Concentrações plasmáticas de creatinina .....	44
Tabela 6	Concentrações de NO <sub>2</sub> no testículo .....	45
Tabela 7	Concentrações de GSH no testículo .....	46
Tabela 8	Concentrações plasmáticas de GSH .....	47
Tabela 9	Concentrações plasmáticas de TBARS.....	48
Tabela 10	Concentrações de TBARS no testículo .....	49
Tabela 11	Atividade da MPO no testículo .....	50

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG	Aminoglicosídeo
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
ATP	Adenosina trifosfato
CAT	Catalase
CCM	Cúrcuma
CEUA	Comissão de ética no uso de animais (UFC)
CMC_Na	Carboximetilcelulose
COX-2	Ciclo-oxigenase-2
E-36	Acuponto Estômago 36
EAc	Eletoacupuntura
eNOS	Óxido nítrico sintase endotelial
ER	Espécies reativas
EROs	Espécies reativas de oxigênio
Gama-GT	$\gamma$ -glutamyl transferase
GM	Gentamicina
GPx	Glutathiona peroxidase
GSH	Glutathiona reduzida
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
IL	Interleucina
iNOS	NOS induzida
LPO	Peroxidação lipídica
MDA	Malonaldeído
MPO	Mieloperoxidase
MTC	Medicina tradicional chinesa
NAD	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo
NADH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo reduzida
NADP	Nicotinamina Adenina Dinucleotídeo fosfato
NADPH	Fosfato de Dinucleotídeo de Nicotinamida e Adenina
NFk $\beta$	Fator nuclear kappa B
NO	Óxido nítrico
NO <sub>2</sub>	Nitrito

RDC	Resolução da Diretoria Colegiada (ANVISA)
SOD	Superóxido dismutase
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral
VB-34	Acuponto Vesícula Biliar 34

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	16
1.1 As gônadas e o estresse oxidativo .....	16
1.2 O aminoglicosídeo gentamicina .....	17
1.3 A cúrcuma .....	18
1.4 A Acupuntura e a Eletroacupuntura .....	19
1.5 Justificativa e Relevância .....	22
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	23
2.1 Objetivo geral .....	23
2.2 Objetivos específicos .....	23
<b>3 MÉTODO</b> .....	24
3.1 Princípios éticos .....	24
3.2 Tipo de estudo.....	24
3.3 A amostra .....	24
3.4 Tratamentos .....	25
3.4.1 Cúrcuma.....	25
3.4.2 Eletroacupuntura .....	26
3.4.2.1 <i>Equipamento usado na eletro-estimulação</i> .....	27
3.4.2.2 <i>Técnica de aplicação da eletroacupuntura</i> .....	29
3.5 Desenho do experimento .....	30
3.6 Fluxograma de execução do experimento.....	31
3.7 Indução da lesão .....	32
3.8 Coleta de amostras para análise .....	33
3.9 Análises bioquímicas .....	33
3.9.1 Determinação das concentrações plasmáticas de glicose .....	34
3.9.2 Determinação das concentrações plasmáticas de uréia .....	34
3.9.3 Determinação das concentrações plasmáticas de creatinina.....	35
3.9.4 Determinação das concentrações de nitritos no testículo .....	35
3.9.5 Determinação das concentrações de GSH no plasma e no testículo..	37
3.9.6 Determinação das concentrações de TBARS no plasma e testículo ..	37
3.9.7 Determinação dos níveis de atividade da MPO no testículo .....	38
3.10 Análise estatística .....	39
<b>4 RESULTADOS</b> .....	40

4.1	Peso dos ratos .....	40
4.2	Peso dos testículos .....	41
4.3	Efeito do tratamento nas concentrações de glicose no plasma.....	42
4.4	Efeito do tratamento nas concentrações de uréia no plasma.....	43
4.5	Efeito do tratamento nas concentrações de creatinina no plasma .....	44
4.6	Efeito do tratamento nas concentrações de NO <sub>2</sub> no testículo .....	45
4.7	Efeito do tratamento nas concentrações de GSH no testículo .....	46
4.8	Efeito do tratamento nas concentrações de GSH no plasma .....	47
4.9	Efeito do tratamento nas concentrações de TBARS no plasma.....	48
4.10	Efeito do tratamento nas concentrações de TBARS no testículo .....	49
4.11	Efeito do tratamento na atividade de MPO no testículo .....	50
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>51</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>59</b>
	<b>REFERENCIAS</b> .....	<b>60</b>
	<b>APÊNDICES</b> .....	<b>69</b>
	<b>ANEXOS</b> .....	<b>79</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 As gônadas e o estresse oxidativo

As gônadas são órgãos fundamentais para a reprodução animal e exigem um grande aporte de energia para desempenhar adequadamente sua função. O aumento do metabolismo energético possivelmente é o responsável pelo aumento de espécies reativas (GARRATT *et al.*, 2012).

Os espermatozoides são suscetíveis a danos induzidos pelo estresse oxidativo devido ao grande teor de gordura poliinsaturada em suas membranas (KUMAR; GAUTAM; GUPTA, 2006). Nos últimos anos, muitos estudos revelaram que a gentamicina induz um estado de estresse oxidativo no testículo, aumentando a formação de radicais livres e a peroxidação lipídica. as alterações manifestam-se como alterações estruturais e citotóxicas no testículo. Outras alterações incluem redução do número de espermatozoides, motilidade e morfologia. (KHAKI *et al.*, 2008). Também ocorrem alterações estruturais como descamação do epitélio sonífero, vacúolos e lacunas no epitélio, picnose nuclear e alterações atróficas em alguns túbulos. (NARAYANA, 2008; KHAKI A. *et al.*, 2008).

O estresse oxidativo é um fator prejudicial para a função reprodutiva e uma das principais causas de infertilidade masculina por seus efeitos lesivos sobre as células germinativas e espermatozoides em desenvolvimento (AGARWAL; PRABAKARAN, 2005).

A espermatogênese é regulada por uma cascata de genes regulados por esteróides presentes nos testículos. Gao *et al.* (2012) usaram um modelo de rato cujo escroto foi tratado termicamente. Neste modelo, a espermatogênese foi interrompida após 30 min de tratamento térmico escrotal a 43°C. A seguir foi usada a eletroacupuntura para recuperação da espermatogênese.

Estudos recentes sugeriram que a acupuntura pode melhorar a fertilidade em homens com parâmetros anormais de sêmen. No entanto, os mecanismos subjacentes nos quais a acupuntura aumenta a espermatogênese permanecem amplamente desconhecidos (GAO *et al.*, 2012).

Estresse oxidativo pode ser definido como um distúrbio no equilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (radicais livres) e as defesas antioxidantes do organismo (HALLIWELL, 2012). Espécies reativas (ER) são classificados em radicalares e não-radicalares. As espécies radicalares possuem,



pelo menos, um elétron desemparelhado em alguma de suas camadas.

O radical hidroxil é o radical mais reativo conhecido in vivo, formado quando o peróxido de hidrogênio reage com um metal de transição ( $Fe^{2+}$  ou  $Cu^+$ ) formando dois hidróxidos (reação de Fenton), sendo que um deles é radical e o outro apenas um ion. O radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) é, ao mesmo tempo, um radical e um ânion e se forma quando um elétron é adicionado à molécula de  $O_2$ , podendo ser encontrado, principalmente na mitocôndria. O óxido nítrico (NO) é produzido em mamíferos pela oxidação da L-arginina catalisada pela óxido nítrico sintase e tem uma meia-vida de apenas alguns segundos (GUTTERIDGE; HALIWELL, 2018).

Os radicais superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), os radicais hidroxila ( $\cdot OH$ ) e oxigênio singlete ( $^1O_2$ ) são espécies reativas de oxigênio gerados como subprodutos metabólicos dos sistemas biológicos (SATO *et al.*, 2013; NAVARRO-YEPES. *et al.*, 2014). Diferentes processos, como fosforilação de proteínas, ativação de vários fatores transcricionais, apoptose, imunidade e diferenciação, são todos dependentes de uma produção adequada de radicais livres cuja presença dentro das células precisa ser mantida em baixos níveis (RAJENDRAN. *et al.* 2014).

## 1.2 O aminoglicosídeo gentamicina

Os aminoglicosídeos (AG) são conhecidos desde 1944, quando surgiu a estreptomicina. A gentamicina (GM), um dos principais representantes dos aminoglicosídeos de uso corrente, isolada do actinomiceto *Micromonospora purpúrea*, foi descoberta 19 anos mais tarde (BEGG; BARCLAY, 1995). Apesar da descoberta de novos antibióticos cada vez mais potentes, os AG ainda são a base da terapia antibacteriana contra infecções bacterianas Gram-negativas graves (JIA *et al.*, 2013).

A GM e outros aminoglicosídeos são altamente polares, não absorvidos pelo trato intestinal, mas rapidamente absorvidos após injeção intramuscular ou subcutânea. No presente estudo, usou-se a via intraperitoneal, já utilizada por outros pesquisadores (NARAYANA, 2008; ALY, 2019).

A GM não atravessa a placenta, nem a barreira hematoencefálica.e sua meia-vida é de 2-3 horas. Não há metabólitos conhecidos da GM (ALI, 1995) e a sua eliminação ocorre por filtração glomerular no rim (BENNETT, 1989).

Publicações abordando os efeitos tóxicos de GM estão disponíveis na rede mundial, mas estudos investigando os efeitos tóxicos da droga sobre a reprodução e a integridade do testículo ainda são escassos (AITKEN, 1997; Kim *et al.* (2014); ALY; KHAFAGY, 2014).

Segundo Kim *et al.* (2014) a GM induz um estado de estresse oxidativo no testículo, aumentando a formação de radicais livres e a peroxidação lipídica. As células germinativas e os espermatozoides em desenvolvimento são afetados pelo estresse oxidativo (ALY; KHAFAGY, 2014). O tecido testicular e a membrana plasmática do espermatozoide são ricos em ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) que normalmente fornecem a fluidez estrutural necessária para que as células espermáticas possam se engajar no evento de fusão de membrana (capacitação), associado à fertilização (AITKEN, 1997). Esses PUFA são altamente suscetíveis a danos oxidativos (SARADHA; MATHUR, 2006).

### 1.3 A Cúrcuma

O uso de plantas medicinais para tratar doenças humanas remonta a um passado longínquo. Entretanto, seu uso tornou-se mais intensivo neste século devido a uma crença popular que afirmava serem as drogas naturais mais saudáveis que a sintéticas. A cúrcuma é usada para fins medicinais na Índia há séculos e inúmeros relatos sobre seus efeitos protetores estão disponíveis (CRAGG; NEWMAN, 2005).

Dentre os inúmeros efeitos terapêuticos do extrato de *C. longa* destacam-se proteção renal (AGGARWAL; HARIKUMAR 2009; MOHEBBATI *et al.* 2016), hepatoproteção (DESHPANDE *et al.* 1998; KHAZDAIR *et al.* 2016), cardioproteção (AGGARWAL; HARIKUMAR, 2009; SRIVASTAVA; MEHTA 2009), neuroproteção (AGGARWAL; HARIKUMAR 2009) e gonadoproteção (ILBEY *et al.* 2009; AZZA *et al.* 2011)

Sua ação na prevenção da peroxidação lipídica e dos danos oxidativos no DNA está relacionada à presença do grupo fenólico-OH e de seus derivados  $\beta$  dicetona, reduzindo a liberação de ácido araquidônico em decorrência da inibição da lipoxigenase oxidativa e enzimas ciclooxigenase. Seu efeito anti-inflamatório está relacionado com a inibição da ativação de NF- $\kappa$ B (PAN; HUANG; LIN, 1999; CHOUDHARY; CHANDRA; KALE, 1999; DEVASENA; RAJASEKARAN; MENON,

2002).

Mathuria e Verma (2007) investigaram os efeitos da curcumina na peroxidação lipídica induzida por aflatoxina no fígado, rim e testículos de camundongos *in vitro*. Os homogeneinatos de tecido testicular foram tratados com aflatoxina (2-10 mg/mL) com e sem curcumina (25-200 mg/mL). Os resultados revelaram que a adição de aflatoxina (2-10 mg/mL) aos homogenatos causou um aumento significativo na peroxidação lipídica, máxima na concentração de 6 mg/mL de aflatoxina. Por outro lado, a adição concomitante de aflatoxina (6 mg/mL) e curcumina (25-200 mg/mL) ao homogeneinato produziu uma melhora dependente da concentração na peroxidação lipídica induzida por aflatoxina.

Mohebbati, Anaeigoudari e Khazdair (2017) realizaram uma revisão sistemática, analisando os efeitos da *C. Longa* e da curcumina sobre os sistemas reprodutores *in vitro* e concluíram que a *C. longa* e curcumina têm um efeito protetor sobre a atividade dos órgãos reprodutivos, através de processos anti-inflamatórios, antiapoptóticos e antioxidantes em células normais e efeitos pró-apoptóticos em células malignas e que os diferentes efeitos de *C. longa* e curcumina são dependentes das doses e do tipo de células utilizadas nos vários modelos estudados.

O irinotecano (IR/CPT-11) é um derivado semissintético solúvel em água do alcalóide camptotecina. e um fármaco antineoplásico do grupo topoisomerase I comumente utilizado para o tratamento de diversos tipos de câncer, embora apresente efeitos colaterais em tecidos como o testículo (UYANIC *et al.*, 2021). Uyanic *et al.* (2021) trataram ratos Sprague-Dawley com IR/CPT-11 (10 mg/kg/dia), administrado por via intraperitoneal e curcumina (CCM) 100 mg/kg administrado por via oral. Após 30 dias a análise laboratorial mostrou diminuições significativas nos níveis de glutatona (GSH), superóxido dismutase (SOD), glutatona peroxidase (GPx) e catalase (CAT). No entanto, a administração de CCM proporcionou uma menor redução nos níveis de GSH, SOD, CAT e GPx no tecido testicular.

#### **1.4 Acupuntura e a Eletroacupuntura**

A palavra Acupuntura deriva dos radicais latinos *acus* e *pungere*, que significam agulha e puncionar (SCHOEN, 2006; MACIOCIA, 2007). As origens da acupuntura remontam a um passado longínquo e perdem-se no tempo onde

evidências arqueológicas apontam para sua existência há mais de cinco mil anos. Achados arqueológicos da dinastia Shang (1766 – 1123 a.C.) incluíram instrumentos primitivos para a prática da acupuntura e textos, que abordavam temas sobre patologia médica (PAI, 2005). A tradição atribui ao mais antigo texto conhecido ao imperador amarelo e seu livro, “The Yellow Emperor’s Classic of Internal Medicine”, compilado em aproximadamente 700 a.C. onde os chineses descobriram que poderiam aliviar dores abdominais e articulares aquecendo o corpo com areias e pedras quentes. As Agulhas de Pedra (“Zhen Shih”) surgiram nessa época, e hoje são feitas de ouro, prata ou aço inoxidável, esterilizadas e estas últimas descartáveis. O livro citado, embora atribuído a Huang Di (o imperador amarelo) foi escrito por muitos praticantes médicos que viveram antes da era Qin. (WEN, 2008).

Nos últimos mil anos a prática da acupuntura se expandiu geograficamente, chegando ao Japão durante a dinastia Tang (aproximadamente 400 anos a.C.) e aos Estados Unidos há 300 anos (WEN, 2008). O despertar do interesse pela acupuntura entre os europeus pode ser atribuído ao sinólogo e consul francês Solié de Morant, ao publicar o *Compêndio da Verdadeira Acupuntura Chinesa em 1929*. Em 1979, as universidades francesas de Bordeaux, Lille e Marseille iniciaram o ensino da técnica, seguidas mais tarde pelas universidades de Montpellier e Nice (PAI, 2005).

No Brasil, a prática da Medicina Tradicional Chinesa se iniciou com a vinda dos primeiros imigrantes chineses para o Rio de Janeiro, em 1810. No início do século dezenove os imigrantes japoneses iniciaram a prática da acupuntura japonesa, restrita à colônia. Em 1958 Friedrich Spaeth, fisioterapeuta, considerado responsável pela difusão da acupuntura na sociedade brasileira na década de 1950, começou a ensinar esta prática milenar no Rio de Janeiro e em São Paulo (PAI, 2005). A partir de 1980 começou a inclusão de profissionais acupunturistas em alguns hospitais e serviços públicos em unidades de atenção primária à saúde.

Eletoacupuntura, é uma modalidade terapêutica neuromoduladora, que utiliza pequenos estímulos elétricos aplicados a duas ou mais agulhas inseridas em pontos de Acupuntura. O fluxo da corrente elétrica através de um meio condutor biológico desencadeia efeitos fisiológicos, envolvendo fenômenos eletroquímicos, eletrofísicos e eletrotérmicos (CAMERON, 2003).

A aplicação de estímulos elétricos para aliviar a dor tem sua origem na antiguidade. Durante a Quinta Dinastia Egípcia (cerca de 2500 anos a.C. já se

utilizava o peixe elétrico (*Malapterus electricus*) no tratamento da dor (BALDRY, 2007). Há muito o homem percebeu que aplicação de um estímulo doloroso poderia aliviar uma dor maior (MELZACK; WALL, 1965). Ventosas, escarificação, cauterização e a aplicação de substâncias irritantes, como o cantáride, usado por Hipócrates, foram utilizadas para alívio da dor (BALDRY, 2007).

Após a descoberta de dispositivos que podiam armazenar eletricidade para uso posterior (frascos de Leyden) tornou-se possível o tratamento de doenças pela eletricidade, no século XVIII. Nesta mesma época o médico francês Salandière, decidiu aplicar a estimulação elétrica para o tratamento da gota, dos reumatismos e das afecções nervosas (BALDRY, 2007). Efeitos indesejáveis (necrose do tecido) ocorreram, por tratar-se de corrente galvânica. O uso terapêutico de estímulos elétricos ocorreu dezoito anos mais tarde, com a descoberta de correntes alternadas por Faraday (BALDRY, 2007).

A analgesia por acupuntura foi usada inicialmente para suprimir a dor pós-operatória, na China, em um paciente que acusava dor intensa após uma amigdalectomia. O resultado foi surpreendente, o que levou aqueles profissionais a usar novamente a acupuntura antes da realização do procedimento cirúrgico, surgindo assim a anestesia por acupuntura (BALDRY, 2007). Para suprimir a dor evocada cirurgicamente era preciso estimular vigorosamente as terminações nervosas periféricas, o que era muito cansativo para o profissional. A eletroestimulação foi então utilizada (BALDRY, 2007).

Surgiu uma pergunta: qual a evidência científica que a analgesia por acupuntura realmente funciona? Um trabalho publicado em pelo *Peking Medical College Research Group of Acupuncture Anaesthesia* veio esclarecer esse questionamento, demonstrando que a analgesia por acupuntura estaria relacionada a liberação de substâncias químicas no sistema nervoso central (BALDRY, 2007).

O trabalho de Han *et al.* (1984) demonstrou que o tipo de peptídeo liberado no sistema nervoso depende da frequência da estimulação aplicada. Assim, baixas frequências (2 Hz) liberam metaencefalina, 100 Hz liberam dinorfina e 15 Hz liberam uma mistura encefalinas e dinorfinas (HAN *et al.*, 1984).

Hu *et al.* (2013) estudaram os efeitos da EAc, usando duas diferentes frequências alternadamente (2 e 100Hz) durante 30 minutos, aplicadas no acupunto Zusanli (E-36) em ratos submetidos a isquemia-reperfusão intestinal. No estudo a EAc demonstrou um efeito protetor, reduzindo significativamente a inflamação

intestinal e a quebra da barreira intestinal ao ativar um mecanismo colinérgico e antiinflamatório, com redução dos níveis do TNF- $\alpha$  no plasma e tecidos orgânicos. Houve ainda redução dos níveis de citocinas no intestino e dos níveis hepáticos de TNF-alfa e IL-8 (HU *et al.*, 2013).

Para Baldry (2007) o efeito antiinflamatório da EAc estaria relacionado a liberação de ACTH pela pituitária, promovendo a liberação do cortisol do córtex adrenal.

### 1.5 Justificativa e Relevância

A reprodução é um processo biológico que garante a manutenção das espécies. Os antibióticos usados no tratamento de processos infecciosos podem produzir alterações oxidativas, altamente lesivas para os processos de reprodução. Segundo Kim *et al.* (2014) a GM induz um estado de estresse oxidativo no testículo, aumentando a formação de radicais livres e a peroxidação lipídica.

Estudos mostram que o estresse oxidativo contribui para o desenvolvimento de infertilidade ao interferir nos processos fundamentais envolvidos na reprodução, incluindo espermatogênese, foliculogênese, fertilização, implantação e placentação (AGARWAL; GUPTA; SHARMA, 2005).

É necessário criar um equilíbrio entre os radicais livres produzidos para que a função das células testiculares não seja prejudicada. A ausência desse equilíbrio, resultante da incapacidade do sistema biológico testicular em desintoxicar ou reparar os efeitos adversos dos radicais livres, propicia lesões oxidativas nas células e tecidos (ROMEIO *et al.*, 2004). Os antioxidantes podem evitar esses danos neutralizando os radicais livres ou impedindo sua formação nas células testiculares (ASADI *et al.*, 2017).

Esta pesquisa torna-se relevante por buscar alternativas para a prevenção dos efeitos oxidativos do aminoglicosídeo gentamicina. A aplicação da EAc em determinados pontos do organismo pode reduzir o estresse oxidativo e a inflamação no testículo (ACIOLI *et al.*, 2014; CUI *et al.* 2018). Por outro lado, fitoterápicos também tem sido utilizados com esse propósito, com destaque para a cúrcuma.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar os efeitos sistêmicos e locais da cúrcuma e da eletroacupuntura em modelo de lesão testicular induzida por gentamicina.

### **2.2 Objetivos específicos**

1. Avaliar os efeitos tóxicos do aminoglicosídeo sobre o peso de ratos Wistar submetidos ao modelo de lesão por gentamicina;
2. Avaliar o efeito antioxidante e anti-inflamatório da cúrcuma administrada por via oral em ratos Wistar submetidos ao modelo de lesão por gentamicina;
3. Avaliar o efeito antioxidante e antiinflamatório da EAc 100 Hz em ratos Wistar submetidos ao modelo de lesão por gentamicina;
4. Avaliar o efeito antioxidante e antinflamatorio da associação cúrcuma – EAC 100 Hz em ratos Wistar submetidos ao modelo de lesão por gentamicina.

### **3 MÉTODO**

#### **3.1 PRINCIPIOS ÉTICOS**

O projeto foi protocolado sob o nº CEUA 5060011220 (ID 001850) e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Ceará (CEUA-UFC) na reunião de 30/03/2021 (ANEXO 1). A utilização de animais neste experimento está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, do Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA) visando proporcionar maior bem-estar aos animais em uso.

#### **3.2 TIPO DE ESTUDO**

Trata-se de um estudo prospectivo, controlado e comparativo entre sete grupos de ratos Wistar pre-tratados com altas doses do aminoglicosídeo gentamicina durante cinco dias consecutivos para desenvolvimento de um quadro de toxicidade e de estresse oxidativo seguido do tratamento com cúrcuma e eletroacupuntura para avaliação dos seus possíveis efeitos antioxidantes e antiinflamatórios.

#### **3.3 A AMOSTRA**

Foram utilizados 56 ratos adultos, com idade de 8-10 semanas, machos (*Rattus norvegicus: var. albinus, Rodentia, Mammalia*) com massa corporal variando de 160 a 280g da linhagem Wistar, saudáveis, bem nutridos, provenientes do Biotério Central da UFC, e mantidos no Biotério Prof. Eduardo Torres (setorial FAMED) em gaiolas de polipropileno, medindo 50x 60x 22 cm, providas de tampa com grade metálica de aço inoxidável em número de dois por caixa. As caixas foram acondicionadas em estantes ventiladas com exaustão de gases e redução de ruídos. Durante toda execução do protocolo, os animais tiveram livre acesso a água filtrada e ração irradiada (Nuvilab, Quimtia, Paraná) (ANEXO 2). A cama dos animais era constituída de maravalhas de pinus, irradiadas (Granja RG, São Paulo), trocadas a cada três dias. Em relação às condições do macro ambiente, os animais foram mantidos em um ciclo de claro/escuro de 12 horas, à temperatura média de  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  e umidade relativa de 55 a 60%. O sistema de exaustão promovia renovação total do



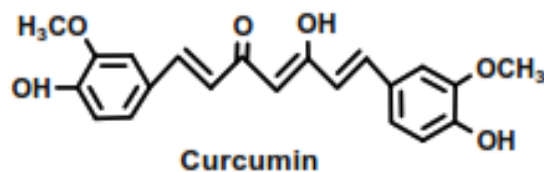
ar cerca de 10 vezes a cada hora.

### 3.4 TRATAMENTOS

#### 3.4.1 CURCUMA

A curcumina, cuja fórmula molecular é  $C_{21}H_{20}O_6$  (**Figura 1**) e peso molecular  $368,38 \text{ g.mol}^{-1}$  (**Figura 2**) é um pó de cor amarelada a vermelho alaranjada e praticamente insolúvel em água (LI *et al.*, 2011). O extrato seco de *Curcuma longa* (**Figura 2**), armazenado em capsulas contendo cada 250 mg de pó avermelhado (equivalente a 50 mg de curcuminoides), comercializado por Aché Laboratórios Farmacêuticos, Guarulhos, São Paulo, foi administrado por gavagem em doses de 100 e 200mg/Kg, diluídas em 1,0 ml de carboximetilcelulose de sódio (CMC\_Na) a 0,5% (A Formula – Farmácias de Manipulação, Fortaleza-CE). Como a substancia é insolúvel em água, as gavagens foram realizadas após diluição em CMC\_Na a 0,5%. A utilização da solução de CMC\_Na teve como base o trabalho de CAI *et al.*, 2017. Outros pesquisadores utilizaram carboximetilcelulose a 1% para diluição da CCM (ALHUSAINI; FADDA; HASAN *et al.*, 2019). Soluções frescas foram preparadas diariamente e estocadas em ambiente refrigerado a  $19^{\circ}\text{C}$ .

**Figura 1** – Formula molecular da curcumina (- [1, (1E,6E)-1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona)



Fonte: Priyadarsini, 2014

**Figura 2** – Cúrcuma longa – folhas, rizomas e pó extraído dos rizomas.



Imagem disponível em: <https://wormsargentina.com/wp-content/uploads/2018/02/C%C3%BArcuma-planta-1024x576.jpg>. Acesso em 07 nov 2021

### 3.4.2 A ELETROACUPUNTURA

Para a utilização da EAc, os animais foram previamente colocados em redes de contenção (**Figura 3**) durante 20 minutos, conforme utilizado em pesquisa realizada na Universidade Federal do Ceará (GONDIM, 2012). Essa técnica de imobilização foi idealizada e desenvolvida pela Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Mariana Lima Vale do Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Câncer (LAFICA – UFC).

**Figura 3** – Aplicação da EAc com o animal posicionado no dispositivo de contenção



Fonte: o autor (2021)

#### 3.4.2.1 Equipamento usado para eletroestimulação (NKL EL 608)

O EL 608 é um equipamento eletrônico, fabricado por NKL Produtos Eletrônicos Ltda., Brusque, Santa Catarina, Brasil, para uso na técnica de Eletro-

Acupuntura, que gera estímulos elétricos pulsados de baixa intensidade. O estímulo gerado pelo EL-608 é similar ao dos equipamentos convencionais do tipo “TENS” (estimulação elétrica transcutânea), porém com intensidade menor de pulso, estímulo controlado por fonte de corrente e controles diferenciados para a técnica. Sua interface de comunicação com o usuário foi aprimorada em comparação aos equipamentos convencionais. Quatro tipos de estímulo estão disponíveis: contínuo, intermitente (*BURST*), misto (onda densa / dispersa) e avançado (permite um controle maior dos parâmetros da forma de onda). O formato dos estímulos (pulsos) pode ser polarizado, não polarizado, bifásico ou bifásico alternado, e uma vasta gama de frequências, variando de 1 Hz a 2,5kHz (**Figura 4**).

**Figura 4** – EI-608 Eletro-estimulador



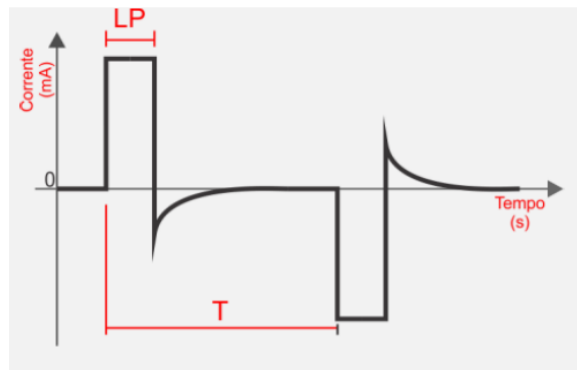
Fonte: o autor (2021)

Outras características do equipamento incluem largura de pulso ajustável e programação do tempo total de aplicação do estímulo (duração da seção de estimulação). O EL 608 armazena todas as informações da programação utilizada, em memória não volátil, permitindo um controle rigoroso do processo e uma uniformidade do tratamento aplicado. Assim, ao ser ligado, informações tais como corrente máxima de fundo de escala utilizada, aqui ajustada para 10 mA, quais as saídas ativadas (o aparelho é dotado de oito saídas, em grupos de quatro, comportando-se como dois aparelhos independentes. Por ser dotado de bateria

interna, o aparelho pode ser utilizado desconectado da fonte externa de energia elétrica, o que lhe confere maior segurança contra possíveis choques elétricos. A duração da bateria interna em condições de uso normal pode chegar a 15 horas contínuas ou intermitentes.

O tipo de pulso gerado no EL-608 é balanceado e é desacoplado por transformador de pulso. O formato do pulso em circuito aberto é descrito basicamente por um estágio retangular associado a um estágio exponencial invertido (**Figura 5**).

**Figura 5** – Pulso não polarizado



Legendas:

LP: largura do pulso, T: tempo de aplicação do estímulo elétrico

Fonte: NKL Produtos Eletrônicos Ltda., Brusque, Santa Catarina, Brasil

O tempo indicado por T, na figura Figura 4, é o intervalo de aplicação do estímulo unitário. Comumente, costuma-se representar este tipo de intervalo em uma unidade chamada de frequência, que nada mais é do que a quantidade de repetições de pulsos durante um segundo. Na mesma figura, o tempo indicado por LP (largura de pulso) representa o intervalo dentro do ciclo de estimulação onde efetivamente existe aplicação de corrente elétrica aos eletrodos.

O aparelho utilizado é novo, sem uso, e calibrado pela fábrica. Os parâmetros utilizados no presente estudo foram os seguintes:

Duração do tempo de estimulação: 15 minutos

Corrente de estimulação: 0,3 mA

Frequência de estimulação: 100 Hz

Tipo de estímulo: *Burst*

Pulso: não polarizado

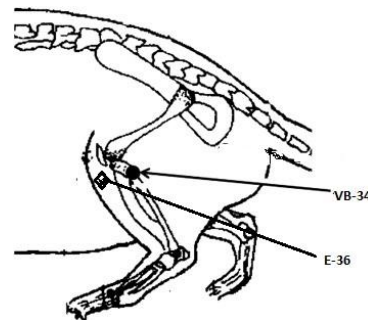
### 3.4.2.2 – Técnica de aplicação da Eletro-acupuntura

Para a aplicação das agulhas os animais foram imobilizados utilizando-se uma rede de contenção especialmente elaborada para essa finalidade, conforme já mencionado. No dispositivo, o animal têm seus membros colocados através de aberturas no tecido (rede), de modo que ficam suspensos do solo, quando a rede é fixada no arco de sustentação (Figura 3). O membro pélvico foi exposto através de uma das aberturas, permitindo a inserção de micro agulhas nos dois acupontos previamente selecionados, correspondentes aos acupontos humanos vesícula biliar 34 (VB-34) e estômago 36 (E-36), O primeiro (VB34) está localizado na depressão anterior e inferior à cabeça da fíbula (YIN et al., 2008) e o segundo (E-36) se localiza em região intensamente enervada, 5 mm abaixo da cabeça fibular e 2 mm lateral ao tubérculo anterior da fíbula (ramos laterais do nervo sural cutâneo, ramo cutâneo do nervo safeno e o ramo profundo do nervo peroneal (Figura 5) (YIN *et al.*, 2008).

Quando um ponto de acupuntura é puncionado, ocorre sensação de parestesia elétrica ou calor. Essa sensação é denominada *De Qi e nos* animais observa-se um leve repuxo de pele, uma discreta sonolência ou um breve tremor de cauda (HWANG; EGERBACHER, 2006).

Para a aplicação da EAc, agulhas foram inseridas unilateralmente, iniciando-se pelo membro pélvico direito (Figura 6). Na sessão seguinte as agulhas foram inseridas no membro pélvico esquerdo, alternando-se a lateralidade a cada nova aplicação. Após a inserção das agulhas, foram conectados eletrodos dotados de micro-garras tipo jacaré. O tempo de estimulação foi de 15 minutos, frequência de 100 Hz, intensidade de 0,3 mA, pulsos quadrados tipo *BURST*, conforme estabelecido no protocolo de utilização do aparelho. A intensidade elétrica aplicada era forte o suficiente para induzir leves contrações musculares nos membros pélvicos dos animais.

**Figura 6 –** Localização dos acupontos no rato

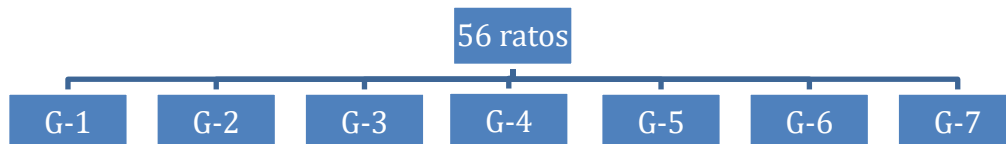


Legendas: VB-34: ponto vesícula biliar 34; E-36: ponto Estômago 36(Adaptado de Tanahashi et al., 2011)

### 3.5 DESENHO DO EXPERIMENTO

Cinquenta e seis ratos foram distribuídos de forma aleatória em sete grupos, cada um contendo oito animais (Figura 6). Todos os grupos receberam injeções intraperitoneais de GM (100mg/Kg, diluída em salina, 1,0 ml) durante 5 dias consecutivos.

**Figura 7 -** Distribuição dos grupos



Grupos:

G-1 – Salina      G-2 - CMC\_Na    G-3 – CCM 100mg

G-4- CCM 200mg    G-5 – EAc 100 Hz    G-6 CCM 100mg/Kg + EAc 100Hz

G-7 – CCM 20mg/Kg + EAc 100 Hz.

Os tratamentos foram iniciados no sétimo dia do estudo, 48 horas após a última injeção de GM. As gavagens e sessões de EAc foram aplicadas em dias alternados, durante 12 dias. Dois grupos (16 animais), usados como controles (G1 e

G2) foram tratados com salina 1,0 ml ou carboximetilcelulose de sódio (CMC-Na) a 0,5% (1,0 ml), respectivamente. Como a CCM não se dissolve em água, utilizou-se o CMC\_Na como diluente. Os demais grupos foram tratados conforme descrito a seguir: ratos do Grupo G3 receberam CCM 100 mg/Kg; animais do Grupo G4 receberam CCM 200 mg/Kg; ratos do Grupo G5 foram tratados com Eac 100 Hz, durante 15 minutos, em dias alternados, durante 12 dias); os demais grupos foram tratados com CCM 100 mg/Kg (Grupo G6) ou CCM 100 mg/Kg (Grupo G7). Uma hora após o término da gavagem, animais dos grupos G6 e G7 foram submetidos a sessões de Eletroacupuntura (EAc), utilizando uma frequência de 100 Hz, durante 15 minutos (dias alternados, durante 12 dias). Para padronização dos procedimentos os ratos que não foram submetidos à estimulação elétrica foram imobilizados durante 15 minutos nas redes contenção, uma hora após o término da gavagem. Ao término das sessões os animais foram reconduzidos as suas respectivas gaiolas, e levados de volta aos seus alojamentos. Para realização dos procedimentos de EAc sem a utilização de anestésicos, os animais foram colocados em dispositivos de contenção semelhantes as redes, com aberturas para a saída dos membros, suspensas em um arco metálico confeccionado para tal finalidade. Os animais passaram por períodos de aclimatação durante sete dias consecutivos anteriores aos tratamentos. Quarenta e oito horas após o término dos experimentos os animais foram anestesiados com Cetamina 80 mg/kg +Xilazina 8mg/kg via i.p. para coleta de sangue arterial por punção da aorta abdominal e dos testículos. Terminada a coleta os animais foram mortos utilizando uma dose triplicada de anestésicos.

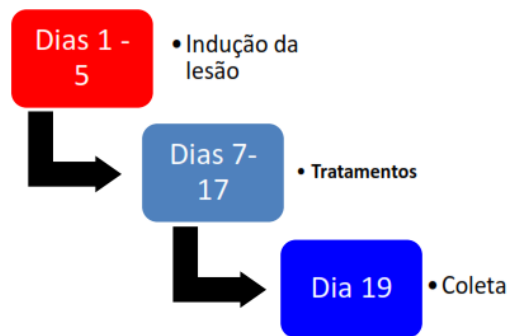
### 3.6 CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO DO EXPERIMENTO

#### Quadro 1 – Cronograma de execução do experimento

Dia 1	Início do processo de intoxicação dos animais com Gentamicina 100mg/Kg, via intraperitoneal, dissolvida em 1,0ml de soro fisiológico, diariamente, durante cinco dias (Todos os grupos: G1- G7)
Dia 7	Após 48 horas, foi iniciado o tratamento com cúrcuma 100mg/Kg dissolvida em CMC_Na a 0,5% (G3) ou 200mg/Kg dissolvida em CMC_Na a 0,5% (G-4), durante 12 dias (dias alternados). Os volumes administrados por gavagem foram ajustados em 1,0 ml com a adição de CMC_Na quando necessário. Os ratos do grupo G-5 foram tratados com estimulação elétrica (Eletroacupuntura, 100Hz, durante 15 minutos, em dias alternados, durante 12 dias (seis aplicações). Após 48 horas os animais do grupo G-6 e G7 foram tratados com cúrcuma 100mg/Kg (G6) ou 200mg/Kg (G-7), durante 12 dias (dias

	alternados), seguindo-se a aplicação da estimulação elétrica (Eletroacupuntura, 100 Hz, durante 15 minutos, em dias alternados, durante 12 dias (seis aplicações).
Dia 17	Último dia de aplicação dos tratamentos (gavagens e Eletroacupuntura)
Dia 19	Coleta das amostras (sangue arterial e testículos) sob anestesia intraperitoneal com Cetamina 80mg /Kg+ Xilazina 8mg/Kg. Após coleta, os animais foram mortos com a aplicação de dose triplicada de Cetamina + Xilazina.

**Figura 8** – Fluxograma de execução do experimento



**Indução da lesão:** diariamente, durante 5 dias  
Gentamicina 100 mg/Kg, i.p.

**Tratamentos:** dias alternados, durante 12 dias  
G3, G4:CC 100 – 200 mg/Kg  
G5 - Eac 100 Hz  
G6, G7 – CCM 100-200mg/Kg + EAc 100Hz

Fonte: o autor (2022)

### 3.7 INDUÇÃO DA LESÃO

Para a indução da lesão, todos os animais (Grupos G1-G7) receberam gentamicina injetável, 80 mg/2ml, (Fresenius Kabi Brasil Ltda, Anápolis, GO.) durante 5 dias consecutivos. O aminoglicosídeo foi aplicado por via intraperitoneal (IP) na dose de 100mg/Kg de peso do animal, acrescentando-se soro fisiológico (SF) até completar 1,0ml. A dose de GM foi selecionada tendo por base o trabalho de Ademiluyi *et al.* (2013). A aplicação da GM por via i.p. teve como base trabalhos científicos publicados por Narayana (2008) e Aly, (2019).



### 3.8 COLETA DE AMOSTRAS PARA ANÁLISE

O sangue arterial coletado por punção da aorta abdominal foi centrifugado (2500 rpm /15 min); o soro obtido foi armazenado em temperatura de -70° para posterior análise de parâmetros bioquímicos (Glicose, uréia, creatinina, nitritos (NO<sub>2</sub>), substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), Malonaldeído (MDA), Glutathiona reduzida (GSH).

O testículo direito foi dividido em duas partes. A primeira foi fragmentada e posteriormente utilizada para a dosagem de mieloperoxidase (MPO). A segunda parte foi homogeneizada em tampão de fosfato de sódio 0,05 M (pH 7,0). O homogeneizado foi centrifugado a 700 rotações /min durante 10 minutos a 4 ° C e o sobrenadante foi utilizado para a dosagem de Nitritos (NO<sub>2</sub>), TBARS (MDA) e de GSH.

### 3.9 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

Os parâmetros bioquímicos foram determinados utilizando-se kits comerciais e o Analisador Automático LABMAX PLENNO (Figura 9) do laboratório do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM/ UFC).

**Figura 9** - Analisador Automático LABMAX PLENNO



Fonte: o autor (2021)

Para a verificação dos efeitos tóxicos da GM e do tratamento com cúrcuma e eletroacupuntura foram realizadas as seguintes dosagens: Glicose, Ureia e Creatinina. Para avaliação do estresse oxidativo e da inflamação foram verificados as concentrações de MDA, NO<sub>2</sub>, GSH e a atividade da Mieloperoxidase.

### 3.9.1 Determinação da concentração de glicose no plasma

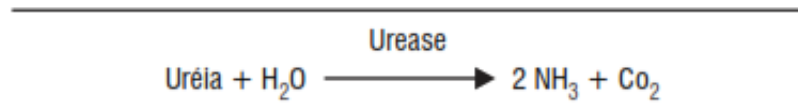
A determinação da concentração de glicose plasmática foi realizada por sistema enzimático, utilizando-se o Kit GLICOSE LIQUIFORM, Ref. 133 (Labtest Diagnóstica S.A. Lagoa Santa, M.G.). A glicose oxidase catalisa a oxidação da glicose.

O peróxido de hidrogênio reage com 4-aminoantipirina e fenol, sob a ação catalisadora da peroxidase, através de uma reação oxidativa de acoplamento formando uma antipirilquinonimina vermelha cuja intensidade de cor é proporcional à concentração de glicose na amostra.

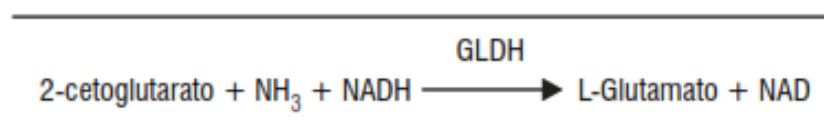
O método pode ser utilizado em técnica manual e é facilmente aplicável em analisadores semiautomáticos e automáticos capazes de medir com exatidão a absorvância entre 490 e 520 nm.

### 3.9.2 Determinação da concentração de Uréia no plasma

A concentração de uréia no plasma foi determinada por método enzimático, utilizando o Kit URÉIA UV LIQUIFORM Ref 104 (Labtest Diagnóstica S.A. Lagoa Santa, M.G.). A uréia é hidrolisada pela urease produzindo amônia e dióxido de carbono.

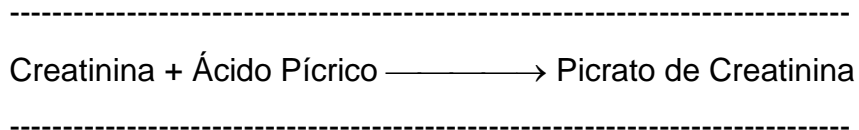


A amônia reage com o 2-cetoglutarato e NADH em uma reação catalisada pela glutamato desidrogenase (GLDH) promovendo a oxidação do NADH a NAD. A consequente redução da absorvância medida em 340 nm é proporcional à concentração de uréia na amostra.



### 3.9.3 Determinação da concentração de creatinina no plasma

A concentração de creatinina no plasma foi determinada por método enzimático, utilizando o Kit CREATININA K LIQUIFORM Ref 96 (Labtest Diagnóstica S.A. Lagoa Santa, M.G.). O método se baseia na observação de que a reação da creatinina com o picrato alcalino é muito rápida, enquanto a reação do picrato com os cromogênios é mais lenta. A medida da reação nos primeiros minutos permite a determinação da creatinina. A creatinina e outros componentes do soro reagem com a solução de picrato em meio alcalino, formando um complexo de cor vermelha que é medido fotometricamente.



### 3.9.4 Determinação da concentração de nitritos no testículo

Amostras de testículo direito foram analisadas para determinação das concentrações de nitrito pelo método de Griess (GREEN *et al.*, 1982). Em condições ácidas o nitrito reage com a sulfonilamida formando um composto intermediário, o sal diazônico. Em seguida este sal reage com o N-naftil-etilenodiamina (NEED) formando um azo estável de coloração púrpura, com o pico de absorbância em 540nm.

#### Preparo das soluções reagentes:

Colocar lentamente 5mL de ac. Fosfórico 5% no balão volumétrico de 100mL e completar com H<sub>2</sub>O destilada;

Pesar 0,1g da sulfonilamida (p-Aminobenzenesulfonamide - Sigma S 9251) e completar volume até 10mL com ácido fosfórico 5%;

Pesar 10mg do NEED - Dicloridrato de N- (1-naftil) -etilenodiamina) 2% e completar volume até 10mL com água destilada, preparado no dia da utilização.

#### REAGENTE DE GRIESS:

1 volume de ácido fosfórico 5%

1 volume de sulfonilamida 1% em ac. fosfórico 5%

1 volume de NEED 0,1% (C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>·2HCL)

1 volume de água destilada.

### **Preparação da Curva-Padrão**

Foi pesado 6,9 mg de  $\text{NaNO}_2$  e dissolvido em 10 mL de água bidestilada (estoque-10mM). Em seguida foram feitas as diluições em série (10 e 20x). Para o cálculo das concentrações do teste utilizou-se uma equação da reta (GREEN *et al.*, 1981). De modo resumido, para a confecção da curva padrão utilizou-se uma solução de nitrito de sódio em crescentes diluições, conforme descrito abaixo:

### **DILUIÇÕES PARA A CURVA PADRÃO:**

- Ponto 1 (1mM): Retirar 100 $\mu\text{L}$  da solução mãe (10mM) + 900  $\mu\text{L}$  do tampão utilizado para fazer o homogenato;
- Ponto 2 (100mM): Retirar 100  $\mu\text{L}$  da solução anterior (1mM) +900  $\mu\text{L}$  do tampão utilizado para fazer o homogenato;
- Ponto 3 (50 mM): Retirar 500  $\mu\text{L}$  da solução anterior (100mM) +500  $\mu\text{L}$  do tampão utilizado para fazer o homogenato;
- Ponto 4 (25mM): Retirar 500  $\mu\text{L}$  da solução anterior (50mM) +500  $\mu\text{L}$  do tampão utilizado para fazer o homogenato;
- Ponto 5 (12,5mM): Retirar 500  $\mu\text{L}$  da solução anterior (25mM) +500  $\mu\text{L}$  do tampão utilizado para fazer o homogenato;
- Ponto 6 (6,25mM): Retirar 500  $\mu\text{L}$  da solução anterior (12,5mM) +500  $\mu\text{L}$  do tampão utilizado para fazer o homogenato;
- Ponto 7 (3,12mM): Retirar 500  $\mu\text{L}$  da solução anterior (6,25mM) +500  $\mu\text{L}$  do tampão utilizado para fazer o homogenato;

### **Amostras:**

Para homogenato (amostras turvas): descongelar e centrifugar (15 min, 11000g, 4°C). O sobrenadante é utilizado para dosagem de nitrito.

### **Procedimento Experimental**

Adicionou-se 100 $\mu\text{L}$  do reagente de Griess à amostra ou tampão (branco) nos poços de uma placa de ELISA de 96 poços (Beckman Coulter DTX Multimode Detector, USA). Após incubação de 10 minutos ao abrigo da luz foi realizada a leitura a 540nm no espectrofotômetro. Os valores obtidos foram expressos em  $\mu\text{M/g}$  de tecido

### 3.9.5 Determinação da concentração de GSH no testículo e no plasma

A determinação da concentração da GSH baseia-se na reação do reagente de Ellman (1959). Para realização da análise foi preparado um homogenato com tecido a 10% em EDTA 0,02M; retirou-se 400 µL desse homogenato e adicionou-se 320 µL de água destilada e 80 µL de ácido tricloroacético a 50% (no eppendorff). A seguir o material foi agitado e centrifugado a 3000 rpm por 15 min. Finalmente, foi recolhido 400µL do sobrenadante e acrescido 800 µL de tampão Tris-HCl 0,4 M, pH 8,9 e mais 20 µL de 5,5'- ditiobis ácido 2-nitrobenzóico (DTNB) 0,01 M (ordem de adição: tampão – sobrenadante – DTNB). Após um minuto é feita a leitura no aparelho e os valores obtidos foram expressos em ng de GSH/g de tecido.

Para a determinação dos grupamentos sulfidril (GSH) totais utilizou-se uma alíquota de 50 µl do plasma misturada em 1 ml de tampão Tris-EDTA (1 mM), sendo feita uma primeira leitura a 412 (leitura A1). Após essa leitura foi adicionado 20 µl de 5,5'- ditiobis ácido 2-nitrobenzóico (DTNB) 10 mM, diluído em metanol. Esperou-se 15 minutos à temperatura ambiente e fez-se nova leitura (leitura A2). O branco (B) continha somente DTNB e tampão Tris-EDTA. A diferença entre os valores obtidos nas duas leituras foi utilizada para calcular a concentração de GSH, usando a regressão linear a partir de uma curva padrão. Os valores obtidos foram expressos em µM GSH/ml plasma.

### 3.9.6 Determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no testículo e no plasma

A determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) é um ensaio amplamente utilizado para medir a oxidação lipídica e a atividade antioxidante em alimentos e sistemas fisiológicos (GHANI. *et al.*, 2017).

O método, segundo Draper e Hadely (1990), é baseado na medida espectrofotométrica da cor roxa gerada pela reação do malondialdeído (MDA) com o ácido tiobarbitúrico (TBARS).

#### **Procedimento:**

A determinação dos níveis de MDA no testículo foi realizada segundo o método de Mihara e Uchiyama (1978). De modo resumido, o procedimento tem início

com a colocação de 250µL do homogenato a 10% nos eppendorf, seguindo-se um banho a 37° C durante uma hora. A seguir o material é precipitado com 400µL de ácido perclórico 35% e centrifugado (14.000 rpm) durante 15 minutos, na temperatura de 4°C. O sobrenadante foi transferido para outro eppendorf; adicionou-se 200µL de ácido tiobarbitúrico 1,2% e colocou-se o eppendorf em banho de 95-100° C durante 30 minutos. Deixou-se esfriar até o material ficar turvo e após nova centrifugação foi feita a leitura do sobrenadante a 535 nm. Os valores foram expressos em µmol MDA/g de tecido.

**Procedimento (plasma):**

Os níveis de TBARS foram estimados de acordo com o método espectrofotométrico descrito por Ohkawa, Ohishi e Yagi (1979). Foram acrescentados a cada tubo de ensaio 0,5 ml de plasma, 0,5 ml de solução salina normal, 1,0 ml de ácido tricloroacético a 20% (TCA) e 0,25 ml de reagente TBA (200 mg de ácido tiobarbitúrico em 30 ml de água destilada e 30 ml de ácido acético). Os tubos foram mantidos em fervura de 95° durante uma hora. A seguir foi adicionado a cada tubo de ensaio, 3,0ml de n-butanol, seguindo-se centrifugação (3000 rpm) durante 10 minutos. A camada de butanol separada foi coletada e lida em um espectrofotômetro contra reagente em branco a 535 nm. A concentração de substâncias reagentes ao ácido tiobarbitúrico foi expressa em de nmol de malondialdeído por mililitro de plasma (nmol MDA/ml de plasma).

**3.9.7 Determinação da atividade da mieloperoxidase no testículo**

Os neutrófilos constituem uma das principais fontes de superóxido do corpo (KETTLE; WINTERBOURN, 1997) Embora o superóxido seja absolutamente necessário para o processo de eliminação de microorganismos , sua presença pode ocasionar dano tecidual, em decorrência do estresse oxidativo.

A mieloperoxidase é a proteína mais abundante nos neutrófilos, representando até 5% do seu peso seco, e armazenada em seus grânulos azurofílicos (AGNER, 1941; SCHULTZ ; KARNINKER, 1962). Caracteriza-se como um tetrâmero formado por dois dímeros unidos por uma ponte dissulfeto (NAUSEEF; MALECH, 1966).

A atividade bactericida da MPO resulta da geração de HOCl (o principal

componente ativo do alvejante doméstico bem como de outras espécies oxidantes (KLEBANOFF *et al.*, 2013) O HOCl é altamente tóxico podendo induzir sinalização aberrante, dano e disfunção celular por inúmeras vias de relevância para o desenvolvimento de doença inflamatória (RAYNER.; LOVE.; HAWKINS, 2014).

A avaliação da atividade da MPO possibilita demonstrar de forma quantitativa a intensidade do recrutamento de neutrófilos no processo inflamatório (CRUZ; CAMPA, 2009).

**Procedimento:**

Amostras de testículo foram mantidas no gelo durante todo o tempo do ensaio. A amostra (50 mg) foi colocada em tampão potássio-fosfato pH = 6,0 contendo 0,5% do tampão HTAB (1,0 ml de tampão para cada 50 mg de tecido), pulverizada em nitrogênio líquido e congelada três vezes a -70° C. Após cada ciclo de congelamento o material foi sonicado e centrifugado por 15 minutos a 3.000 rpm, 4° C. Adicionou-se 30µL do sobrenadante da amostra e 200µL de o-dianisidina em cada cubeta de ensaio. A atividade da enzima por medida da absorbância nos tempos 0, 1 e 3 minutos, no comprimento de onda 460nm. O branco das amostras é o tampão fosfato com o-dianisidina. Os resultados foram expressos como µMol/g de tecido.

### **3. 10 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os dados obtidos no estudo foram submetidos a análise estatística, avaliando-se a sua normalidade com o teste de Kolmogorov-Smirnov e posteriormente calculando-se a média amostral e o desvio padrão (DP). Para os testes comparativos entre os grupos-controle (G1 e G2) e os grupos de intervenção aplicou-se o teste ANOVA/Dunnett. Os resultados foram expressos em forma de tabelas e gráficos. A significância estatística foi fixada em 0,05% ( $p < 0,05$ ). Os dados do estudo foram analisados utilizando-se o software *Graphpad Prism versão 5.0 para Windows*, GraphPad Software, San Diego, Califórnia, U.S.A.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Peso dos ratos

Os pesos médios dos ratos, aferidos no início e no fim do experimento, estão discriminados na Tabela 1. Observou-se uma variação de peso inicial dos animais entre 110,9 e 179,7 (peso médio: 156,8) e 247,0 e 275,0 (peso médio: 253,3).

**Tabela 1 – Peso médio dos ratos utilizados no estudo**

Grupos	n	Peso Médio		
		Dia 1	Dia 19	% aumento
<b>G1</b> – Controle Salino	8	110,9	248,0	44,7
<b>G2</b> – Controle CMC_Na	8	134,0	264,0	50,7
<b>G3</b> – Cúrcuma 100	8	168,5	247,0	68,2
<b>G4</b> – Cúrcuma 200	7*	165,1	239,0	69,0
<b>G5</b> – Eletroacupuntura 10 Hz	8	166,1	247,0	67,2
<b>G6</b> - Cúrcuma 100+EAc 100 Hz	8	179,7	253,0	71,0
<b>G7</b> – Cúrcuma200+EAc 100 Hz	8	173,8	275,0	63,2

(\*) Ocorreu um óbito no terceiro dia do experimento (G4, rato 8), causa indeterminada.

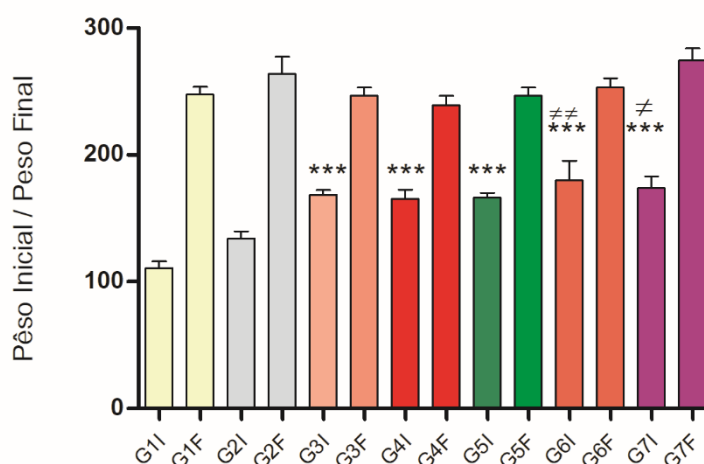
n = número de ratos em cada grupo

Dia 1 – primeiro dia do experimento, antes do início da indução da hepatotoxicidade

Dia 19 – quarenta e oito horas após a conclusão dos tratamentos.

Fonte: Elaborada pelo autor

**Gráfico 1 – Peso inicial (I) e final (F) dos ratos usados no estudo**



G1 - Controle Salina G2 Controle CMC\_Na G3 - Cúrcuma 100 G4 -Cúrcuma 200  
G5 - Eletroacupuntura (EAc) G6 - Cúrcuma 100+EAc G7 - Cúrcuma 200+EAc

\*\*\* $p < 0,001$  comparado a G1  $\neq p < 0,05$   $\neq p < 001$  comparado a G2

Teste ANOVA / TUKEY Fonte: elaborado pelo autor (2022)



## 4.2 Peso dos testículos dos ratos utilizados no estudo ao término do experimento (19° dia)

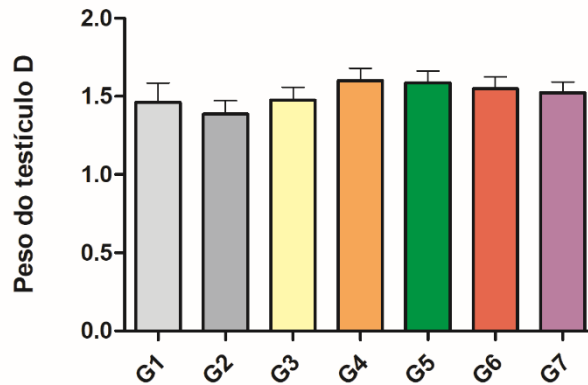
A comparação dos pesos dos testículos direito e esquerdo, ao fim do experimento, não mostrou diferenças significantes, quando comparados entre si. O peso médio dos testículos foi de 1,514 g (direito) e 1,523 g (esquerdo).

**Tabela 2** – Peso dos testículos no 19º dia do experimento

Grupo	Testículo Direito	Testículo Esquerdo
G-1 - Salina	1,46 ± 0,350	1,53 ± 0,296
G-2 - Diluente (CMC_Na)	1,39 ± 0,242	1,49 ± 0,247
G-3 – CCM 100 mg	1,48 ± 0,238	1,55 ± 0,251
G-4 – CCM 200 mg	1,60 ± 0,208	1,54 ± 0,190
G-5 – EAc 100 Hz	1,59 ± 0,210	1,44 ± 0,130
G-6 -CCM 100mg+EAc 100 Hz	1,55 ± 0,214	1,53 ± 0,104
G-7 -CCM 200mg+EAc 100 Hz	1,53 ± 0,191	1,58 ± 0,205

G1 - Controle Salina G2 - Controle CMC\_Na G3 - Cúrcuma 100 G4 - Cúrcuma 200 G5 – Eletro-Acupuntura G6 – Cúrcuma 100 + Eletroacupuntura 100 Hz G7 - Cúrcuma 200 + Eletroacupuntura 100 Hz. Fonte: elaborada pelo autor (2022).

**Gráfico 2** - Variação de peso do testículo direito no 19º dia do experimento



G1 - Controle Salina G2 Controle CMC\_Na G3 - Cúrcuma 100  
G4 -Cúrcuma 200 G5 - Eletroacupuntura (EAc) G6 - Cúrcuma 100+EAc  
G7 - Cúrcuma 200+EAc

Teste ANOVA / TUKEY Fonte: elaborado pelo autor (2022)

### 4.3 Efeitos do tratamento com cúrcuma e eletroacupuntura nas concentrações de glicose no plasma

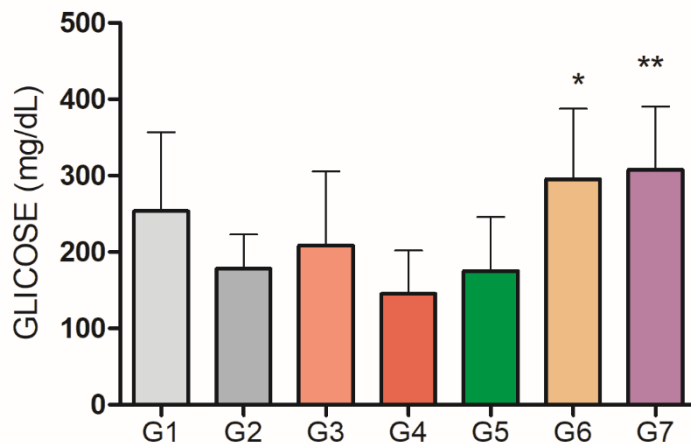
A glicemia é significativamente maior nos ratos dos grupos G6 ( $p < 0,05$ ) e G7 ( $p < 0,01$ ), quando comparados ao grupo G2.

**Tabela 3** - Concentrações de Glicose no plasma (mg/dL)

Grupo	Glicose (mg/dL)
G-1 - Salina	253,5 ± 102,90
G-2 - Diluente (CMC_Na)	178,0 ± 45,00
G-3 – CCM 100 mg	208,5 ± 96,79
G-4 – CCM 200 mg	145,0 ± 57,03
G-5 – EAc 100 Hz	175,0 ± 70,97
G-6 -CCM 100mg+EAc 100 Hz	295,4 ± 92,36
G-7 -CCM 200mg+EAc 100 Hz	307,7 ± 82,82

G1 - Controle Salina G2 - Controle CMC\_Na G3 - Cúrcuma 100 G4 - Cúrcuma 200 G5 – Eletro-Acupuntura G6 – Cúrcuma 100 + Eletroacupuntura 100 Hz G7 - Cúrcuma 200 + Eletroacupuntura 100 Hz. Fonte: elaborada pelo autor (2022).

**Gráfico 3** – Concentrações de Glicose no plasma (mg/dL)



G1 - Controle Salina G2 Controle CMC\_Na G3 - Cúrcuma 100 G4 -Cúrcuma 200  
 G5 - Eletroacupuntura (EAc) G6 - Cúrcuma 100+EAc G7 - Cúrcuma 200+EAc  
 \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$  comparado ao G2

Teste ANOVA / DUNNETT Fonte: elaborado pelo autor (2021)

#### 4.4 Efeitos do tratamento com cúrcuma e eletroacupuntura nas concentrações de Uréia no plasma

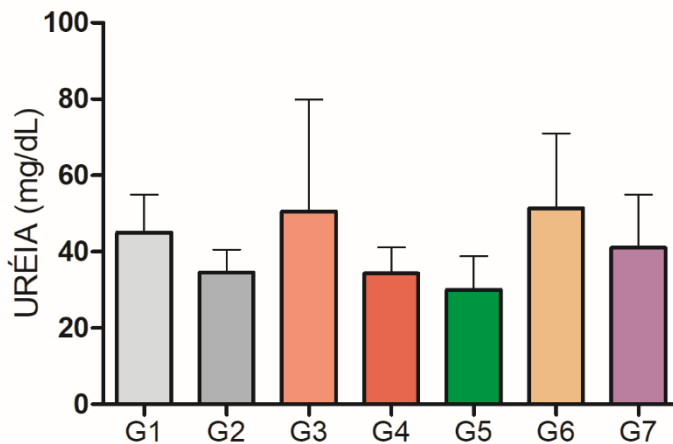
Não foram observadas diferenças significantes nas concentrações plasmáticas de uréia, comparando-se os controles aos grupos tratados com cúrcuma, eletroacupuntura ou combinação de cúrcuma com acupuntura.

**Tabela 4-** Concentrações de Uréia no plasma (mg/dL)

Grupo	UREIA (mg/dL)
G-1 - Salina	45,00 ± 9,97
G-2 - Diluente (CMC_Na)	34,50 ± 6,02
G-3 – CCM 100 mg	50,50 ± 29,47
G-4 – CCM 200 mg	34,29 ± 8,82
G-5 – EAc 100 Hz	30,00 ± 0,21
G-6 -CCM 100mg+EAc 100 Hz	51,38± 19,65
G-7 -CCM 200mg+EAc 100 Hz	41,00 ± 13,95

G1 - Controle Salina G2 - Controle CMC\_Na G3 - Cúrcuma 100 G4 - Cúrcuma 200 G5 – Eletro-Acupuntura G6 – Cúrcuma 100 + Eletroacupuntura 100 Hz G7 - Cúrcuma 200 + Eletroacupuntura 100 Hz. Fonte: elaborada pelo autor (2022).

**Gráfico 4** - Concentrações de Uréia no plasma (mg/dL)



G1 - Controle Salina G2 Controle CMC\_Na G3 - Cúrcuma 100 G4 -Cúrcuma 200 G5 - Eletroacupuntura (EAc) G6 - Cúrcuma 100+EAc G7 - Cúrcuma 200+EAc Teste ANOVA / DUNNETT Fonte: elaborado pelo autor (2022)

#### 4.5 Efeitos do tratamento com cúrcuma e eletroacupuntura nas concentrações de Creatinina no plasma

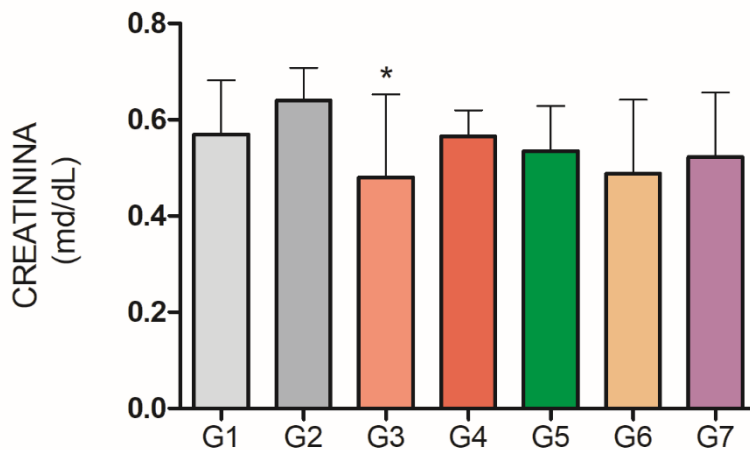
Houve redução significativa na concentração de creatinina no G3 ( $p < 0,05$ ) comparado ao controle G2.

**Tabela 5-** Concentrações de Creatinina no plasma (mg/dL)

Grupo	CREATININA (mg/dL)
G-1 - Salina	0,57 ± 0,11
G-2 - Diluente (CMC_Na)	0,64 ± 0,07
G-3 – CCM 100 mg	0,48 ± 0,17
G-4 – CCM 200 mg	0,57 ± 0,05
G-5 – EAc 100 Hz	0,54 ± 0,09
G-6 -CCM 100mg+EAc 100 Hz	0,49± 0,15
G-7 -CCM 200mg+EAc 100 Hz	0,52 ± 0,13

G1 - Controle Salina G2 - Controle CMC\_Na G3 - Cúrcuma 100 G4 - Cúrcuma 200 G5 – Eletro-Acupuntura G6 – Cúrcuma 100 + Eletroacupuntura 100 Hz G7 - Cúrcuma 200 + Eletroacupuntura 100 Hz. Fonte: elaborada pelo autor (2022).

**Gráfico 5 -** Concentrações de Creatinina no plasma (mg/dL)



G1 - Controle Salina G2 Controle CMC\_Na G3 - Cúrcuma 100 G4 -Cúrcuma 200 G5 - Eletroacupuntura (EAc) G6 - Cúrcuma 100+EAc G7 - Cúrcuma 200+EAc

\*  $p < 0,05$  comparado a G2

Teste ANOVA / DUNNETT Fonte: elaborado pelo autor (2022)

#### 4.6 Efeitos do tratamento com cúrcuma e eletroacupuntura nas concentrações de NO<sub>2</sub> no testículo

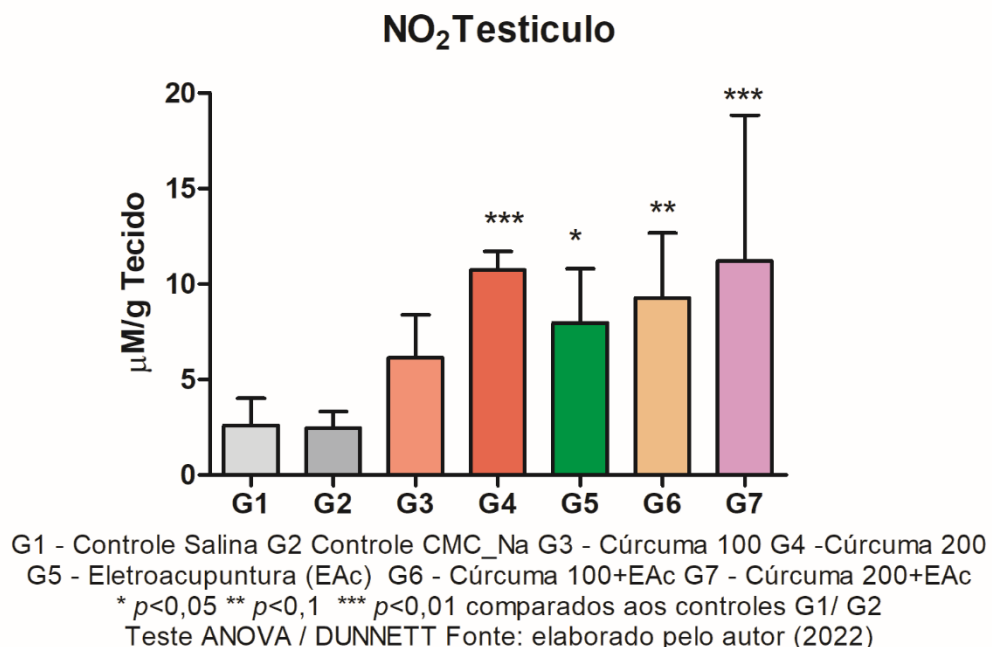
Houve aumento significativo nas concentrações de NO<sub>2</sub> no testículo nos grupos G4 ( $p < 0,001$ ), G5 ( $p < 0,05$ ), G6 ( $p < 0,01$ ) e G7 ( $p < 0,001$ ), comparados aos controles G1 e G2. Não houve diferenças significativas entre os grupos controle G1 e G2.

**Tabela 6** Concentrações de NO<sub>2</sub> no testículo direito ( $\mu\text{M/g}$ )

Grupo	NO <sub>2</sub> (testículo) $\mu\text{M/g}$
G-1 - Salina	2,61 $\pm$ 1,410
G-2 - Diluente (CMC_Na)	2,46 $\pm$ 0,860
G-3 - CCM 100 mg	6,15 $\pm$ 2,240
G-4 - CCM 200 mg	10,7 $\pm$ 0,959
G-5 - EAc 100 Hz	7,98 $\pm$ 2,820
G-6 - CCM 100mg+EAc 100 Hz	9,27 $\pm$ 3,400
G-7 - CCM 200mg+EAc 100 Hz	11,2 $\pm$ 7,620

G1 - Controle Salina G2 - Controle CMC\_Na G3 - Cúrcuma 100 G4 - Cúrcuma 200 G5 - Eletro-Acupuntura G6 - Cúrcuma 100 + Eletroacupuntura 100 Hz G7 - Cúrcuma 200 + Eletroacupuntura 100 Hz. Fonte: elaborada pelo autor (2022).

**Gráfico 6** – Concentrações de NO<sub>2</sub> no testículo ( $\mu\text{M/g}$ )



#### 4.7 Efeitos do tratamento com cúrcuma e eletroacupuntura nas concentrações de GSH no testículo

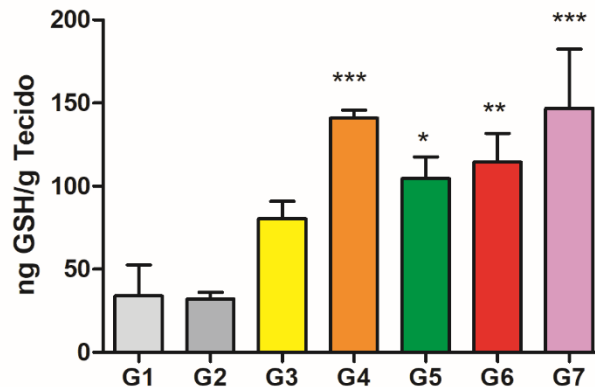
Houve aumento significativo nas concentrações de GSH no testículo dos grupos G4 ( $p < 0,001$ ), G5 ( $p < 0,05$ ), G6 ( $p < 0,01$ ) e G7 ( $p < 0,001$ ) comparados aos controles G1 e G2. Não houve diferenças significantes entre os grupos controle G1 e G2.

**Tabela 7** - Concentrações de GSH no testículo ( $\mu\text{Mol GSH/g}$ )

Grupo	GSH ( $\mu\text{Mol GSH/g}$ )
G-1 - Salina	34,0 $\pm$ 18,5
G-2 - Diluente (CMC_Na)	32,0 $\pm$ 11,3
G-3 - CCM 100 mg	80,5 $\pm$ 29,5
G-4 - CCM 200 mg	141,0 $\pm$ 12,6
G-5 - EAc 100 Hz	105,0 $\pm$ 37,1
G-6 -CCM 100mg+EAc 100 Hz	114,0 $\pm$ 49,1
G-7 -CCM 200mg+EAc 100 Hz	247,0 $\pm$ 100,0

G1 - Controle Salina G2 - Controle CMC\_Na G3 - Cúrcuma 100 G4 - Cúrcuma 200 G5 - Eletro-Acupuntura G6 - Cúrcuma 100 + Eletroacupuntura 100 Hz G7 - Cúrcuma 200 + Eletroacupuntura 100 Hz. Fonte: elaborada pelo autor (2022).

**Gráfico 7** – Concentrações de GSH no testículo ( $\mu\text{M/g}$ )



G1 - Controle Salina G2 Controle CMC\_Na G3 - Cúrcuma 100 G4 -Cúrcuma 200  
G5 - Eletroacupuntura (EAc) G6 - Cúrcuma 100+EAc G7 - Cúrcuma 200+EAc

\*\*  $p < 0,5$ , \*\*  $p < 0,1$ , \*\*\*  $p < 0,01$  comparados aos controles G1/ G2  
Teste ANOVA / DUNNETT Fonte: elaborado pelo autor (2022)

#### 4.8 Efeitos do tratamento com cúrcuma e eletroacupuntura nas concentrações plasmáticas de GSH

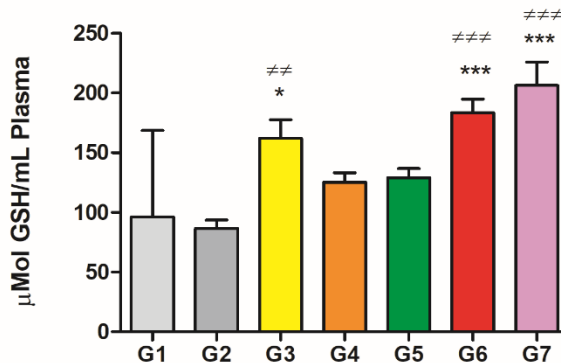
Houve aumento significativo nas concentrações de GSH nos grupos G3 ( $p<0,05$ ), G6 ( $p<0,001$ ) e G7( $p<0,001$ ) comparados ao G1. Houve aumento significativo do GSH nos grupos G3 ( $p<0,01$ ), G6 ( $p<0,001$ ) e G7( $p<0,001$ ) comparados ao G2.

**Tabela 8 - Concentrações de GSH no plasma ( $\mu\text{Mol GSH/mL}$ )**

Grupo	GSH ( $\mu\text{Mol/mL}$ )
G-1 - Salina	96,3 $\pm$ 72,4
G-2 - Diluente (CMC_Na)	86,8 $\pm$ 19,3
G-3 – CCM 100 mg	162,0 $\pm$ 44,4
G-4 – CCM 200 mg	125,0 $\pm$ 20,7
G-5 – EAc 100 Hz	125,0 $\pm$ 20,7
G-6 -CCM 100mg+EAc 100 Hz	183,0 $\pm$ 32,7
G-7 -CCM 200mg+EAc 100 Hz	206,0 $\pm$ 55,5

G1 - Controle Salina G2 - Controle CMC\_Na G3 - Cúrcuma 100 G4 - Cúrcuma 200 G5 – Eletro-Acupuntura G6 – Cúrcuma 100 + Eletroacupuntura 100 Hz G7 - Cúrcuma 200 + Eletroacupuntura 100 Hz. Fonte: elaborada pelo autor (2022).

**Gráfico 8 – Concentrações de GSH no plasma ( $\mu\text{M/ml}$ )**



G1 - Controle Salina G2 Controle CMC\_Na G3 - Cúrcuma 100 G4 -Cúrcuma 200  
G5 - Eletroacupuntura (EAc) G6 - Cúrcuma 100+EAc G7 - Cúrcuma 200+EAc

\*  $p<0,05$ , \*\*\*  $p<0,001$  comparados ao controle G1 \*\*  $p<0,01$  \*\*\*  $p<0,001$  comparados ao controle G2  
Teste ANOVA / DUNNETT Fonte: elaborado pelo autor (2022)

#### 4.9 Efeitos do tratamento com cúrcuma e eletroacupuntura nas concentrações plasmáticas de TBARS

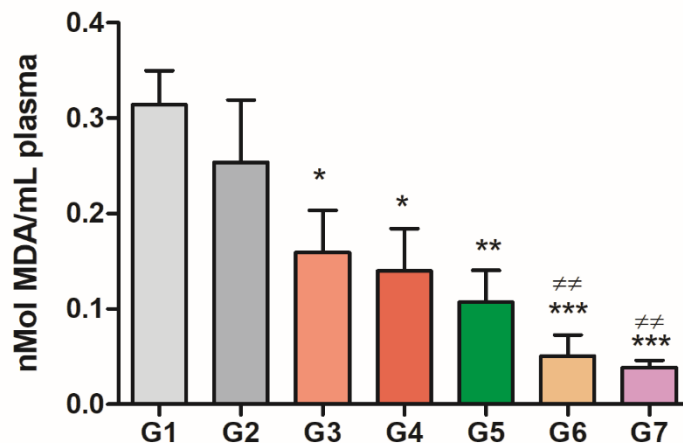
Houve diminuição significativa das concentrações plasmáticas de TBARS nos grupos G3 ( $p < 0,05$ ), G4 ( $p < 0,05$ ), G5 ( $P < 0,01$ ), G6 ( $p < 0,001$ ) e G7 ( $p < 0,001$ ) comparados ao controle G1 e nos grupos G6 ( $p < 0,001$ ) e G7 ( $p < 0,001$ ) comparados ao controle G2.

**Tabela 9 - Concentrações de TBARS no plasma ( $\mu\text{Mol MDA/mL}$ )**

Grupo	TBARS ( $\mu\text{Mol MDA/mL}$ )
G-1 - Salina	0,31 $\pm$ 0,10
G-2 - Diluente (CMC_Na)	0,25 $\pm$ 0,18
G-3 - CCM 100 mg	0,16 $\pm$ 0,13
G-4 - CCM 200 mg	0,14 $\pm$ 0,12
G-5 - EAc 100 Hz	0,11 $\pm$ 0,95
G-6 -CCM 100mg+EAc 100 Hz	0,051 $\pm$ 0,06
G-7 -CCM 200mg+EAc 100 Hz	0,039 $\pm$ 0,02

G1 - Controle Salina G2 - Controle CMC\_Na G3 - Cúrcuma 100 G4 - Cúrcuma 200 G5 - Eletro-Acupuntura G6 - Cúrcuma 100 + Eletroacupuntura 100 Hz G7 - Cúrcuma 200 + Eletroacupuntura 100 Hz. Fonte: elaborada pelo autor (2022).

**Gráfico 9 - Concentrações de TBARS no plasma ( $\mu\text{Mol MDA/mL}$ )**



G1 - Controle Salina G2 Controle CMC\_Na G3 - Cúrcuma 100 G4 -Cúrcuma 200 G5 - Eletroacupuntura (EAc) G6 - Cúrcuma 100+EAc G7 - Cúrcuma 200+EAc

\*  $p < 0,05$  \*\*  $p < 0,01$  \*\*\*  $p < 0,001$  comparados ao controle G1 ≠≠  $p < 0,01$  comparado ao controle G2  
Teste ANOVA / DUNNETT Fonte: elaborado pelo autor (2022)



#### 4.10 Efeitos do tratamento com cúrcuma e eletroacupuntura nos níveis de TBARS no testículo

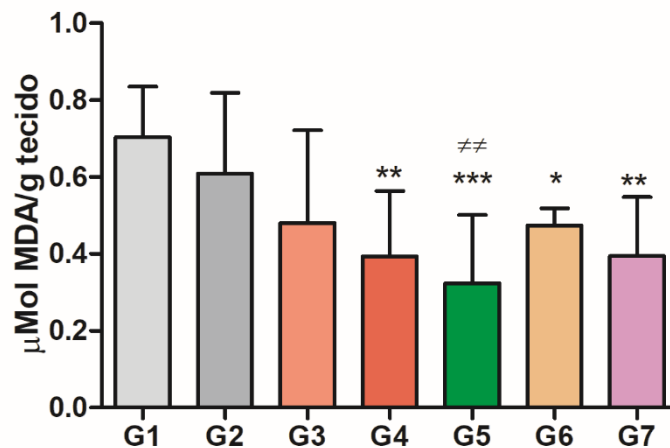
Houve diminuição das concentrações de TBARS no testículo nos grupos G4 ( $p<0,01$ ), G5 ( $p<0,01$ ), G6 ( $p<0,001$ ) e G7 ( $p<0,001$ ) comparados ao controle G1 e do grupo G5 ( $p<0,01$ ) comparado ao G2.

**Tabela 10** - Concentrações de TBARS no testículo ( $\mu\text{Mol MDA/g}$ )

Grupo	TBARS ( $\mu\text{Mol MDA/g}$ )
G-1 - Salina	0,704 $\pm$ 0,131
G-2 - Diluente (CMC_Na)	0,609 $\pm$ 0,210
G-3 – CCM 100 mg	0,481 $\pm$ 0,241
G-4 – CCM 200 mg	0,394 $\pm$ 0,170
G-5 – EAc 100 Hz	0,324 $\pm$ 0,177
G-6 -CCM 100mg+EAc 100 Hz	0,474 $\pm$ 0,044
G-7 -CCM 200mg+EAc 100 Hz	0,394 $\pm$ 0,154

G1 - Controle Salina G2 - Controle CMC\_Na G3 - Cúrcuma 100 G4 - Cúrcuma 200 G5 – Eletro-Acupuntura G6 – Cúrcuma 100 + Eletroacupuntura 100 Hz G7 - Cúrcuma 200 + Eletroacupuntura 100 Hz. Fonte: elaborada pelo autor (2022).

**Gráfico 10** - Concentrações de TBARS no testículo ( $\mu\text{Mol MDA/g}$  tecido)



G1 - Controle Salina G2 Controle CMC\_Na G3 - Cúrcuma 100 G4 -Cúrcuma 200 G5 - Eletroacupuntura (EAc) G6 - Cúrcuma 100+EAc G7 - Cúrcuma 200+EAc

\*  $p<0,05$  \*\*  $p<0,01$  \*  $p<0,001$  comparado ao controle G1; ##  $p<0,01$  comparado ao controle G2 Teste ANOVA / DUNNETT Fonte: elaborado pelo autor (2022)

#### 4.11 Efeitos do tratamento com cúrcuma e eletroacupuntura na atividade da MPO no testículo

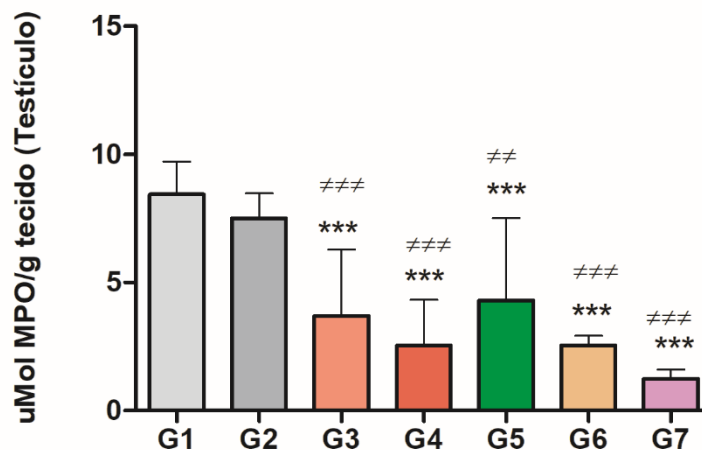
Houve redução significativa da atividade da MPO no testículo dos ratos dos grupos G3 ( $p < 0,001$ ), G4 ( $p < 0,001$ ), G5 ( $p < 0,001$ ), G6 ( $p < 0,001$ ) e G7 ( $p < 0,001$ ), comparados aos controles G1 e G2.

**Tabela 11** - Atividade da MPO no testículo ( $\mu\text{Mol MPO/g}$ )

Grupo	MPO ( $\mu\text{Mol MPO/g}$ )
G-1 - Salina	8,44 $\pm$ 1,28
G-2 - Diluente (CMC_Na)	7,51 $\pm$ 0,97
G-3 - CCM 100 mg	3,70 $\pm$ 2,57
G-4 - CCM 200 mg	2,55 $\pm$ 1,78
G-5 - EAc 100 Hz	4,31 $\pm$ 3,19
G-6 -CCM 100mg+EAc 100 Hz	2,55 $\pm$ 0,38
G-7 -CCM 200mg+EAc 100 Hz	1,25 $\pm$ 0,37

G1 - Controle Salina G2 - Controle CMC\_Na G3 - Cúrcuma 100 G4 - Cúrcuma 200 G5 - Eletro-Acupuntura G6 - Cúrcuma 100 + Eletroacupuntura 100 Hz G7 - Cúrcuma 200 + Eletroacupuntura 100 Hz. Fonte: elaborada pelo autor (2022).

**Gráfico 11** - Atividade da MPO no testículo ( $\mu\text{Mol MPO/g}$  tecido)



G1 - Controle Salina G2 Controle CMC\_Na G3 - Cúrcuma 100 G4 -Cúrcuma 200 G5 - Eletroacupuntura (EAc) G6 - Cúrcuma 100+EAc G7 - Cúrcuma 200+EAc

\*\*\*  $p < 0,001$  comparados ao controle G1 ##  $p < 0,01$  ###  $p < 0,001$  comparados ao controle G2  
Teste ANOVA / DUNNETT Fonte: elaborado pelo autor (2022)

## 5 DISCUSSÃO

Este estudo avaliou os possíveis efeitos protetores da curcumina administrada por via oral em doses crescentes (100 e 200 mg/Kg), isoladamente, ou combinada com a aplicação da EAc de alta frequência (100 Hz) nos acupontos E-36 e VB-34, usados na MTC para tratamento de distúrbios oxidativos e inflamatórios, em ratos pre-tratados com altas doses do aminoglicosídeo gentamicina.

A GM não atravessa a placenta nem a barreira hematoencefálica. Sua meia-vida é de 2-3 horas. Não há metabólitos conhecidos da GM (ALI, 1995) e a sua eliminação ocorre por filtração glomerular no rim (BENNETT, 1989). A GM e outros aminoglicosídeos são altamente polares, não são absorvidos no trato intestinal, mas são rapidamente absorvidos após injeção intramuscular ou subcutânea. No presente estudo usou-se a via intraperitoneal para a administração da GM, via já utilizada por outros pesquisadores (NARAYANA, 2008; ALY, 2019).

Efeitos de C. longa e da curcumina em ratos machos expostos aos eventos adversos acarretados por exposição a água poluída por nitrato foram examinados (AZZA *et al.* 2011). Os pesquisadores encontraram redução dos componentes antioxidantes testiculares, incluindo superóxido dismutase (SOD), glutatona (GSH) e  $\gamma$ -glutamil transpeptidase ( $\gamma$ -GT). A administração de curcumina (20 mg/kg, p.o.) se mostrou eficaz na redução dos efeitos reprodutivos induzidos por nitrato (peroxidação lipídica, perfil lipídico, componentes antioxidantes, proteína total, DNA, RNA e número de espermatozóides (AZZA *et al.* 2011).

As múltiplas propriedades terapêuticas da acupuntura no ponto E-36 tais como efeito anti-inflamatório (ZHU. *et al.*, 2015), efeito antioxidante (WANG *et al.*, 2017), melhoria do sistema imunológico (ZHANG, *et al.*, 2021) e restauração das funções gastrointestinais (HUANG, *et al.*, 2019) já foram relatadas. Estudos mais recentes mostram que a EAc aplicada ao acuponto E-36 modula a inflamação sistêmica induzida por endotoxina através da condução das distintas vias simpáticas e tornando conhecido o mecanismo do eixo anti-inflamatório vagal-adrenal (LIU. *et al.*, 2020; LIU.*et al.*, 2021).

O rato foi o animal selecionado para a realização do experimento. Animais aparentemente saudáveis foram tratados com altas doses de GM, um aminoglicosídeo capaz de produzir efeitos tóxicos em vários órgãos, notadamente, no fígado, no rim, no testículo e no ouvido e ainda hoje usado no tratamento de infecções por bactérias

gram-negativas. Durante o estudo os animais não exibiram sinais visíveis de intoxicação, mas dois ratos apresentaram diarreia passageira após a terceira dose de GM. Um dos animais (Grupo 3) teve morte súbita ao ser selecionado para receber a terceira dose de gentamicina. O antibiótico não foi aplicado. Acredita-se que possa ter sido decorrente do nível de estresse.

Ali, Abdel-Gayoum e Bashir (1992) examinaram o efeito do tratamento de ratos com doses graduadas de GM sobre o peso corporal de ratos tratados com doses crescentes de GM (20, 40 e 80 mg/kg/dia por 6 dias) e constataram que houve redução do peso de maneira dose-dependente. As reduções de peso foram mais acentuadas nos dias 4, 5 e 6 do tratamento, possivelmente relacionadas aos efeitos tóxicos progressivos da GM. Os pesos corporais se recuperaram gradualmente com a retirada da droga e, no dia 14, não eram significativamente diferentes dos controles.

Neste estudo, o peso médio dos ratos aumentou ao longo do experimento variando de 156,8 (dia 1) a 253,3 (dia 19). A análise dos valores obtidos na pesagem dos animais mostrou diferenças significantes ( $p < 0,001$ ) entre os grupos tratamento e o G1 e nos grupos G6 e G7 quando comparados ao grupo controle G2. Ao final do experimento não foram verificadas diferenças significantes entre os pesos médios de cada grupo, denotando uniformidade da amostra. A comparação dos pesos dos testículos direito e esquerdo, ao fim do experimento, não mostrou diferenças significantes, quando comparados entre si. O peso médio dos testículos foi de 1,514 g (direito) e 1,523 g (esquerdo).

O nível de glicose aumentou significativamente nos ratos dos grupos G6 e G7, tratados com CCM e EAc, quando comparados ao grupo G2. Um dado importante é que todos os animais apresentaram altos níveis de glicose. Os animais não foram submetidos a jejum antes da coleta do sangue e eram, aparentemente animais saudáveis. O sangue foi coletado ao fim do procedimento, em animais anestesiados com ketamina + xilazina.

É fato conhecido que alguns anestésicos, entre os quais a ketamina tendem a produzir hiperglicemia. A liberação de corticoides e catecolaminas desempenha papel fundamental no aumento dos níveis de glicose sanguínea. Os glicocorticóides aumentam a conversão de proteínas endógenas em carboidratos e promovem acúmulo de glicogênio no fígado. Por outro lado, as catecolaminas e em especial a adrenalina, requerem a presença de cortisol para liberar na circulação quantidades

apreciáveis de glicose a partir do glicogênio hepático (OYAMA, 1973). Baseados nessas evidências, acredita-se que o aumento dos níveis de glicose possa ser consequência do anestésico utilizado na ocasião da coleta de material para análise.

No presente estudo as concentrações de glicose plasmática foram significativamente maiores nos ratos tratados com a combinação cúrcuma + eletroacupuntura. (G6 e G7) quando comparados ao grupo G2. G7 foi 207,7% maior que G2 e G6 foi 195,4 maior que G2. Não se observou diferença significativa com relação ao G1.

Era de se esperar uma redução da glicemia, com o uso da EAc, o que não ocorreu. Estudos experimentais, utilizando diferentes frequências, demonstraram que a EAc ativa os nervos colinérgicos e induz a liberação de  $\beta$ -endorfina e outros peptídeos opióides endógenos pelas glândulas adrenais, promovendo a secreção de insulina e conseqüentemente modulando os níveis de glicemia (CHANG *et al.*, 1999; LING.; CHANG; CHENG 2002; CHUNG *et al.*, 2020)

Nocite (1973) estudou os efeitos do anestésico em pacientes submetidos a procedimentos cirúrgicos de pequeno porte. Como o estresse cirúrgico é mínimo, não há elevação da glicemia mas a aplicação da ketamina determinou invariavelmente elevação da glicemia. Estudos publicados já comprovaram esse efeito, atribuído a estimulação da atividade adrenocortical (OYAMA, 1973) e ao aumento da atividade simpática traduzida por elevação da concentração de noradrenalina livre no plasma (ZSIGMOND; KELSCH; KOTHARY, 1974).

Chien *et al.* (2021) estudaram os efeitos da curcumina na síndrome dos ovários policísticos e concluíram que a curcumina pode melhorar o controle glicêmico e o metabolismo lipídico nesses pacientes, sem efeitos adversos significativos.

Harpin *et al.* (2020) estudaram os efeitos da Eletroacupuntura (2 Hz, durante 30 minutos antes da indução da sepse com *E. coli*) nos níveis de ureia e creatinina em modelo murino. A coleta de sangue e análise laboratorial foram realizadas 6 horas depois. Observou-se redução significativa das concentrações de ureia e creatinina nos ratos tratados com EAc, comparados ao controle .

Xu *et al.* (2021) avaliaram os efeitos da curcumina contra disfunções hepáticas e renais induzidas por arsênico em camundongos. O tratamento com curcumina (200 mg/kg) não só diminuiu a deposição de arsênico no fígado e no rim, mas também aliviou os índices bioquímicos hepáticos e nefríticos (AST, ALT,

albumina e creatinina). Segundo os pesquisadores, esses efeitos dependem da inibição das vias das proteínas quinases ativadas por mitógeno e Fator nuclear kappa B (MAPKs/NF-kB) e da ativação do fator nuclear eritroide 2 (Nrf2).

No presente estudo, utilizando EAc na frequência de 100 Hz, não foram observadas diferenças significantes nas concentrações plasmáticas de ureia. Entretanto, nos ratos tratados com cúrcuma (G3) houve redução significativa da creatinina, ratificando o efeito protetor da cúrcuma.

Muitas plantas utilizadas como alimento e na medicina tradicional são capazes de produzir antioxidantes e compostos farmacologicamente ativos (BISWAS *et al.*, 2005; SUNDARAM; MITRA, 2007; VENKATANARAYANA *et al.*, 2012).

A curcumina é o principal pigmento amarelo encontrado no rizoma da *Curcuma longa* Linn., muito utilizado como um tempero e corante em vários alimentos, tais como curry e mostarda e batata frita bem como em cosméticos e medicamentos (AMMON; WAHL, 1991) JOE; VIJAYKUMAR; LOKESH, 2004). Entre seus efeitos farmacológicos destacam-se o anti-inflamatório (AGGARWAL; HARIKUMAR, 2009) e o antioxidante (OKADA *et al.*, 2001; MARCHIANI *et al.*, 2014). Diferentes mecanismos são ativados para que o efeito antioxidante ocorra. Segundo Menon e Sudheer (2007) a CCM pode eliminar radicais livres (espécies reativas de oxigênio e nitrogênio), enquanto modula a atividade das enzimas antioxidantes glutathione peroxidase (GPx), catalase (CAT) e superóxidodismutase (SOD) na neutralização de radicais livres (LIN *et al.*, 2007; MARCHIANI *et al.*, 2014). Enzimas geradoras de radicais livres, tais como a lipoxigenase/ciclooxygenase e a xantina hidrogenase/oxidase são inibidas pela CCM (LIN, 2007). O efeito antiinflamatório da curcumina é obtido, provavelmente, pela inibição da atividade da ciclooxygenase-2 (COX-2), da lipoxigenase (LOX) e a óxido nítrico sintase induzível (iNOS), enzimas que medeiam os processos inflamatórios (MENON; SUDHEER, 2007). Finalmente, por ser um composto lipofílico, a CCM é um eficiente limpador de radicais peroxila (PRIYADARSINI *et al.*, 2003).

Vários estudos mostraram que a EAc produz resultados mais consistentes e reprodutíveis que a acupuntura em estudos clínicos e de pesquisa e é eficaz para o controle da dor (BURNSTOCK, 2009), recuperação funcional do tecido (DING *et al.*, 2009) e imunomodulação (LIU *et al.*, 2013).

Segundo Sugai *et al.* (2004) a EAc pode ser utilizada no tratamento de

inúmeras doenças e para melhorar o funcionamento visceral autonômico. Baixas frequências (2 Hz) promovem a liberação de meta-encefalina, altas frequências (100 Hz) liberam dinorfina e frequências intermediárias (15 Hz) liberam uma mistura encefalinas e dinorfinas (ULETT; HAN; HAN,1998). Os efeitos produzidos pela EAc de baixa frequência são mediados por neurônios pós-ganglionares simpáticos, enquanto que os efeitos modulados pela EAc de alta frequência trafegam pelo eixo medular simpático-adrenal (KIM *et al.*, 2008).

Leung *et al.* (2016) trataram ratos naturalmente hipertensivos com eletroacupuntura 2 Hz aplicada nos acupontos E-36 e F-3 durante 5 dias por semana, durante 6 semanas, e observaram redução da pressão arterial e do estresse oxidativo com aumento da biodisponibilidade de óxido nítrico.

Villegas-Bastida *et al.* (2014) trataram ratos em modelo de sepse induzida por ligadura e punção do ceco. A estimulação elétrica foi aplicada bilateralmente no acuponto E36, utilizando uma corrente de 40 mA e frequência de 30Hz e concluíram que este procedimento reduz a inflamação sistêmica. Houve redução significativa das concentrações séricas de TNF, IL-6 e nitrito nos ratos tratados, quando a integridade do nervo vago foi preservada. Esses resultados não foram observados em ratos submetidos a vagotomia infradiafragmática.

Costa (2019) tratou ratos intoxicados com altas doses de acetaminofeno e posteriormente os submeteu ao tratamento com eletroacupuntura 100 Hz (agulhas aplicadas nos acupontos VB-34, E-36, BP-6 e R-3) durante 8 dias, constatando aumento significativo das concentrações de NO<sub>2</sub>, comparado aos controles, efeito que não foi observado nos ratos tratados com eletroacupuntura de baixa frequência (2 Hz).

A curcumina reduz a formação de nitrito durante a oxidação do óxido nítrico (NO) em solução. Essa diminuição na produção de nitrito foi atribuída ao sequestro direto de NO pela curcumina (JOHNSTON; DeMASTER, 2003).

No presente estudo houve aumento significativo das concentrações de NO<sub>2</sub> no testículo nos grupos G4, G5, G6 e G7, comparados aos controles G1 e G2. Não houve diferenças significativas entre os grupos controle G1 e G2.

A utilização da EAc 100 Hz produziu resultados semelhantes aos encontrados por Costa (2019), com aumento significativo dos níveis de NO<sub>2</sub> nos ratos tratados com EAc (Grupos G5, G6 e G7). O maior aumento do nível de NO<sub>2</sub> ocorreu no grupo G7 (329%) e o menor aumento ocorreu no grupo G3 (135,6%). Esses resultados são

semelhantes aos encontrados por Costa (2019). Embora a combinação cúrcuma + acupuntura tenha um poderoso efeito antioxidante, o seu uso não foi capaz de impedir o aumento do NO<sub>2</sub>. nos grupos estudados.

O tratamento com cúrcuma (200mg/Kg) isoladamente ou combinado com EAc 100 Hz (Grupos G4 e G7) induziu aumento significativo das concentrações de GSH no testículo e no plasma dos ratos pre-tratados com GM. Em termos percentuais o aumento da concentração tecidual do GSH variou de 136,8% (G-5) até 626,5% (G-7). No plasma os aumentos variaram de 29,8% (G3 e G4) até 115% (G7) O mesmo efeito foi observado nos animais tratados com menores doses de cúrcuma (100mg/Kg) combinado com a EAc 100 Hz. Semelhante resultado foi observado no plasma, com aumento dos níveis de GSH nos mesmos animais e ainda no grupo G3, onde os animais foram tratados com cúrcuma 100mg/Kg, ocorrendo um aumento dos níveis de GSH (68% em relação ao controle G-1), comprovando o efeito protetor, antioxidante, da cúrcuma e da EAc. Observa-se que o efeito protetor foi maior nos ratos que receberam maior dose de cúrcuma. O uso da EAc ou da cúrcuma também promoveu ação antioxidante, embora em menor proporção.

Resultado semelhante foi obtido por Lima *et al.* (2012) que estudaram os efeitos da EAc em retalhos cutâneos de ratos submetidos a isquemia-reperfusão. A aplicação de estímulos elétricos (EAc) no dorso dos animais, em apenas duas sessões, nos dias 3 e 7 do experimento, proporcionou redução do estresse oxidativo com aumento dos níveis de GSH e diminuição da atividade da MPO. Houve ainda aumento dos níveis de MDA apenas no grupo 4, tratado com EAc 100 hz. Santos *et al.* (2014) utilizaram estímulos elétricos de 2 e 100 Hz em ratas com estresse oxidativo e encontraram aumento do nível de GSH no plasma dos animais.

Analisando as concentrações plasmáticas de TBARS, observou-se diferença significativa nos grupos G3-G7 comparados ao controle G1 e nos grupos G-6 e G-7 comparados ao controle G-2. Verificou-se que o tratamento com cúrcuma isoladamente ou combinada com a EAc promoveu redução significativa do estresse oxidativo em percentuais variando de 93,8% (G-3) a 220% (G-6) no plasma. No tecido (testículo) a maior redução ocorreu no grupo G5 (118,8%), Resultado ainda mais marcante foi observado no plasma onde os percentuais de redução variaram de 23% (G-3) a 107% (G-7). A combinação cúrcuma +EAc foi a mais eficiente na redução do estresse oxidativo sistêmico (no plasma).

No estudo apresentado por Silva *et al.* (2011) onde os ratos foram eletro-



estimulados com 100 Hz, em sessão única, durante 30 minutos, foi observado um aumento significativo da peroxidação lipídica e do estresse oxidativo. A explicação para esse resultado diametralmente oposto, parece ter relação com o tempo de estimulação, vez que durou 30 minutos, o dobro do tempo de aplicação da EAc usado no presente estudo.

O acuponto E-36 é tradicionalmente utilizado para atenuar a inflamação (XIA; GUAN; YANG, 2014). Várias pesquisas em modelos animais de inflamação confirmam os efeitos anti-inflamatórios da EAc aplicada no acuponto E-36. Yim *et al* (2007) observou diminuição de TNF- $\alpha$  e níveis de interleucina-6 em modelo de artrite induzida por colágeno em camundongos. Gu *et al.* (2011) demonstraram que a aplicação de EAC no acuponto E-36 teria efeito nefroprotetor decorrente da diminuição os níveis de TNF- $\alpha$  e interleucina-1 em modelo de nefrite acuda induzida por lipopolissacarideo.

Níveis elevados de MPO no plasma e nos tecidos foram detectados em muitos distúrbios inflamatórios. Segundo Rehring *et al.* (2021) evidências emergentes indicam que a MPO pode modular diretamente a função celular e as respostas imunes, tornando-a um biomarcador de doenças atraente e um alvo terapêutico. A inflamação pode ser também avaliada pelos níveis de citocinas. Shi *et al.* (2008) usando EAc (2 e 100 Hz) em E-36 e Yu *et al.* (2014), usando frequências mais baixas (2Hz e 15Hz) reduziram o conteúdo de TNF-a e IL-6 no tecido em seus modelos de lesão. Uma redução significativa da atividade de MPO foi observada usando EAc em E-36 e BP-6 em ratos (SILVA *et al.*, 2011; SANTOS *et al.*, 2014). Costa (2019) estudou os efeitos da intoxicação por altas doses de paracetamol em ratos tratados com acupuntura nos acupontos E-36, VB-34 e outros e constatou diminuição da inflamação no fígado nos modelos de pre e pos-condicionamento.

Aktas e Yildiran (2020) estudaram os efeitos antioxidantes e antiinflamatórios da curcumina em ratos sépticos. A curcumina foi administrada por gavagem 3 horas antes da indução da sepse por punção e ligadura do ceco. Após 24 horas houve redução significativa dos níveis de MDA e MPO nos ratos tratados com curcumina, confirmando o efeito antioxidante. O efeito antiinflamatório foi verificado pela redução do nível de iNOS no pulmão dos animais.

Sarihan *et al.* (2020) estudaram os efeitos protetores da apocinina (APO), um inibidor da NADPH oxidase em testículos danificados de ratos expostos ao metotrexato (MTX). Foi verificado que nos ratos tratados com metotrexato, os níveis

de malondialdeído (MDA,  $P = 0,017$ ) e mieloperoxidase (MPO,  $P < 0,001$ ) foram significativamente aumentados no tecido e no sangue. Entretanto nos ratos tratados com MTX + APO esses efeitos não ocorreram. Os pesquisadores concluíram que o MTX induziu defeitos no testículo via estresse oxidativo e a APO reverteu esses efeitos em decorrência de suas propriedades antioxidantes.

A redução significativa da atividade da MPO em todos os grupos estudados, confirma o efeito anti-inflamatório da cúrcuma e da EAc.

## 6 CONCLUSÃO

1. A administração de altas doses de gentamicina por via intraperitoneal durante cinco dias promove alterações oxidativas e inflamatórias no plasma e no testículo de ratos saudáveis, mas não altera o desenvolvimento ponderal dos animais;
2. A cúrcuma administrada por gavagem a ratos previamente saudáveis promove a redução do estresse oxidativo e da inflamação induzidos por gentamicina no plasma e no testículo dos animais;
3. A eletroacupuntura, na frequência de 100 Hz, exerce um efeito protetor sobre o estresse oxidativo no plasma e no testículo, promovendo um aumento da glutatona reduzida e reduzindo os níveis de MDA (TBARS) e a atividade da mieloperoxidase em ratos tratados com altas doses de gentamicina;
4. A cúrcuma associada a EAc 100 Hz atenua o estresse oxidativo sistêmico e a inflamação no testículo em ratos tratados com altas doses de gentamicina.

## REFERENCIAS

- ACIOLI, Porfirio C. *et al.* Protective effects of abdominal electroacupuncture on oxidative stress and inflammation due to testis torsion/detorsion in rats. **Acta Cirurgica Brasileira**, v.29, n.7, p. 450-6, Jul. 2014.
- AGARWAL, Ashok ; GUPTA, Sajal; SHARMA, Rakesh K. Role of oxidative stress in female reproduction. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v.3, p.28, Jul. 2005.
- AGARWAL, Ashok; PRABAKARAN, Sushil A. Mechanism, measurement, and prevention of oxidative stress in male reproductive physiology. **Indian Journal of Experimental Biology** (IJEB),v.43, n.11, p.963-74, Nov.2005.
- AGGARWAL, Bharat B.; HARIKUMAR, Kuzhuvelil, B. Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. **International Journal of Biochemical Cell Biology**, v.41, n.41, p.40-59, Jan 2009.
- AGNER, K. Verdoperoxidase: A ferment isolated from leucocytes. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 2, p.1-64, 1941.
- AITKEN, J. The biology of fertilization. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 424, p. 291-299, 1997.
- AKTAS, E.; YILDIRAN, E. Antioxidant and antiinflammatory efficacy of curcumin on lung tissue in rats with sepsis. **Journal of Traditional Chinese Medicine**, v.40, n.5, p. 820-826, Oct. 2020.
- ALHUSAINI, Ahlam *et al.* Curcumin Ameliorates Lead-Induced Hepatotoxicity by Suppressing Oxidative Stress and Inflammation, and Modulating Akt/GSK-3<sub>β</sub> Signaling Pathway. **Biomolecules**, v.9, p.703-720, 2019.
- ALI, B.H. Gentamicin Nephrotoxicity in Humans and Animals: Some Recent Research. **General Pharmacology**, v.26, n.7, p. 1477-1487, 1995.
- ALI, B.H.; ABDEL-GAYOUM, A.A.; BASHIR, A.A. Gentamicin nephrotoxicity in rat: some biochemical correlates. **Pharmacology and Toxicology**, v. 70, n.6 Pt 1, p. 419-23, Jun 1992.
- ALY, H.A; KHAFAGY, R.M. Taurine reverses endosulfan-induced oxidative stress and apoptosis in adult rat testis, **Food and Chemical Toxicology**, v.64, p. 1-9, 2014.
- ALY, Haa. Testicular toxicity of gentamicin in adult rats: Ameliorative effect of lycopene. **Human and Experimental Toxicology**, v.38, n.11, p.1302-1313, Nov 2019.
- AMMON, H.P., WAHL, M.A. Pharmacology of *Curcuma longa*. **Planta Medica**, v.57, p.: 1- 7,1991.

ASADI, Nematollah *et al.* The Impact of Oxidative Stress on Testicular Function and the Role of Antioxidants in Improving it: A Review. **Journal of Clinical and Diagnostic Research.**, 2017 May, v.11, n.5, IE01-IE05, May 2017.

AZZA, M. *et al.* Use of tumeric and curcumin to alleviate adverse reproductive outcomes of water: Nitrate pollution in male rats. **National Science**, v. 9, p.229-239, 2011.

BALDRY, Peter E. **Acupuntura, pontos-gatilho e dor musculoesquelética: enfoque científico da acupuntura para ser usado por médicos e fisioterapeutas no diagnóstico e controle da dor de ponto-gatilho miofascial.** São Paulo: Roca, 2007. 486 p.

BEGG, E.J.; BARCLAY, M.L. Aminoglycosides--50 years on. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v.39, n.6, p. 597-603 Jun 1995.

BENNETT, W.M. Mechanisms of aminoglycoside nephrotoxicity. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v.16,p. 1-6, 1989.

BISWAS, Subrata Kumar *et al.* Curcumin induces glutathione biosynthesis and inhibits NFkappaB activation and interleukin-8 release in alveolar epithelial cells: mechanism of free radical scavenging activity. **Antioxidants and Redox Signaling**, v.7, p. 32-41, 2005.

BURNSTOCK, Geoffrey. Acupuncture: a novel hypothesis for the involvement of purinergic signalling, **Medical Hypotheses**,v.4f, n.1, p. 140–142, 2009.

CAGIN, Y.F. *et al.* The protective effects of apocynin on ionizing radiation-induced intestinal damage in rats. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 42, n. 2, p. 317-24, Jun 2016.

CAI, Y. *et al.* Curcumin Protects Against Intestinal Origin Endotoxemia in Rat Liver Cirrhosis by Targeting PCSK9. **Journal of Food Sciences**, v.82, n.3, p. 771-80, 2017.

CAMERON, Michelle H. **Physical Agents in Rehabilitation: from research to practice.** 2<sup>a</sup> ed. St. Louis: Saunders-Elsevier; 2003.

CHANG, S.L. *et al.* An insulin-dependent hypoglycaemia induced by electro-acupuncture at the Zhongwan (CV12) acupoint in diabetic rats. **Diabetologia**;v.42, p.250-5, 1999.

CHIEN, Yung Jiun *et al.* Effects of Curcumin on Glycemic Control and Lipid Profile in Polycystic Ovary Syndrome: Systematic Review with Meta-Analysis and Trial Sequential Analysis. **Nutrients**, v.13, n.2, p. 684-98, Feb. 2021.

CHOUDHARY, D.; CHANDRA, D.; KALE, R.K. Modulation of radioresponse of glyoxalase system by curcumin. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 64, p. 1-7, 1999.

CHUNG, Yuan Chiang *et al.* Electroacupuncture combined with acarbose improves insulin sensitivity via peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  activation and produces a stronger glucose-lowering effect than acarbose alone in a rat model of steroid-induced insulin resistance. **Acupuncture Medicine**; v.38, n.335-42. 2020.

COSTA, Graciana T. **Modelo murino de lesão hepática e renal induzida por acetaminofeno**: efeitos da glutamina, silimarina, acupuntura e eletroacupuntura. TESE. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médico-Cirúrgicas, Departamento de Cirurgia, Universidade Federal do Ceará. 2019. 151 p.

CRAGG, Gordon M.; NEWMAN, David, J. Plants as a source of anti-cancer agents. **Journal of Ethnopharmacology**, v.100, p.72-79, Aug. 2005.

CRUZ, Wilton A. Silva; CAMPA, Adriana. **Atividade de mieloperoxidase e formação de oxigênio singlete em monócitos, macrófagos e células dendríticas**: localização versus atividade. Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF). Universidade de São Paulo (USP). São Paulo, Brasil, Ago 2009.

CUI, Tian Wei *et al.* Effect of Electroacupuncture on Spermatogenesis in rats with Oligozoospermia of Insufficiency of Shen (Kidney) Essence Syndrome. **Chinese Journal of Integrative Medicine**, v.25, n.4, p.292-297, Apr. 2018.

DESHPANDE, U.R. *et al.* Protective effect of turmeric (*Curcuma longa* L.) extract on carbon tetrachloride-induced liver damage in rats. **Indian Journal of Experimental Biology**, v.36, p. 573-577, 1998.

DEVASENA, T.; RAJASEKARAN, K.N.; MENON, V.P. Bis-1,7-(2-hydroxy phenyl)-hepta-1,6-diene-3,5-dione (a curcumin analog) ameliorates DMH-induced hepatic oxidative stress during colon carcinogenesis. **Pharmacology Research**, v. 46, p. 39-45, 2002.

DING, Ying *et al.* Electro-acupuncture promotes survival, differentiation of the bone marrow mesenchymal stem cells as well as functional recovery in the spinal cord transected rats. **BMC Neuroscience**, v.10, article f5, Jul. 2009.

DRAPER, H.H.; HADELY, M. Malondialdehyde determination as an index of lipid peroxidation. **Methods of Enzymology**, v.186, p. 421-431, 1990.

ELLMAN, G.L. Tissue sulfhydryl groups. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.82. n.1. p.70-7, Mai 1959.

GAO, J. *et al.* Electroacupuncture enhances spermatogenesis in rats after scrotal heat treatment. **Spermatogenesis**, v.2, n.1, p.53-62, Jan 2012.

- GARRATT, Michael *et al.* Is oxidative stress a physiological cost of reproduction? An experimental test in house mice, **Proceedings. Biological sciences**, v.278, n.1708, p.1098-106, Oct. 2011.
- GHANI, Ahsan, *et al.* Measurement of antioxidant activity with the thiobarbituric acid reactive substances assay. **Food Chemistry** , v.230, p. 195-207, Feb 2017.
- GONDIM, D.V. **Efeitos antinociceptivo e anti-inflamatório da eletroacupuntura na artrite induzida por zymosan na articulação temporomandibular de ratos: participação do sistema endocanabinóide.** 2012. 140f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.
- GREEN, L.C. *et al.* Analysis of nitrate, nitrite, and [15N] nitrate in biological fluids. **Analytical Biochemistry**. v.126, n.1, p.131-138, 1982.
- GU, G. *et al.* Effects of electroacupuncture pretreatment on inflammatory response and acute kidney injury in endotoxaemic rats. **Journal of International Medical Research** , v.39, n.5, p.1783-97, 2011.
- GUTTERIDGE, John M.C.; HALLIWELL Barry. Mini-Review: Oxidative stress, redox stress or redox success? **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.502, n.2, p. 183-186, Jul 2018.
- HALLIWELL, Barry. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. **Nutrition Reviews**, v. 70, n.5, p.257,65, May, 2012.
- HALLIWELL, Barry. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? **Journal of Neurochemistry**, v.58, p. 1634-36, 2006.
- HAN J.S.; XIE, G.X.; DING, X.G.; FAN, SG. High and low frequency electroacupuncture analgesia are mediated by different opioids peptides. **Pain**, v.369, (supp), p. 543, 1984.
- HARPIN, Darwin *et al.* Effect of Electroacupuncture on Urea and Creatinine Levels in the Wistar Sepsis Model. **Medical Acupuncture**, v. 32, p. 29–37, 2020.
- HU, Sen *et al.* Electroacupuncture at Zusanli (ST36) Prevents Intestinal Barrier and Remote Organ Dysfunction following Gut Ischemia through Activating the Cholinergic Anti-Inflammatory-Dependent Mechanism **Evidence-based complementary and alternative medicine**, 2013-04-04, v.2013, p.592127-10, 2013.
- HUANG, W. *et al.* Effect of Electrically Stimulating Acupoint, Zusanli (ST 36), on Patient's Recovery After Laparoscopic Colorectal Cancer Resection: A Randomized Controlled Trial. **Journal of Traditional Chinese Medicine**, v.39, p.433–9. 2019.
- HWANG, Y.C; EGERBACHER, M. Anatomia e classificação dos acupontos. In: SHOEN, Allen M. **Acupuntura veterinária.** Da arte antiga à medicina moderna 2.ed. São Paulo: Roca, 2006. p.17-23.
- ILBEY, Yusuf Ozlem *et al.* Protective effect of curcumin in cisplatin induced oxidative injury in rat testis: mitogen-activated protein kinase and nuclear factor-kappa B

signaling pathways. **Human Reproduction**, v.24, p.1717-1725, Mar 2009.

JIA, Ping *et al.* Intermittent exposure to xenon protects against gentamicin-induced nephrotoxicity, **PLoS One**, v. 8, e64329, 2013.

JOE, B.; VIJAYKUMAR, M.; LOKESH, B.R. Biological properties of curcumin-cellular and molecular mechanisms of action. **Critical Review in Food Sciences and Nutrition**, v.44, n. 2, p. 97-111, 2004.

JOHNSTON, Brian D.; DeMASTER, Eugene G. Suppression of nitric oxide oxidation to nitrite by curcumin is due to the sequestration of the reaction intermediate nitrogen dioxide, not nitric oxide. **Nitric Oxide**, v.8, n.4, p. 231-4, Jun. 2003.

KETTLE, Anthony J.; WINTERBOURN, Cristine C. Myeloperoxidase: a key regulator of neutrophil oxidant production, **Redox Report**, v.3, n. 1, p. 3-15, 1997.

KHAKI A. *et al.* Comparative study of the effects of **gentamicin**, neomycin, streptomycin and ofloxacin antibiotics on sperm parameters and testis apoptosis in rats. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 11, n.13, p. 1683-9, Jul. 2008.

KHAZDAIR, M.R. *et al.* The protective effects of Curcuma longa extract on oxidative stress markers in the liver induced by Adriamycin in rat. **Physiology and Pharmacology**, v.20, p.31-37, 2016.

KIM, Hyun-Woo *et al.* Low-frequency electroacupuncture suppresses carrageenan-induced paw inflammation in mice via sympathetic post-ganglionic neurons, while high frequency EA suppression is mediated by the sympathoadrenal medullary axis. **Brain Research Bulletin.**, v. 75, n. 5, p. 698-705, Mar. 2008.

KIM, S.H. *et al.* Melatonin prevents gentamicin-induced testicular toxicity and oxidative stress in rats, **Andrologia**, v.46 (2014) p.1032-1040, 2014.

KLEBANOFF, Seymour J. *et al.* Myeloperoxidase: a front-line defender against phagocytosed microorganisms, **Journal of Leukocyte Biology**, v. 93, n.2, p.185-198, 2013.

KUMAR, Rajeev; GAUTAM Gagan; GUPTA, Narmada P. Drug therapy for idiopathic male infertility: rationale versus evidence. **Journal of Urology**, v. 176, n.4 Pt 1, p.1307-12, Oct. 2006.

LEUNG, Sin Bond *et al.* Attenuation of blood pressure in spontaneously hypertensive rats by acupuncture was associated with reduction oxidative stress and improvement from endothelial dysfunction. **Chinese Medicine**, v. 11, n. 1, p. 38, Ago. 2016.

LIMA, Lorena Picanço *et al.* Electroacupuncture attenuates oxidative stress in random skin flaps in rats. **Aesthetic Plastic Surgery**, v.36, n.5, p.1230-35, Out. 2012.

LIN, Jaung Geng; CHANG, Shih Liang; CHENG, Juei Tang. Release of beta-endorphin from adrenal gland to lower plasma glucose by the electroacupuncture at



Zhongwan acupoint in rats. **Neuroscience Letters**;v.326, p.17-20, 2002.

LIN, Jen-Kun. Molecular targets of curcumin. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v.595, p.227-43, 2007.

LIN, Yvonne G. *et al.* Curcumin inhibits tumor growth and angiogenesis in ovarian carcinoma by targeting the nuclear factor- $\kappa$ B pathway. **Clinical Cancer Research.**, v.13, p. 3423-3430, 2007.

LIU, Shenbin *et al.* A Neuroanatomical Basis for Electroacupuncture to Drive the Vagal-Adrenal Axis. **Nature**, v.598, p.641–5. 2021.

LIU, Shenbin, *et al.* Somatotopic Organization and Intensity Dependence in Driving Distinct NPY-Expressing Sympathetic Pathways by Electroacupuncture. **Neuron**, v.108, p.436-450 e437, 2020.

LIU, Y. *et al.* The mechanism of effective electroacupuncture on T cell response in rats with experimental autoimmune encephalomyelitis. **PLoS ONE**,v.8,n.1,Article ID e5154f, 2013.

MACIOCIA, Giovanni. **Os fundamentos da medicina chinesa**: um texto abrangente para acupunturistas e fisioterapeutas. São Paulo: Roca, 2007. 1000 p.

MARCHIANI, A. *et al.* Curcumin and curcumin-like molecules: From spice to drugs. **Current Medicinal Chemistry**. v.21, p. 204-222, 2014.

MATHURIA, Neeta; VERMA, Ramtej Jayram. Aflatoxin induced hemolysis and its amelioration by turmeric extracts and curcumin in vitro. **Acta Poloniae Pharmaceutica**,v.64, n.2, p.165-8, Mar 2007.

MELZACK, R.; WALL, P.D. Pain mechanisms: a new theory. **Science**. v.19, n.150(3699), p. 971-9. Nov.1965.

MENON, Venugopal P.; SUDHEER, Adluri Ram. Antioxidant and anti-inflammatory properties of curcumin. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v.595, p.105-25, 2007.

MOHEBBATI, Reza *et al.* Adriamycin-induced oxidative stress is prevented by mixed hydro-alcoholic extract of *Nigella sativa* and *Curcuma longa* in rat kidney. **Avicenna Journal of Phytomedicine**, v.6, p.86-94, 2016.

MOHEBBATI, Reza.; ANAEIGOUDARI, A.; KHAZDAIR, M.R. The effects of *Curcuma longa* and curcumin on reproductive systems. **Endocrine Regulations**, v.51, n.4, p. 220-228, Oct 2017.

NARAYANA, Kilarkaje. An aminoglycoside antibiotic gentamicin induces oxidative stress, reduces antioxidant reserve and impairs spermatogenesis in rats. **Journal of Toxicological Sciences**, v.33, n.1. p.85-96, 2008.

NAUSEEF, W. M.; MALECH, H. L. Analysis of the peptide subunits of human neutrophil myeloperoxidase. **Blood**, v.67, p.1504-1507, 1966.

NAVARRO-YEPES, Juliana *et al.* Oxidative stress, redox signaling, and autophagy: cell death versus survival. **Antioxidant Redox Signaling**, v.21. n.1, p.66-85, Jul. 2014.

NOCITE, J.R. *et al.* Alterações da glicemia induzidas pela anestesia com ketamina. **Brazilian Journal of Anesthesiology**, v.26, n.5, 767-72, Set-Out 1976.

OHKAWA. H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, n. 2, p.351-8. Jun 1979.

OKADA, K. *et al.* Curcumin and especially tetrahydrocurcumin ameliorate oxidative stress-induced renal injury in mice. **The Journal of Nutrition**, v.131, p.2090-2095, Aug. 2001.

OYAMA, T - **Anesthetic Management of Endocrine Disease**, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 1973.

PAI, Hong J. **Tratado Contemporâneo de Acupuntura e Moxabustão**. Editor: Liu Gong Wang. Tradução e atualização: Hong Jim Pai. São Paulo: CEIMEC, 2005. 672 p.

PAN, M.H.; HUANG, T.M.; LIN, J.K. Biotransformation of curcumin through reduction and glucuronidation in mice. **Drug Metabolism and Disposition**, v.27, p. 486-494, 1999.

PRIYADARSINI, Indira Kavirayani *et al.* Role of phenolic O-H and methylene hydrogen on the free radical reactions and antioxidant activity of curcumin. **Free Radical Biology and Medicine**, v.35, p.475-484, 2003.

RAJENDRAN, Peramaiyan *et al.* Antioxidants and human diseases. **Clinical Chemical Acta**, v. 436, p.332-47, Sep 2014.

RAYNER, Benjamin S.; LOVE, Dominic T.; HAWKINS, Clare L. Comparative reactivity of myeloperoxidase-derived oxidants with mammalian cells, **Free Radical Biology and Medicine**, v.71, p. 240-255, 2014.

REHRING, J.F. *et al.* Released Myeloperoxidase Attenuates Neutrophil Migration and Accumulation in Inflamed Tissue. **Frontiers in Immunology**. v.12, p. 654259, Apr 2021.

ROMEO, C. *et al.* Hydrophilic vitamin E-like antioxidant reduces testicular ischemiare perfusion injury. **Urology Research**, v.32, o. 367-7, 2004.

SANTOS, Elba L.Wanderlei *et al.* Effects of acupuncture and electroacupuncture on estradiol-induced inflammation and oxidative stress in health rodents. **Acta Cirurgica Brasileira**, v.28, n,8, p.582-88, Ago. 2013.

- SARADHA, B.; MATHUR, P.P. Induction of oxidative stress by lindane in epididymis of adult male rats. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v.22, p.90-96, 2006.
- SARIHAN, Kubra Kavram *et al.* Protective effects of apocynin on damaged testes of rats exposed to methotrexate. **Turkish Journal of Medical Sciences**, v. 50,n.5, p.1409-1420, Aug 2020.
- SATO, Y. *et al.* Evaluation of urinary hydrogen peroxide as an oxidative stress biomarker in a healthy Japanese population. **Free Radical Research**, v.47, n.3, p.181-91, Mar. 2013.
- SCHOEN, Allen M. **Acupuntura veterinária: da arte antiga à medicina moderna**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2006, p.91-108.
- SCHULTZ.; KARNINKER, K. Myeloperoxidase of the leukocyte of normal human blood. I. Content and localization. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 96, p. 465-7, Mar 1962.
- SHI, Xian *et al.* Study on protective action of electroacupuncture on endotoxin-induced hepatic injury in rats. **Zhongguo Zhen Jiu.**, v. 28, n. 4, p. 290-2, Abr. 2008.
- SILVA, Agamenon Honório. *et al.* Electroacupuncture attenuates liver and kidney oxidative stress in anesthetized rats. **Acta Cir. Bras.**, v.26, suppl 1, p,60-65, 2011.
- SRIVASTAVA. Geetika; MEHTA, Jawahar L. Currying the heart: curcumin and cardioprotection. **Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics**,v.14,p. 22-27, 2009.
- SUGAI, Gisele C.M. *et al.* Serotonin involvement in the electroacupuncture- and moxibustion-induced gastric emptying in rats. **Physiology and Behavior**, v. 82, n. 5, p. 855861,Out. 2004.
- SUNDARAM, R.; MITRA, S.K. Antioxidant activity of ethyl ether acetate soluble fraction of Acacia Arabica bark in rats. **Indian Journal of Pharmacology**, v.39, p. 33-38, 2007.
- TANAHASHI, N. *et al.* Effects of manual acupuncture at GB34 on carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats. **Journal of Acupuncture and Meridian Studies**. v.4, n.4, p.214-9, Dec 2011.
- ULETT, G.A.; HAN, S.; HAN, J.S. Electroacupuncture: mechanisms and clinical application. **Biological Psychiatry**,v.44, n.2, p.129-38. Jul 1998.
- UYANIK, O. *et al.* Curcumin protects against testis-specific side effects of irinotecan. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v.25, n.23, p. 7440-7448, Dec. 2021.
- VENKATANARAYANA, G. *et al.* Protective effects of curcumin and vitamin E on

carbono tetrachloride-induced nephrotoxicity in rats. **EXCLI Journal**, v.11, p.641-650, 2012.

VILLEGAS-BASTIDA, Albino *et al.* Electrical Stimulation at the ST36 Acupoint Protects against Sepsis Lethality and Reduces Serum TNF Levels through Vagus Nerve- and Catecholamine-Dependent Mechanisms. **Evidence Based Complementary and Alternative Medicine**, p.451674, 2014.

WANG, Li Ren *et al.* Effect of Electroacupuncture at The Zusanli Point (Stomach-36) on Dorsal Random Pattern Skin Flap Survival in a Rat Model. **Dermatologic Surgery**, v.43, p.1213–20, 2017.

WEN, T.S. **Manual Terapêutico de Acupuntura**. Hsing, W.T. ed. Manole, SP., 2008. 401 p.

XIA, Hongging; GUAN, Ling; YANG, Yiling. Effect of zusanli (ST 36) moxibustion on rat mesentery microvascular system. **Journal of Traditional Chinese Medicine**, v. 34n. 4, p. 491-7, Aug. 2014.

XU, Guowei *et al.* Curcumin functions as an anti-inflammatory and antioxidant agent on arsenic-induced hepatic and kidney injury by inhibiting MAPKs/NF-κB and activating Nrf2 pathways. **Environmental Toxicology**, v.36, n.11. p. 2161-2173, Nov. 2021.

YIM, Yun Kyoung *et al.* Electro-acupuncture at acupoint ST36 reduces inflammation and regulates immune activity in Collagen-Induced Arthritic Mice. **Evidence Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 4, n.1, p.51-7, Mar 2007.

YIN, Chang Shik *et al.* A proposed transpositional acupoint system in a mouse and rat model. **Research in Veterinary Science**. v. 84, p.159–165, 2008.

ZHANG, Zhiyun *et al.* Electroacupuncture Regulates Inflammatory Cytokines by Activating the Vagus Nerve to Enhance Antitumor Immunity in Mice With Breast Tumors. **Life Science**, v.272, p.119259, 2021.

ZHU, Shi Feng *et al.* Effect of Electroacupuncture on the Inflammatory Response in Patients With Acute Pancreatitis: An Exploratory Study. **Acupuncture Medicine**, v.33, p. 115–20, 2015.

ZSIGMOND, E.K.; KELSCH, R.C.; KOTHARY, S.P. Rise in plasma free-norepinephrine during anesthetic induction with ketamine. **Behavior Neuropsychiatry**. 1974 Apr-1975 Mar;v. 6, n.1-12, p.81-4, Mar. 1974.

## APÊNDICE A DADOS BRUTOS

### PESO INICIAL DOS RATOS (dia 1 do experimento)

#### GRUPOS

Animais	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7
Rato 1	136,5	117,3	169,2	182,7	162,1	208,0	201,8
Rato 2	134,0	119,4	170,1	180,4	179,3	193,5	193,7
Rato 3	101,3	150,0	155,6	178,7	168,2	118,5	149,0
Rato 4	105,2	157,0	150,8	179,5	159,7	115,2	131,8
Rato 5	102,8	113,8	168,2	135,3	174,9	240,3	184,3
Rato 6	108,0	140,4	178,3	152,1	178,2	163,1	204,0
Rato 7	96,9	131,0	173,7	147,0	151,1	195,7	158,7
Rato 8	102,1	142,7	182,4	(*)	155,4	203,2	166,9

G1=Salina, G2=CMC\_Na, G3=CCM100 G4=CC200 G5=EE100 G6=CCM100EE G7=CCM200EE

(\*) Morte súbita, no terceiro dia do experimento, antes da aplicação da terceira dose de Gentamicina

### PESO FINAL DOS RATOS (dia 19 do experimento)

#### GRUPOS

Animais	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7
Rato 1	260,0	242,8	227,0	252,0	227,0	267,7	280,4
Rato 2	261,0	239,5	254,0	257,0	254,0	243,4	271,5
Rato 3	249,3	274,0	249,0	246,0	249,0	247,0	285,5
Rato 4	247,0	313,7	241,0	260,0	241,0	230,7	262,5
Rato 5	233,8	227,4	266,0	217,0	266,0	238,6	328,3
Rato 6	266,0	281,4	276,0	231,0	276,0	260,0	276,2
Rato 7	214,0	216,7	222,0	210,0	222,0	295,6	256,1
Rato 8	250,0	316,7	238,0	(*)	238,0	242,5	236,3

G1=Salina, G2=CMC\_Na, G3=CCM100 G4=CC200 G5=EE100 G6=CCM100EE G7=CCM200EE

(\*) Morte súbita, no terceiro dia do experimento, antes da aplicação da terceira dose de Gentamicina

## APÊNDICE A

### Peso dos testículos

Peso dos testículos no 19<sup>o</sup> dia do experimento

<b>Grupo</b>	<b>Testículo Direito</b>	<b>Testículo Esquerdo</b>
G-1 - Salina	1,46 ± 0,350	1,53 ± 0,296
G-2 - Diluente (CMC_Na)	1,39 ± 0,242	1,49 ± 0,247
G-3 – CCM 100 mg	1,48 ± 0,238	1,55 ± 0,251
G-4 – CCM 200 mg	1,60 ± 0,208	1,54 ± 0,190
G-5 – EAc 100 Hz	1,59 ± 0,210	1,44 ± 0,130
G-6 -CCM 100mg+EAc 100 Hz	1,55 ± 0,214	1,53 ± 0,104
G-7 -CCM 200mg+EAc 100 Hz	1,53 ± 0,191	1,58 ± 0,205

G1 - Controle Salina G2 - Controle CMC\_Na G3 - Cúrcuma 100 G4 - Cúrcuma 200 G5 – Eletro-Acupuntura G6 – Cúrcuma 100 + Eletroacupuntura 100 Hz G7 - Cúrcuma 200 + Eletroacupuntura 100 Hz. Fonte: elaborada pelo autor (2022).

## APÊNDICE B DADOS BRUTOS

### GLICOSE

Animais	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7
Rato 1	188,	216,	320,	84,	308,	308,	216,
Rato 2	260,	200,	152,	128,	136,	188,	300,
Rato 3	200,	252,	124,	136,	108,	472,	300,
Rato 4	332,	108,	120,	120,	104,	272,	480,
Rato 5	180,	180,	300,	124,	204,	188,	360,
Rato 6	276,	160,	120,	264,	200,	312,	292,
Rato 7	456,	140,	344,	159,	220,	356,	286,
Rato 8	136,	168,	188,		120,	267,	228,

G1=Salina, G2=CMC\_Na, G3=CCM100 G4=CC200 G5=EE100 G6=CCM100EE G7=CCM200EE

(\*) Morte súbita, no terceiro dia do experimento, antes da aplicação da terceira dose de Gentamicina

### UREIA

Animais	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7
Rato 1	40,	40,	120,	24,	44,	48,	40,
Rato 2	52,	40,	36,	36,	36,	28,	15,
Rato 3	40,	40,	24,	40,	24,	48,	64,
Rato 4	56,	28,	40,	36,	28,	40,	40,
Rato 5	32,	36,	44,	28,	32,	28,	48,
Rato 6	44,	32,	40,	44,	16,	76,	32,
Rato 7	60,	24,	56,	32,	36,	76,	45,
Rato 8	36,	36,	44,		24,	67,	44,

G1=Salina, G2=CMC\_Na, G3=CCM100 G4=CC200 G5=EE100 G6=CCM100EE G7=CCM200EE

(\*) Morte súbita, no terceiro dia do experimento, antes da aplicação da terceira dose de Gentamicina

## APÊNDICE B DADOS BRUTOS

### CREATININA

Animais	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7
Rato 1	0,60	0,56	0,80	0,64	0,32	0,44	0,60
Rato 2	0,48	0,60	0,36	0,60	0,56	0,64	0,56
Rato 3	0,60	0,56	0,56	0,60	0,60	0,36	0,56
Rato 4	0,44	0,72	0,56	0,52	0,60	0,64	0,20
Rato 5	0,72	0,60	0,32	0,56	0,52	0,68	0,52
Rato 6	0,56	0,68	0,56	0,48	0,60	0,24	0,60
Rato 7	0,44	0,72	0,28	0,56	0,52	0,44	0,54
Rato 8	0,72	0,68	0,40		0,56	0,46	0,60

G1=Salina, G2=CMC\_Na, G3=CCM100 G4=CC200 G5=EE100 G6=CCM100EE G7=CCM200EE

(\*) Morte súbita, no terceiro dia do experimento, antes da aplicação da terceira dose de Gentamicina

### NO<sub>2</sub> TESTICULO

Animais	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7
Rato 1	4,317	3,648	11,250	10,157	12,364	9,485	25,226
Rato 2	0,104	1,435	4,741	10,893	10,737	2,445	4,964
Rato 3	2,133	3,203	6,145	10,180	8,084	6,925	17,670
Rato 4	4,585	2,534	5,209	10,157	5,944	11,918	7,642
Rato 5	2,133	1,442	6,167	10,626	6,123	13,122	5,253
Rato 6	2,645	3,203	4,317	10,403	4,295	11,918	11,852
Rato 7	2,088	2,534	4,562	12,832	10,113	9,181	2,757
Rato 8	2,891	1,709	6,805		6,167	9,143	14,326

G1=Salina, G2=CMC\_Na, G3=CCM100 G4=CC200 G5=EE100 G6=CCM100EE G7=CCM200EE

(\*) Morte súbita, no terceiro dia do experimento, antes da aplicação da terceira dose de Gentamicina



## APÊNDICE B DADOS BRUTOS

### GSH PLASMA

Animais	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7
Rato 1	66,65	72,806	239,49	133,15	127,58	203,748	235,970
Rato 2	64,90	69,877	116,16	151,61	150,43	204,333	269,365
Rato 3	67,24	68,705	211,95	139,30	123,78	124,070	271,708
Rato 4	82,47	68,412	177,09	93,31	131,10	204,626	124,363
Rato 5	274,64	105,615	148,97	127,58	98,88	204,333	148,383
Rato 6	64,90	98,291	151,31	130,81	105,61	210,485	171,525
Rato 7	67,24	92,726	127,29	101,81	127,58	148,969	192,030
Rato 8	82,47	117,625	123,78		167,42	166,545	237,435

G1=Salina, G2=CMC\_Na, G3=CCM100 G4=CC200 G5=EE100 G6=CCM100EE G7=CCM200EE

(\*) Morte súbita, no terceiro dia do experimento, antes da aplicação da terceira dose de Gentamicina

### GSH TESTÍCULO

Animais	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7
Rato 1	56,402	47,614	147,504	133,151	162,151	124,307	331,174
Rato 2	1,037	18,526	61,968	142,817	140,767	31,796	64,897
Rato 3	27,694	41,755	80,423	133,444	105,908	90,675	231,869
Rato 4	59,917	32,967	68,119	133,151	77,786	156,292	100,096
Rato 5	27,694	18,614	80,715	139,302	80,130	172,111	68,705
Rato 6	34,432	41,755	56,402	136,373	56,109	156,292	155,414
Rato 7	27,109	32,967	59,624	168,303	132,565	64,311	35,897
Rato 8	37,654	22,129	89,093		80,715	119,822	187,929

G1=Salina, G2=CMC\_Na, G3=CCM100 G4=CC200 G5=EE100 G6=CCM100EE G7=CCM200EE

(\*) Morte súbita, no terceiro dia do experimento, antes da aplicação da terceira dose de Gentamicina

## APÊNDICE B DADOS BRUTOS

### TBARS PLASMA

Animais	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7
Rato 1	0,186	0,3269	0,0350	0,2570	0,2150	0,1580	0,059
Rato 2	0,412	0,2575	0,2050	0,0090	0,0224	0,1460	0,061
Rato 3	0,463	0,0702	0,1141	0,1850	0,0090	0,0210	0,021
Rato 4	0,352	0,4097	0,0399	0,2269	0,2660	0,0211	0,010
Rato 5	0,357	0,1009	0,0167	0,2575	0,0650	0,0090	0,024
Rato 6	0,309	0,1389	0,3243	0,0090	0,1450	0,0136	0,024
Rato 7	0,185	0,1246	0,2216	0,0350	0,0310	0,0160	0,065
Rato 8	0,248	0,6023	0,3162		0,1030	0,0203	0,045

G1=Salina, G2=CMC\_Na, G3=CCM100 G4=CC200 G5=EE100 G6=CCM100EE G7=CCM200EE

(\*) Morte súbita, no terceiro dia do experimento, antes da aplicação da terceira dose de Gentamicina

### TBARS TESTICULO

Animais	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7
Rato 1	0,069	0,701	0,125	0,491	0,525	0,612	0,501
Rato 2	0,822	0,592	0,596	0,448	0,206	0,500	0,515
Rato 3	0,594	0,630	0,305	0,162	0,399	0,604	0,087
Rato 4	0,754	0,415	0,530	0,376	0,491	0,506	0,556
Rato 5	0,993	1,093	0,507	0,718	0,500	0,511	0,536
Rato 6	0,654	0,845	0,815	0,548	0,131	0,550	0,512
Rato 7	0,843	0,637	0,712	0,500	0,256	0,552	0,500
Rato 8	0,858	0,511	0,807	(	0,636	0,512	0,504

G1=Salina, G2=CMC\_Na, G3=CCM100 G4=CC200 G5=EE100 G6=CCM100EE G7=CCM200EE

(\*) Morte súbita, no terceiro dia do experimento, antes da aplicação da terceira dose de Gentamicina

**APÊNDICE B  
DADOS BRUTOS**

**MPO TESTICULO**

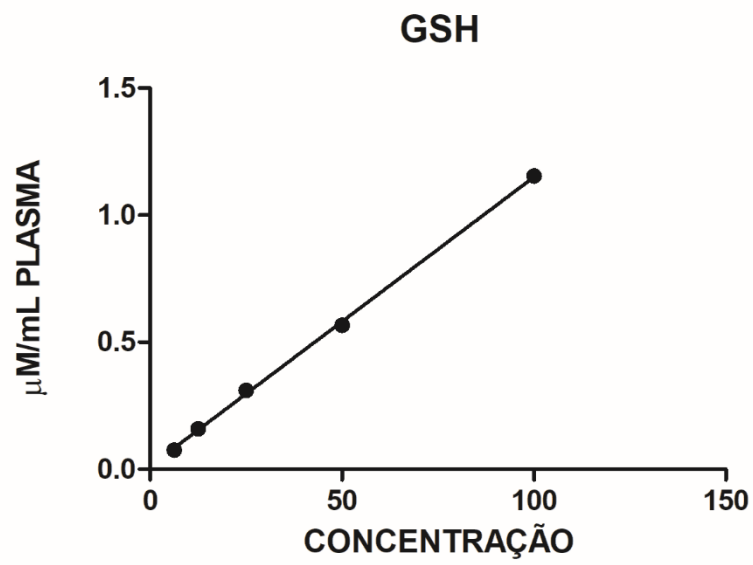
Animais	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7
Rato 1	6,782	7,413	2,658	4,473	0,962	3,160	1,658
Rato 2	9,017	8,100	2,137	4,321	3,409	2,588	1,192
Rato 3	7,003	8,971	2,224	4,519	9,759	2,505	1,482
Rato 4	8,625	8,630	5,570	0,837	7,930	2,095	1,579
Rato 5	10,455	6,699	8,446	1,579	2,575	3,003	1,109
Rato 6	9,377	6,616	5,736	0,952	5,893	2,353	1,487
Rato 7	7,404	7,298	1,658	1,164	2,091	2,602	0,561
Rato 8	8,888	6,326	1,192		1,870	2,095	0,939

G1=Salina, G2=CMC\_Na, G3=CCM100 G4=CC200 G5=EE100 G6=CCM100EE G7=CCM200EE

(\*) Morte súbita, no terceiro dia do experimento, antes da aplicação da terceira dose de Gentamicina

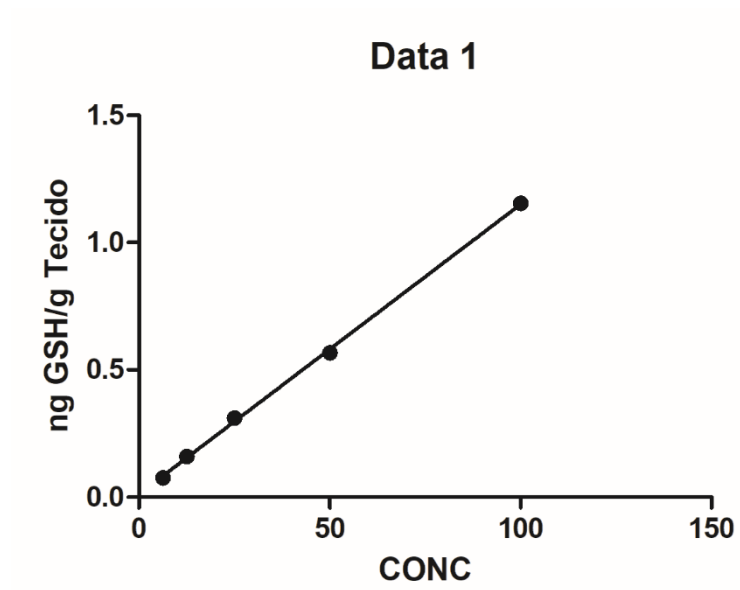
## APÊNDICE C

Curva para cálculo da concentração de GSH no plasma



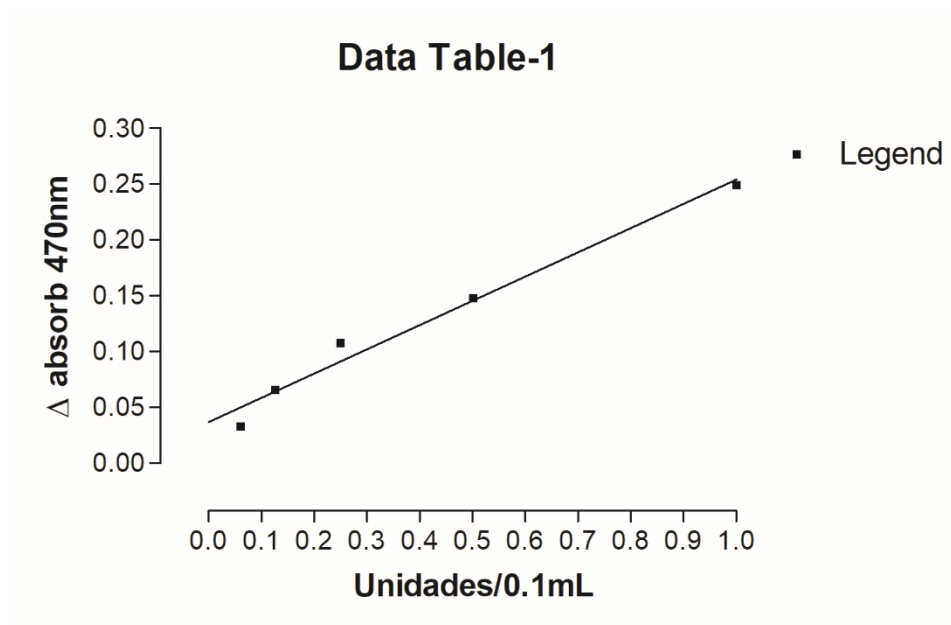
## APENDICE D

Curva para cálculo da concentração de GSH no tecido hepático



## APÊNDICE E

Curva para cálculo da atividade da MPO no tecido hepático



## ANEXO A – APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA



UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO CEARÁ

Comissão de Ética no  
Uso de Animais

### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "PÓS-CONDICIONAMENTO COM CURCUMINA E ELETOACUPUNTURA: EFEITOS SISTÊMICOS E LOCAIS SOBRE A INFLAMAÇÃO E O ESTRESSE OXIDATIVO INDUZIDO POR GENTAMICINA EM RATOS WISTAR", protocolada sob o CEUA nº 5060011220 (ID 001850), sob a responsabilidade de **Sérgio Botelho Guimarães e equipe; Mariana Rodrigues de Souza ; Isaac Bevilaqua de Albuquerque Guimarães ; André Brito Bastos Guimarães ; PAULO ROBERTO LEITÃO DE VASCONCELOS; FRANCISCO DAS CHAGAS MEDEIROS** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Ceará (CEUA-UFC) na reunião de 30/03/2021.

We certify that the proposal "POS-CONDITIONING WITH CURCUMIN AND ELECTROACUPUNCTURE: SYSTEMIC AND LOCAL EFFECTS ON INFLAMMATION AND OXIDATIVE STRESS IN WISTAR RATS", utilizing 56 Heterogenics rats (56 males), protocol number CEUA 5060011220 (ID 001850), under the responsibility of **Sérgio Botelho Guimarães and team; Mariana Rodrigues de Souza ; Isaac Bevilaqua de Albuquerque Guimarães ; André Brito Bastos Guimarães ; PAULO ROBERTO LEITÃO DE VASCONCELOS; FRANCISCO DAS CHAGAS MEDEIROS** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Ceará (CEUA-UFC) in the meeting of 03/30/2021.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa \(Acadêmica\)](#)

Vigência da Proposta: de [03/2021](#) a [10/2021](#) Área: [Departamento de Cirurgia](#)

Origem: [Biotério Prof. Eduardo Torres \(setorial FAMED\)](#)

Espécie: [Ratos heterogênicos](#) sexo: [Machos](#) idade: [8 a 12 semanas](#) N: [56](#)

Linhagem: [Wistar](#) Peso: [150 a 200 g](#)

Local do experimento: Tendo em vista que o LABCEX - Laboratório de cirurgia Experimental do Programa de Pós-graduação em Ciências Médico-Cirúrgicas encontra-se bloqueado para reformas os experimentos serão realizados no laboratório setorial da FAMED.

Fortaleza, 15 de agosto de 2021

Prof. Dra. Camila Ferreira Roncari  
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal do Ceará

Prof. Dra. Karuza Maria Alves Pereira  
Vice-Coodenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal do Ceará

## ANEXO B

### COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DA RAÇÃO NUVILAB CR-1 IRRADIADA (\*)

**COMPOSIÇÃO BÁSICA DO PRODUTO:** milho integral moído, farelo de soja, farelo de trigo, carbonato de cálcio, fosfato bicálcico, cloreto de sódio, óleo vegetal, vitamina a, vitamina D3, vitamina E, vitamina K3, vitamina B1, vitamina B2, vitamina B6, vitamina B12, niacina, pantotenato de cálcio, ácido fólico, biotina, cloreto de colina, sulfato de ferro, monóxido de manganês, óxido de zinco, sulfato de cobre, iodeto de cálcio, selenito de sódio, sulfato de cobalto, lisina, metionina, BHT.

**NÍVEIS DE GARANTIA POR QUILOGRAMA DO PRODUTO:** umidade (máx): 125g/kg proteína bruta (min): 220g/kg extrato etéreo (min): 50g/kg material mineral (máx): 90g/kg fibra bruta (máx): 70g/kg cálcio (mín-máx): 10-14 g/kg fósforo; 6.000 mg/kg.

**VITAMINAS:** A (min) 13.000 ui/kg; vitamina D3 (min) 2.000 ui/kg, vitamina E (min) 34 ui/kg, vitamina K3 (min) 3mg/kg, vitamina B1 (min)5 mg/kg, vitamina B2 (min) 6mg/kg, vitamina B6 (min) 7 mg/kg, vitamina B12 (min) 22 mcg/kg, niacina (min) 60 mg/kg, pantoteno de cálcio (min) 21 mg/kg, ácido fólico (min) 1 mg/kg, biotina (min) 0,05 mg/kg, colina 1.900 mg/kg. minerais: sódio (min) 2700 mg/kg; ferro (min) 50 mg/kg; manganês (min) 60mg/kg; zinco (min) 60 mg/kg; cobre (min) 10 mg/kg; iodo (min) 2mg/kg; selênio (min) 0,05 mg/kg; cobalto (min) 1,5 mg/kg, flúor (máx) 60 mg/kg.

**AMINOÁCIDOS:** lisina (min) 12g/kg, metionina (min) 4.000 mg/kg, aditivos bht 100,00 mg/kg.

**INDICAÇÃO:** ração irradiada para camundongos e ratos de laboratório.

**USO:** Administração a vontade em comedouros suspensos.

**CONSERVAÇÃO:** Conservar o produto em ambiente seco e arejado, sobre estrados, evitando luz e calor excessivos.

**ATENÇÃO:** O produto deve ser armazenado afastado da parede e longe de focos de contaminação. Manter uma higienização eficiente do local, com métodos legais de Controles de Pragas (empresas terceirizadas que sejam registradas no Ministério). Evitar que o produto permaneça exposto ao ambiente, mantendo-o sempre fechado. O empilhamento dos produtos não deve comprometer seu manuseio.

**(\*) Informações fornecidas pelo fabricante Quimtia (Curitiba, Paraná).**