

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

AGAMENON HONÓRIO SILVA

**EFEITOS DA ACUPUNTURA E DA ELETROACUPUNTURA SOBRE O
ESTRESSE OXIDATIVO EM RATOS SADIOS**

FORTALEZA
2009

AGAMENON HONÓRIO SILVA

**EFEITOS DA ACUPUNTURA E DA ELETROACUPUNTURA SOBRE O ESTRESSE
OXIDATIVO EM RATOS SADIOS**

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

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Botelho Guimarães

**FORTALEZA
2009**

S578e Silva, Agamenon Honório

Efeitos da acupuntura e da eletroacupuntura sobre o estresse oxidativo em ratos saudáveis / Agamenon Honório Silva. – Fortaleza CE, 2009.

65f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Botelho Guimarães

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Cirurgia.

1. Acupuntura 2. Eletroacupuntura 3. Ratos 4. Estresse Oxidativo 5. Lipídeos da Membrana 6. Glutathione I. Guimarães, Sérgio Botelho (Orient.) II. Título.

CDD: 615.892

AGAMENON HONÓRIO SILVA

**EFEITOS DA ACUPUNTURA E DA ELETROACUPUNTURA SOBRE O
ESTRESSE OXIDATIVO EM RATOS SADIOS**

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

Aprovada em ___ / ___ / _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Maria do Desterro Leiros da Costa
Universidade Federal da Paraíba

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

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

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Sérgio Botelho Guimarães, pelo grande incentivo e apoio na realização desse trabalho.

Ao Dr. Dirceu de Lavor Sales que me ensinou os primeiros passos no caminho da Acupuntura.

Ao acadêmico de Medicina Alberico Ximenes do Prado Neto pela grande colaboração na colheita do material pesquisado.

À Sra. Maria Luciene Vieira de Oliveira, secretária do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia pela dedicação, competência e carinho dispensados aos alunos de pós-graduação.

Ao Sr. Francisco Evanir Gonçalves de Lima, técnico da Unidade de Farmacologia da Universidade Federal do Ceará pelos esclarecimentos técnicos e presteza na preparação e execução dos ensaios laboratoriais e ao Sr. Bento Francisco de Oliveira, assistente técnico do Biotério do Laboratório de Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará (UFC), pelos cuidados prestados aos animais experimentais alojados no biotério.

Aos meus colegas de mestrado pelo companheirismo nos momentos de aprendizagem.

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

RESUMO

EFEITOS DA ACUPUNTURA E DA ELETROACUPUNTURA SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO EM RATOS SADIOS. AGAMENON HONÓRIO SILVA. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Cirurgia. Orientador: Prof. Dr. Sérgio Botelho Guimarães

A acupuntura (Ac) é uma forma de terapia que busca a cura das enfermidades pela aplicação de estímulos através da pele, com a inserção de agulhas em pontos específicos denominados acupontos. A eletroacupuntura (EAc) consiste na aplicação de corrente elétrica de baixa intensidade e frequência variável em agulhas metálicas introduzidas no corpo do animal ou ser humano a inserção e a manipulação da agulha de acupuntura causam lesões celulares que provocam, em nível local, o aparecimento de substâncias bioquímicas, como a substância P, e transformação do ácido araquidônico em leucotrienos, tromboxano dos tipos A₂, B₂ e prostaglandinas PGE₂, PGD₂. A substância P, ativa os mastócitos, que liberam histamina estimulando as fibras C e promovem vasodilatação capilar. O “estresse oxidativo” resulta do desequilíbrio entre a produção e a neutralização de radicais livres oriundos dos processos metabólicos. Objetivou-se nesse estudo avaliar o estresse oxidativo em órgãos (fígado e rim) e no plasma de ratos Wistar sadios submetidos à estimulação manual e elétrica aplicada nos acupontos RM-12 (*Zhongwan*) e E-36 (*Zusanli*) bilateralmente. Quarenta e oito ratos foram randomizados em 4 grupos (GVB, GAc, GEAc10 e GEAc100) e submetidos ao trauma anestésico, seguindo-se a aplicação da acupuntura (GAc) e da eletroacupuntura (GEAc 10 Hz e GEAc 100 Hz), durante 30 minutos. O GVB serviu de controle. Ao término de 30 (T-30) e 60 (T-60) minutos foram colhidas amostras de sangue arterial, fígado e rim para determinação das concentrações de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e glutatona reduzida (GSH). No presente estudo, a Ac não alterou significativamente as concentrações de MDA no plasma e no fígado dos ratos. Entretanto, no rim, houve aumento significativo da peroxidação lipídica nos dois tempos estudados (T-30: 0,050,01 vs. 0,08±0,03, p>0,05 e T-60: 0,03±0,01 vs. 0,07±0,02, p>0,05). A utilização da EAc (10 Hz) induziu aumento significativo da concentração plasmática de MDA no T-30 (0,02±0,02 vs. 0,07±0,02, p>0,05) e no fígado dos mesmos animais no T-60 (0,03±0,03 vs. 0,12±0,03, p>0,01). A Ac promoveu um aumento significativo nas concentrações de GSH no fígado dos ratos no (T-30) (7,58±2,15 vs. 13,53±0,80 **, p>0,01). A EAc promoveu aumento significativo das do GSH hepático no T-30 (7,58±2,15 vs. 17,54±2,44 ***, p>0,001) e no T-60 (8,09±1,93 vs. 21,54±2,71 ***, p>0,001) no GEAc10 e no T-30 (7,58±2,15 vs. 24,15±3,80 ***, p>0,001) e T-60 (8,09±1,93 vs. 26,76±2,52 ***, p>0,001) do GEAc 100. Considerando os resultados encontrados, conclui-se que a acupuntura e a eletroacupuntura incrementam a peroxidação lipídica no fígado e no rim e simultaneamente exercem significativo efeito protetor sobre o estresse oxidativo em ratos sadios.

DESCRITORES: Acupuntura. Eletroacupuntura. Ratos. Estresse oxidativo. Lipídios da membrana celular – peroxidação. Malonaldeído. Glutaciona.

ABSTRACT

EFFECTS OF ACUPUNCTURE AND ELECTROACUPUNTURE ON OXIDATIVE STRESS IN HEALTHY RATS. AGAMENON HONÓRIO SILVA. Dissertation (Master Degree). Post-Graduation Program (*Stricto Sensu*) in Surgery. Federal University of Ceará. Professor: Dr. Sérgio Botelho Guimarães

Acupuncture (Ac) is a form of therapy that seeks the cure of illnesses by applying stimuli through the skin by inserting needles at specific points called acupoints. Electro-acupuncture (EAc) is the application of electric current of low intensity and variable frequency to metal needles introduced into the body of the animal or human being. The insertion and manipulation of acupuncture needles cause cell damage at local level, leading to the production of biochemical substances, such as substance P, and transformation of arachidonic acid to leukotrienes, thromboxane types A₂, B₂ and prostaglandins PGE₂, PGD₂. The substance P, activates the mast cells, which release histamine by stimulating the C fibers and promoting vasodilation in the capillary level. The "oxidative stress" results from the imbalance between production and neutralization of free radicals derived from metabolic processes. The objective of this study was to evaluate the oxidative stress in organs (liver and kidney) and plasma of healthy rats subjected to manual and electrical stimulation applied in acupoints RM-12 (*Zhongwan*) and S-36 (*Zusanli*) bilaterally. Forty-eight rats were randomized into 4 groups (GVB, GAc, GEAc10 and GEAc100) and subjected to anesthesia trauma, followed by the application of acupuncture (GAc) and electroacupuncture (Geac 10 Hz and Geac 100 Hz) for 30 minutes. GVB group was used as control. At the end of 30 (T-30) and 60 (T-60) minutes arterial blood, liver and kidney samples were collected to determine the concentration of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and reduced glutathione (GSH). In this study, the Ac did not significantly alter the concentration of MDA in plasma and liver of rats. However, in the kidney, there was a significant increase of lipid peroxidation in two time points (T-30: vs 0,050,01. 0.08 ± 0.03 , $p > 0.05$ and T-60: 0.03 ± 0.01 vs. 0.07 ± 0.02 , $p > 0.05$). The use of EAc (10 Hz) induced a significant increase in plasma MDA in the T-30 (0.02 ± 0.02 vs. 0.07 ± 0.02 , $p > 0.05$) and liver of these animals in the T-60 (0.03 ± 0.03 vs. 0.12 ± 0.03 , $p > 0.01$). The Ac promoted a significant increase in the concentrations of GSH in the liver of mice in the T-30 timepoint (7.58 ± 2.15 vs. 13.53 ± 0.80 **, $p > 0.01$). The EAc has promoted a significant increase of hepatic GSH concentrations in the T-30 (7.58 ± 2.15 vs. *** 17.54 ± 2.44 , $p > 0.001$) and T-60 (8.09 ± 1 , vs. 93.21 ± 2.71 ***, $p > 0.001$) timepoints in GEAc10 and T-30 (7.58 ± 2.15 vs. *** 24.15 ± 3.80 , $p > 0.001$) and T-60 (8.09 ± 1.93 vs. *** 26.76 ± 2.52 , $p > 0.001$) in Geac 100. Considering the results presented herein it is concluded that the use of acupuncture and electroacupuncture enhance lipid peroxidation in liver and kidney and promote a significant protective effect on oxidative stress in healthy rats.

KEY WORDS: Acupuncture. Electroacupuncture. Rats. Oxidative stress. Cell membrane lipids - peroxidation. Malonaldehyde. Glutathione.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1-** Rato anestesiado sendo submetido à acupuntura, aplicada aos pontos E 36 e RM 12.....61
- FIGURA 2-** Rato anestesiado sendo submetido à eletroacupuntura aplicada aos pontos E36 e RM 12.....61
- FIGURA 3-** Coleta de sangue arterial – punção da aorta abdominal.....61
- FIGURA 4-** Coleta de amostra do fígado.....61
- FIGURA 5-** Coleta de amostra do Rim.....62
- FIGURA 6-** Aparelho EL-608 (NKL) usado nas sessões de acupuntura.....62
- FIGURA 7-** Distribuição dos grupos e subgrupos, denominados de acordo Com o tipo de intervenção e o tempo de coleta das amostras.....13
- FIGURA 8-** Desenho do experimento: grupos e linha do tempo..... 14
- FIGURA 9-** Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações plasmáticas de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à acupuntura manual.....21
- FIGURA10-**Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações plasmáticas de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos).....22
- FIGURA11-**Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações plasmáticas de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos).....23
- FIGURA12-**Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no fígado de ratos submetidos à acupuntura manual.....24
- FIGURA13-**Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos).....25
- FIGURA14-**Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)...26
- FIGURA15-**Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no rim de ratos submetidos à acupuntura manual.....27

FIGURA 16 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (renais) de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos).....	28
FIGURA 17 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (renais) de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos).....	29
FIGURA 18 - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações plasmáticas de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à acupuntura manual.....	30
FIGURA 19 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações plasmáticas de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos).....	31
FIGURA 20 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações plasmáticas de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100 Hz).....	32
FIGURA 21 - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à acupuntura manual.....	33
FIGURA 22 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos).....	34
FIGURA 23 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos).....	35
FIGURA 24 - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) no rim de ratos submetidos à acupuntura manual.....	36
FIGURA 25 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (renais) de GSH ($\mu\text{Mol/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz,30 minutos).....	37

FIGURA 26- Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (renais) de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos).....	38
FIGURA 27 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no plasma, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30).....	39
FIGURA 28 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no fígado, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30).....	40
FIGURA 29 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no rim, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30).....	40
FIGURA 30 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no plasma em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60).....	41
FIGURA 31 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no fígado em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60).....	42
FIGURA 32 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no rim em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60).....	42
FIGURA 33 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) no plasma, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30).....	43
FIGURA 34 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) no fígado, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30).....	44
FIGURA 35 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) no rim, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30).....	44

- FIGURA 36** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) no plasma, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60).....45
- FIGURA 37** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) no fígado, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60).....46
- FIGURA 38** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) no fígado, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60).....46

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações plasmáticas de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à acupuntura manual	21
TABELA 2 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações plasmáticas de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)	22
TABELA 3 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações plasmáticas de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)	23
TABELA 4 - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no fígado de ratos submetidos à acupuntura manual	24
TABELA 5 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações <i>teciduais (hepáticas)</i> de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)	25
TABELA 6 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)	26
TABELA 7 - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no rim de ratos submetidos à acupuntura manual	27
TABELA 8 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (renais) de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)	28
TABELA 9 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as <i>teciduais (renais)</i> de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos).....	29
TABELA 10 - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações plasmáticas de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à acupuntura manual.....	30
TABELA 11 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações plasmáticas de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos).....	31
TABELA 12 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações plasmáticas de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos).....	32

TABELA 13 - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à acupuntura manual.....	33
TABELA 14 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)	34
TABELA 15 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)	35
TABELA 16 - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) no rim de ratos submetidos à acupuntura manual.....	36
TABELA 17 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (renais) de GSH ($\mu\text{Mol/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)	37
TABELA 18 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (renais) de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)	38
TABELA 19 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no plasma, fígado e rim, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30)	39
TABELA 20 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no plasma, fígado e rim, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60)	41
TABELA 21 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) no plasma, fígado e rim, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30)	43
TABELA 22 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) no plasma, fígado e rim, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60)	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ac - acupuntura

μM – microMol

mM - milimoles

GAc – Grupo Acupuntura

GGEAc10 – Grupo Eletroacupuntura 10 Hz

GGEAc100 – Grupo Eletroacupuntura 100 Hz

GSH – glutationa (forma reduzida)

GVB – Grupo Valores Basais

$\text{H}_2\text{O}\bullet$ – hidroperoxila

H_2O_2 – peróxido de hidrogênio

ip - intraperitoneal

MDA - malondialdeído

nm – nanômetro

$\text{O}_2\text{-}\bullet$ – radical superóxido

$\text{OH}\bullet$ – radical hidroxila

p:v – peso:volume

$\text{R}\bullet$ – radical

RLO – radicais livres de oxigênio

$\text{ROO}\bullet$ – radical peroxila

ROOH – hidroxiperóxido

T-30 – 30 minutos após a indução anestésica/término da sessão de acupuntura ou eletroacupuntura

T-60 – 60 minutos após a indução anestésica/início da sessão de acupuntura ou eletroacupuntura

TBA – ácido tiobarbitúrico

TBARS – substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico .

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	
LISTA DE TABELAS	
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVO	9
3 MÉTODO	10
3.1 A amostra	10
3.2 Procedimento anestésico	11
3.3 Delineamento do estudo	11
3.4 Distribuição da amostra	11
3.5 Desenho do Experimento	11
3.6 Materiais e Equipamentos utilizados	11
3.7 Coleta de material para análise	11
3.9 Técnica laboratorial	11
3.10 Análise estatística	20
4 RESULTADOS	21
4.1 TBARS	21
4.1.1 No plasma	21
4.1.2 No fígado	24
4.1.3 No rim	27
4.1 GSH	30
4.1.1 No plasma	30
4.1.2 No fígado	33
4.1.3 No rim	66
5 DISCUSSÃO	47
6 CONCLUSÃO	54
7 REFERENCIAS	55
APÊNDICES	62
ANEXOS	66

1 INTRODUÇÃO

O conceito de *Yin-Yang* tem permeado a filosofia chinesa há séculos e é radicalmente diferente de qualquer idéia filosófica ocidental, esta última baseada na oposição dos contrastes, premissa fundamental da lógica aristotélica. De acordo com essa lógica, os opostos (tais como “a mesa é quadrada” e “a mesa não é quadrada”) não podem ambos ser verdadeiros (MACIOCIA, 1996). O pensamento chinês, em oposição à lógica aristotélica, estabelece que *Yin* e *Yang* sejam qualidades opostas, mas também complementares, definindo que cada coisa ou fenômeno pode existir por si mesmo ou pelo seu oposto. Indo mais além, o pensamento chinês estabelece que o *Yin* contem a semente do *Yang* e vice-versa, contrariando totalmente a lógica aristotélica. Nessa premissa, “A” também pode ser “anti-A”. Assim, sob essa ótica, *Yin* e *Yang* são essencialmente uma expressão da dualidade no tempo, uma alternância de dois estágios opostos. Cada fenômeno do universo se alterna por movimentos cíclicos de altos e baixos e a alternância do *Yin* e *Yang* é a força motriz desta mudança e desenvolvimento (MACIOCIA, 1996).

Grandes são as diferenças culturais entre as sociedades ocidentais e a chinesa. Um dos pontos mais marcantes da Medicina Tradicional Chinesa (MTC; Chinês simplificado: 中医; Chinês tradicional: 中醫), considerado uma verdade universal, é a sua simplicidade. Tome-se como exemplo as causas das doenças (clima, emoções, dieta, etc.), tão básicas que podem ser aplicadas a qualquer sociedade, a qualquer tempo. Os sentimentos básicos do ser humano (fúria, tristeza, dor ou preocupação são sentimentos básicos encontrados em qualquer indivíduo e certamente ultrapassam as fronteiras culturais (MACIOCIA, 1996).

O primeiro texto médico conhecido pela MTC é o Tratado de Medicina Interna do Imperador Amarelo (Nei Jing Su Wen), escrito na forma de diálogo entre o lendário Imperador Amarelo (Hwang-Ti) e seu ministro, Qi Bha, sobre os assuntos da medicina, durante a Dinastia Chou (1122 – 256 a.C.). Outros

textos clássicos surgiram posteriormente, entre eles a Discussão das Doenças Causadas pelo Frio, O Clássico sobre o Pulso, O Clássico das Dificuldades (Nan Ching) e o Clássico sobre Sistematização da Acupuntura e Moxa (CHONGHUO, 1993).

No período inicial de tratamento pela Acupuntura, as enfermidades eram tratadas com agulhas de pedra denominadas Bian, Chan e Zhen. Posteriormente, surgiram as agulhas polidas de osso, de bambu e barro cozido (CHONGHUO, 1993). Com o advento da metalurgia apareceram, sucessivamente, agulhas de ferro, prata e de ligas metálicas, e, finalmente as atuais agulhas de aço inoxidável, muito finas e de fácil manejo (CHONGHUO, 1993).

1.1 A acupuntura

A acupuntura é um ramo da MTC que inclui técnicas de massagem (*Tui-Na*), exercícios respiratórios (*Chi-Gung*), orientações nutricionais (*Shu-Shieh*) e a farmacopéia chinesa (medicamentos de origem animal, vegetal e mineral) (ALTMAN, 1997). A palavra acupuntura (Ac) é derivada dos radicais latinos *acus* e *pungere*, que significam, respectivamente, agulha e puncionar. A Ac é uma forma de terapia que busca a cura das enfermidades pela aplicação de estímulos através da pele, com a inserção de agulhas em pontos específicos (JAGGAR, 1992; SCHOEN, 1993) denominados acupontos. É também uma forma de terapia reflexa, onde a estimulação de uma área age sobre outra(s), através, principalmente, de um estímulo nociceptivo (LUNDEBERG, 1993).

Muitos pontos de acupuntura se localizam próximos aos nervos periféricos ou de suas bifurcações, junções neuromusculares, vasos sangüíneos, ligamentos e linhas de sutura do crânio. Pesquisadores afirmam haver uma correspondência de 80% entre os locais onde se situam os pontos acupunturais e o tecido conectivo intra ou intermuscular (ZHAO et al., 2005). TAKESHIGE et al. (1985) demonstraram que é possível diferenciar um ponto de acupuntura de um ponto não acupuntural pelas respectivas vias que os conectam ao sistema nervoso central.

O estímulo acupuntural em pontos específicos é veiculado pelas fibras II e III dos nervos profundos (MAYER, 2000) e pelas A β e A δ dos nervos cutâneos

(BENSOUSSAN, 1991) que convergem para a coluna dorsal posterior da medula espinhal. A via aferente da acupuntura ascende pelo trato ântero-lateral contralateral para o núcleo reticulogigantocelular, para o núcleo magno da rafe e para ambos os lados da substância cinzenta periaquedutal. Estas estruturas são núcleos da formação reticular, uma rede mais ou menos difusa de neurônios que recebe uma síntese da informação sensorial que entra pela medula e pelos nervos cranianos e influencia quase todos os níveis do sistema nervoso central (KANDEL et al., 2000; MACHADO, 2005).

A inserção das agulhas de acupuntura determina três efeitos locais: elétrico, neuroquímico por ação mecânica e um terceiro efeito, resultante da combinação dos dois primeiros. A inserção e a manipulação da agulha de acupuntura causam lesões celulares que provocam, em nível local, o aparecimento de substâncias bioquímicas, como a substância P, e transformação do ácido araquidônico em leucotrienos, em tromboxano dos tipos A₂, B₂ e prostaglandinas PGE₂, PGD₂ (HAN, TERENIUS, 1987; KENDALL, 1989; BONICA et al., 1990). A substância P, ao ser liberada em decorrência da inserção da agulha de acupuntura, ativa os mastócitos, que liberam histamina estimulando as fibras C e promovendo vasodilatação no nível capilar. Além da histamina, são liberados a bradicinina, serotonina, íons potássio e prostaglandinas, que também vão estimular os quimiorreceptores, diminuindo o limiar de excitação. O potencial de ação da membrana, desencadeado pela inserção de uma agulha de acupuntura metálica, em última análise, deve-se a um efeito elétrico peculiar à agulha associado à ação das substâncias liberadas pela lesão traumática celular local (SMITH, 1992; HAN, 1986).

A agulha de acupuntura utilizada atualmente é formada por cabo, corpo e ponta: o cabo, geralmente, é feito de cobre ou alumínio, e o corpo/ponta podem ser feitos de aço inoxidável, prata, ouro, ferro, alumínio ou cobre. A diversidade na constituição metálica do cabo e corpo/ponta da agulha tem a finalidade de estabelecer uma diferença de potencial entre os dois extremos da agulha, o que é da ordem de 1.800 micro V, elevando-se para 140.000 micro V, quando a agulha é fixada entre os dedos do acupuntor (YAMAMURA, 1993). O potencial elétrico das agulhas de acupuntura constitui um estímulo que age

sobre as terminações nervosas livres existentes nos pontos de acupuntura (YAMAMURA, 1993), alterando o potencial da membrana celular, desencadeando o potencial de ação e a condução do estímulo nervoso.

1.2 A eletroacupuntura

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

1.3 O estresse oxidativo

Durante o metabolismo basal normal das células aeróbicas existe uma produção constante de espécies reativas de oxigênio (EROs), acompanhada pela sua contínua inativação através da ação de antioxidantes, mantendo a integridade estrutural e funcional das biomoléculas. (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1995).

Os efeitos deletérios do oxigênio sobre os organismos vivos variam consideravelmente, na dependência do tipo de organismo e de seu estado fisiológico. Nos mamíferos, no tecido oxigenado, o oxigênio sofre redução tetravalente, com a aceitação de quatro elétrons, resultando na formação de água, radicais superóxido ($O_2^{\bullet-}$) hidroperoxila (H_2O^{\bullet}) e hidroxila (OH^{\bullet}) e

peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (FERREIRA; MATSUBARA, 1997). A produção excessiva de radicais livres oxidantes e a capacidade do organismo de desativá-los representam o equilíbrio decisivo entre a reversibilidade das lesões e a morte celular (COTRAN; KUMAR; ROBBINS, 1996).

Sob condições fisiológicas, a formação de radicais livres e as defesas antioxidantes se encontram em aproximado estado de equilíbrio. Havendo ruptura desse equilíbrio, quer por produção excessiva de radicais livres quer por redução das defesas antioxidantes, estabelece-se o “estresse oxidativo” (FERREIRA; MATSUBARA, 1997). O estresse oxidativo pode ocorrer nas seguintes circunstâncias:

- a) Depleção de antioxidantes por má nutrição (ex.: ingestão inadequada de alfa-tocoferol, ácido ascórbico, aminoácidos precursores de glutatona) e
- b) Produção excessiva de radicais livres, por exemplo, quando da exposição à elevada concentração de O_2 , a presença de toxinas que metabolizadas produzem radicais livres (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1995).

Estabelecido o estresse oxidativo, restam ao organismo três alternativas:

- 1) adaptação, por aumento da atividade dos sistemas antioxidantes;
- 2) dano tecidual, por agressão aos lipídios, carboidratos ou proteínas;
- 3) morte celular, por necrose ou apoptose (DRÖGE, 2002).

1.4 A peroxidação lipídica

A lipoperoxidação ou peroxidação lipídica pode ser definida como uma deterioração oxidativa de ácidos graxos poliinsaturados, detentores de ligações duplas carbono-carbono, presentes em grande quantidade nas membranas e nas organelas intracelulares (mitocôndrias e peroxissomas); é um processo constituído por reações encadeadas, seqüenciais e que pode ser dividida em três etapas: iniciação, propagação e término (LLESUY, 2002).

A peroxidação lipídica tem início quando espécies reativas de oxigênio, dotadas de elétrons desemparelhados, promovem a remoção de um átomo de hidrogênio de um grupamento metileno ($-CH_2-$). Nesta etapa há produção de um novo radical ($-CH\bullet-$) que é centrado no carbono e que normalmente se estabiliza através de um novo arranjo molecular. Sob condições aeróbicas esse radical centrado no carbono combina-se com o oxigênio (O_2) formando

radicais peroxila ($\text{ROO}\cdot$). Esses radicais peroxila podem extrair um átomo de hidrogênio de outra molécula de lipídio, estabelecendo assim a propagação da reação. O novo radical, ao reagir com o oxigênio, origina novo radical peroxila, permitindo que a reação da peroxidação lipídica se torne contínua, pela repetição dos ciclos oxidativos (LLESUY, 2002).

Quando o radical peroxila se combina com um átomo de hidrogênio, há geração de hidroxiperóxidos (ROOH). Uma alternativa é a formação de peróxidos cíclicos e epóxidos. Estas substâncias, altamente reativas, culminam por fragmentar os lipídios poliinsaturados, produzindo o malondialdeído (4-hidroxi-2-nonenal) e outros compostos contendo grupos carbonila. Um único evento de iniciação pode produzir várias moléculas de peróxido. À medida que as reações em cadeia se processam, proteínas de transporte ou enzimas de membrana podem ser inativadas ou pode ocorrer aumento da permeabilidade da bicamada lipídica da membrana, alterando a homeostase. Finalmente, na etapa de conclusão, ocorre a formação de um intermediário instável (tetróxido), a partir dos radicais peroxila (mecanismo de Russell), que sofre decomposição, originando oxigênio singleto ($^1\text{O}_2$) e grupos carbonila excitados, entre outros produtos (LLESUY, 2002).

1.5 A glutatona (GSH)

A GSH pode ser considerada um dos agentes mais importantes do sistema de defesa antioxidante da célula, protegendo-a contra a lesão resultante da exposição a agentes como íons ferro (GALLEANO; PUNTARULO, 1995), oxigênio hiperbárico, ozona, radiação e luz ultravioleta (DENEKE; FANBURG, 1989). Sob condições fisiológicas, a taxa de consumo de GSH é determinada pela intensidade de sua utilização nos processos de detoxificação. A exposição aos agentes oxidantes oriundos do meio exterior ou a presença de toxinas reativas aos tióis pode aumentar significativamente o consumo de GSH, resultando em queda temporária dos níveis de GSH intracelular; entretanto, como a capacidade de recuperação das reservas de GSH está presente na maioria das células, a concentração do tripeptídeo intracelular é rapidamente recuperada.

1.6 A avaliação do estresse oxidativo

A aferição direta dos radicais livres nos sistemas biológicos é dificultada por suas concentrações extremamente baixas (da ordem de 10⁻¹¹ mM) e por suas altas velocidades de reação. Técnicas de ressonância paramagnética de elétrons podem permitir a aferição de subprodutos dos radicais livres de oxigênio. Os altos custos desses procedimentos os tornam proibitivos para uso rotineiro (FLOYD, 1990). Por outro lado, a aferição indireta dos radicais livres, com procedimentos de menor custo financeiro, pode ser feita por espectrofotometria ou cromatografia, possibilitando a aferição das concentrações de tripeptídeos (GSH) e aldeídos (malondialdeído, MDA) nos tecidos e sangue.

Vários métodos são utilizados para a avaliação do estresse oxidativo. A lipoperoxidação é um marcador para a lesão das membranas celulares e, no método de TBARS, é aferida através da formação de um composto intermediário da lipoperoxidação, o MDA. O teste com o ácido tiobarbitúrico (TBA) é um dos métodos mais utilizados para medida da peroxidação lipídica (CHIRICO, 1994). O estresse oxidativo pode ser avaliado por dosagens de glutathiona reduzida (GSH) e/ou pelo cálculo da razão glutathiona reduzida /glutathiona (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

1.7 Os efeitos da acupuntura sobre o estresse oxidativo

Os mecanismos bioquímicos que explicam os efeitos da acupuntura nos sistemas antioxidantes ainda não foram satisfatoriamente esclarecidos. Liu et al. (2006) demonstraram efeitos positivos da Ac na redução do estresse oxidativo em cérebros de ratos com infartos múltiplos, onde foi observado um aumento importante da atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e glutathiona peroxidase (GSH-Px). Por outro lado, Siu, Lo e Leung (2005) demonstraram que a EAc aumenta a expressão de tioredoxina nos cérebros isquêmicos de ratos, minimizando as alterações oxidativas dos grupos tiol das proteínas adjacentes à lesão.

Sabe-se que a estimulação do acuponto E-36 pode inibir a produção do fator de necrose tumoral (TNF- α) (TIAN et al., 2003), atenuar a redução da imunossupressão induzida pelo trauma (DU et al., 1998) e reverter a migração neutrofílica em ratos sépticos (SCOGNAMILLO-SZABO et al., 2004). Além disso, a acupuntura pode ativar a via parassimpática eferente (IWA et al., 2006), de grande importância no desencadeamento da atividade antiinflamatória da acupuntura na sepse (PAVLOV; TRACEY, 2005). Dai et al. (2008) estudaram os efeitos da acupuntura em ratas em menopausa e concluíram que a estimulação do acuponto E-36 reduz a concentração de MDA plasmático.

O que acontece quando um animal sadio é submetido aos efeitos da acupuntura? A acupuntura e/ou a eletroacupuntura podem induzir o atenuar o estresse oxidativo, nessas condições? São esses os questionamentos que motivaram a presente pesquisa. Não foram encontrados, na literatura médica, registros avaliando os efeitos da acupuntura e da eletroacupuntura em aplicação única, sobre as concentrações de GSH e MDA em órgãos (fígado e rim) e no plasma de ratos sadios, conferindo ineditismo e relevância ao objetivo deste estudo.

2 OBJETIVO

Avaliar o estresse oxidativo em órgãos (fígado e rim) e no plasma de ratos Wistar sadios submetidos à estimulação manual (Acupuntura) e elétrica (Eletroacupuntura) aplicada nos acupontos RM-12 (*Zhongwan*) e E-36 (*Zusanli*) bilateralmente.

3 MÉTODO

Trata-se de um estudo prospectivo, controlado e comparativo entre diferentes grupos de ratos Wistar saudáveis, para avaliar os efeitos da acupuntura e da eletroacupuntura, utilizando diferentes frequências.

O projeto de pesquisa foi previamente aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal - CEPA, da Universidade Federal do Ceará, em 19 de setembro de 2007, sob o número 094/07. Foram obedecidas as normas estabelecidas pelo *Council for International Organization of Medical Sciences (CIOMS)* e os preceitos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal - COBEA.

3.1- A amostra

Foram utilizados 48 ratos adultos, machos (*Rattus norvegicus: var. albinus, Rodentia, Mammalia*), pesando de 255 a 400 g, peso médio 324 g (APÊNDICE C) da linhagem Wistar, saudáveis e bem nutridos, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará – Faculdade de Medicina, criados e mantidos sob condições ambientais e alimentares semelhantes.

Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno, providas de tampa com grade metálica de aço inoxidável e forradas com maravalhas, alojadas em dependências refrigeradas ($24\pm 2^{\circ}\text{C}$). Observou-se a alternância dos ciclos claro/escuro a cada 12 horas. Água potável e ração comercial para ratos foram ofertadas *ad libitum* até o início do experimento.

A higienização das gaiolas e o exame dos animais foram realizados diariamente pelo técnico responsável e pelos alunos, respectivamente. Os ratos foram previamente aclimatados por um período de 7 dias antes da realização dos experimentos.

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados em ambiente refrigerado, no Laboratório de Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, nos mesmos horários para evitar-se a variação circadiana.

3.2 Procedimento Anestésico

A anestesia foi obtida pela aplicação, por via intraperitoneal (ip) de uma solução anestésica, contendo cloridrato de Cetamina 90 mg/Kg + Xilazina 10 mg/Kg). Obtido o nível anestésico adequado, o animal era colocado na mesa operatória, em decúbito dorsal. A profundidade anestésica foi avaliada por parâmetros clínicos, tais como as frequências respiratória e cardíaca, a ocorrência de arritmias, movimentos das narinas ou outros grupos musculares. Dez ratos necessitaram de uma dose adicional de anestésico transcorridos 45-50 minutos do início do experimento.

3.3 Delineamento do Estudo

Os 48 ratos foram distribuídos ao acaso em quatro grupos numericamente iguais (n = 12) e a seguir redistribuídos em dois subgrupos (n=6):

Grupo valores basais (GVB):

Doze ratos foram anestesiados, conforme descrito. Decorridos 30 minutos os primeiros 6 animais (subgrupo GVB-T30) foram submetidos à laparotomia, com coleta do rim direito, fígado e 3,0 ml de sangue arterial, por punção da aorta abdominal). Decorridos 60 minutos os 6 ratos restantes (GVB-T60) foram submetidos aos mesmos procedimentos (coleta do rim direito, fígado e 3,0 ml de sangue arterial, por punção da aorta abdominal).

Grupo Experimento 1 (GAc):

Doze ratos foram anestesiados, em grupos de 6 animais, conforme descrito e foram submetidos à acupuntura manual no acuponto E-36, bilateralmente. O E-36 se localiza, no rato (Figura 1, Apêndice 1), 5 mm abaixo da cabeça fibular e 2 mm lateral ao tubérculo anterior da fíbula; transitam, nessa região os ramos lateral do nervo sural cutâneo, o ramo cutâneo do

nervo safeno e o ramo profundo do nervo peroneal (YIN et al., 2007). A seguir realizou-se o agulhamento do acuponto RM-12, localizado na linha mediana anterior do abdômen superior, 20 mm abaixo da síncondrose xifo-esternal do rato (Figura 1, Apêndice 1), Esta região é inervada pelo ramo cutâneo anterior do 8º. nervo intercostal (YIN et al., 2007). Decorridos 30 minutos as agulhas foram removidas e os primeiros 6 animais (subgrupo GAc-T30) foram submetidos à laparotomia, coleta do rim direito, fígado e 3,0ml de sangue arterial, por punção da aorta abdominal. Trinta minutos após a remoção das agulhas os 6 ratos restantes (GAc-T60) foram submetidos aos mesmos procedimentos.

Grupo Experimento 2 (GEAc10):

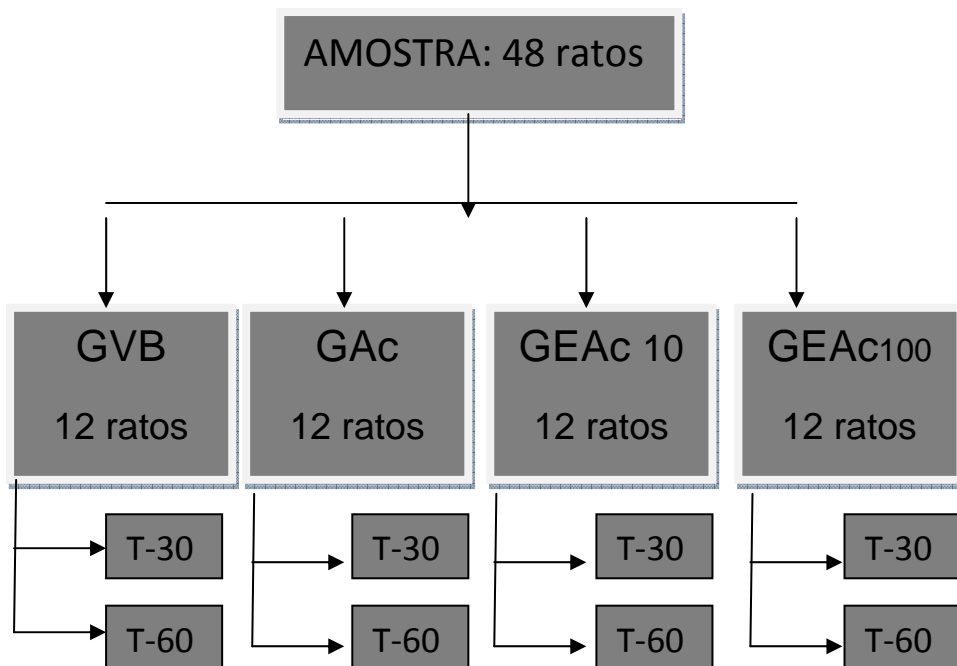
Doze ratos foram anestesiados, em grupos de 6 animais, conforme descrito, e submetidos à acupuntura manual nos acupontos E-36, bilateralmente e no acuponto RM-12. A seguir, eletrodos foram conectados às agulhas inseridas nos acupontos E-36 direito e RM-12; seguiu-se a aplicação de uma corrente elétrica de 10 mA, 10 Hz, pulsos quadrados, durante 30 minutos (Figura 2, Anexo 1), Concluído o período de estimulação elétrica os eletrodos e agulhas foram removidos e os primeiros 6 animais (subgrupo GEAc10-T30) foram submetidos à laparotomia, com coleta de 3,0 ml de sangue arterial, por punção da aorta abdominal (Figura 3, Anexo 1), do fígado (Figura 4, Anexo 1) e rim direito (Figura 5, Anexo 1). Trinta minutos após a remoção das agulhas os 6 ratos restantes (GEAc10-T60) foram submetidos aos mesmos procedimentos de coleta, já descritos.

Grupo Experimento 3 (GEAc100):

Doze ratos foram anestesiados, em grupos de 6 animais, conforme descrito, e submetidos à acupuntura manual nos acupontos E-36, bilateralmente e no acuponto RM-12. A seguir, eletrodos foram conectados às agulhas inseridas nos acupontos E-36 direito e RM-12; seguiu-se a aplicação de uma corrente elétrica de 10 mA, 100 Hz, pulsos quadrados, durante 30 minutos. Concluído o período de estimulação elétrica os eletrodos e agulhas

foram removidos e os primeiros 6 animais (subgrupo GEAc100-T30) foram submetidos à laparotomia, com coleta do fígado, rim direito, e 3,0 ml de sangue arterial, por punção da aorta abdominal. Trinta minutos após a remoção das agulhas os 6 ratos restantes (GEAc100-T60) foram submetidos aos mesmos procedimentos de coleta, já descritos.

3.4 Distribuição da Amostra:



GVB: Grupo Valores Basais (Controle) (anestesia)

GAc: Grupo Acupuntura (anestesia+acupuntura)

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

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

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

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

FIGURA 7 – Distribuição dos grupos e subgrupos, denominados de acordo com o tipo de intervenção e o tempo de coleta das amostras.

3.5 Desenho do Experimento:

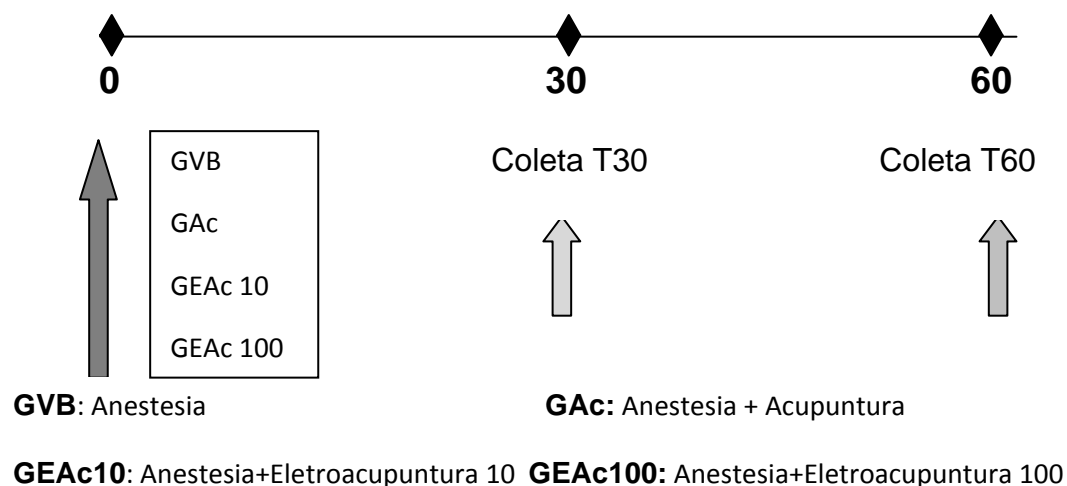


FIGURA 8- Desenho do experimento: grupos e linha do tempo

3.6 Materiais e Equipamentos Utilizados:

- **Agulhas:** Agulhas de acupuntura, esterilizadas, descartáveis, de aço inoxidável, medindo 0,25 mm de diâmetro e 30 mm de comprimento, marca Huan Qiu, produzidas na China e importadas por Mr. Ma Comércio Exportação e Importação Ltda (São Paulo – SP).
- **Aparelho de eletroacupuntura:** modelo EL 608 (NKL Produtos Eletrônicos, Brusque, Santa Catarina, Brasil), capaz de gerar estímulos elétricos pulsados (pulso assimétrico balanceado, desacoplado por transformador, com formato retangular / exponencial invertido, com frequência variável de 2 a 100 Hz e largura de 600-200 microssegundos), de baixa intensidade (10 mA) e com temporização automática (Figura 5, Anexo 1)

3.7 Coleta de material para análise

A coleta de sangue (3,0 ml) foi realizada em ratos anestesiados, por punção da aorta abdominal utilizando-se agulhas inoxidáveis calibre G-23. Os tubos de ensaio contendo o sangue arterial heparinizado (3,0 ml) foram colocados em centrífuga refrigerada Jouan modelo MR23i (França) e

centrifugados a 4.000 r.p.m. durante 10 minutos, mantendo-se a temperatura interna em 10° C. O plasma obtido foi dividido em alíquotas e imediatamente armazenado a -70° C.

As amostras de sangue foram coletadas ao término da sessão de acupuntura / eletroacupuntura (T-1) e 30 minutos mais tarde (T-2) nos grupos GAc, GEAc10 e GEAc100. No GVB as amostras foram coletadas 30 (T-30) e 60 (T-60) minutos após a injeção intraperitoneal da mistura anestésica.

Na coleta de tecidos, realizadas imediatamente após a coleta de sangue, de cada animal, foram retirados o polo superior do rim e lobo hepático esquerdo. Separando-se um fragmento de aproximadamente 1,0 cm³ de volume de cada órgão. Após a coleta, os fragmentos de rim e fígado foram lavados com soro fisiológico gelado (4° C) para remoção dos resquícios de sangue e imediatamente mergulhado em nitrogênio líquido a cerca de 190 graus centígrados negativos. Após o congelamento, procedeu-se à fragmentação do material utilizando-se grau e pistilo de porcelana.

Os fragmentos, em número variável (4 a 6), foram colocados em tubos de ensaio e armazenados a 70 graus centígrados negativos, até sua utilização.

3.8 O estudo

Os ratos de cada grupo foram pesados individualmente, ao início do experimento, para permitir o cálculo dos volumes das drogas anestésicas. Os animais receberam água e ração *ad libitum* até o início do experimento. Após a injeção intraperitoneal da solução anestésica, os animais permaneceram anestesiados durante todo experimento. Após 45 minutos da aplicação inicial, onze ratos necessitaram de uma dose adicional (metade da dose aplicada) de anestésicos, com a seguinte distribuição por grupos: 4 no GB, 3 no GA, 3 no GEAc 10 e 1 no GEAc 100.

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

- a) indução da anestesia e colocação do animal em decúbito dorsal, com as patas dianteiras e traseiras fixadas à prancha por tiras de esparadrapo;
- b) epilação da região adjacente à crista tibial, seguida por antissepsia com solução de polivinilpirrolidona-iodo;
- c) a acupuntura manual foi realizada inserindo-se agulhas metálicas de aço inoxidável de 0,25mm de diâmetro nos acupontos E-36, bilateralmente; uma terceira agulha foi inserida no ponto RM-12. Assim, cada agulha foi inserida aproximadamente 3 mm na massa muscular, 5 mm abaixo da cabeça fibular e 2 mm lateral ao tubérculo anterior da fíbula, no músculo tibial do membro pélvico dos ratos, bilateralmente (HUANG et al., 2006; LAO et al., 2006) e no acuponto RM-12, localizado na linha mediana anterior do abdômen superior, 20 mm abaixo da síncondrose xifó-esternal do rato (YIN et al., 2008) (FIG. 1, Anexo A);
- d) transcorridos 30 minutos, as agulhas foram removidas e os ratos do subgrupo T30 foram submetidos à laparotomia, com coleta do fígado, rim direito, e 3,0 ml de sangue arterial, por punção da aorta abdominal. Após 60 minutos de início do procedimento procedeu-se a coleta de material no subgrupo T60, como descrito acima;
- e) nos ratos submetidos à eletroacupuntura, após a inserção das agulhas, foram conectados os eletrodos, fixados as agulhas por garras tipo jacaré sendo então aplicada uma corrente de 10 mA, 10 Hz (Grupo EAC10) ou de 100 Hz (GEAc100), pulsos quadrados, durante 30 minutos, com a utilização do eletroestimulador portátil (FIG. 2, Anexo A). Concluído o período de estimulação elétrica os eletrodos e agulhas foram removidos e os ratos do subgrupo T30 foram submetidos à laparotomia, com coleta do fígado, rim direito, e 3,0 ml de sangue arterial, por punção da aorta abdominal. Após 60 minutos de início do procedimento procedeu-se a coleta de material no subgrupo T60, como descrito acima;
- f) nos ratos do grupo GVB, a anestesia foi aplicada da maneira descrita; transcorridos 30 minutos os ratos do subgrupo T30 foram submetidos à laparotomia, com coleta do fígado, rim direito, e 3,0 ml de sangue arterial, por punção da aorta abdominal. Após 60 minutos de início do procedimento procedeu-se a coleta de material no subgrupo T60, como descrito acima (FIG. 3-5, Anexo A);

- g) Após as coletas, ainda sob efeito anestésico adequado, os animais foram sacrificados por dessangramento.

3.9 Técnica laboratorial

3.9.1 Avaliação da peroxidação lipídica

A técnica tem por objetivo quantificar o dialdeído malônico (MDA) formado na peroxidação lipídica. Procede-se, a seguir, a extração deste composto usando um solvente orgânico (n-butanol), determinando-se a concentração de MDA que será expressa como substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).

Utilizou-se no presente estudo, para a quantificação do teor de TBARS no tecido e plasma o teste de Uchiyama e Mihara (1978), onde a concentração de TBARS é expressa em $\mu\text{mol MDA/g}$ de tecido ou $\mu\text{mol MDA/ml}$ plasma.

Determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS):

O MDA é capaz de reagir, sob aquecimento em meio ácido, com o ácido tiobarbitúrico originando um composto de cor rosa.

Reagentes:

Cloreto de potássio: 1,15%

Ácido tiobarbitúrico: 0,6%

Ácido fosfórico: 1%

N-butanol

Procedimento:

O teor de TBARS ($\mu\text{mol/g}$ de tecido) foi quantificado pelo método de UCHIYAMA E MIHARA (1978), freqüentemente utilizado para estimar a peroxidação lipídica. As amostras dos tecidos (fígado e rim) a serem analisadas, foram congeladas em nitrogênio líquido e estocadas a -70°C imediatamente após a coleta e lavagem com soro fisiológico gelado (4°C),

para remover quaisquer vestígios de sangue. Após pesagem, a amostra de tecido foi homogeneizada em KCl gelado 1,15%, resultando em uma solução ácida com concentração a 10%. Retirou-se uma alíquota de 0,5 ml de cada amostra e acrescentou-se 1,0 ml da solução aquosa de TBA 0,6% e 3,0 ml da solução de ácido fosfórico (H_3PO_4 , 1%). A mistura foi colocada em banho fervente por 45 minutos, resfriada em banho de gelo seguido da adição de 4,0 ml de N-butanol. Após 2,0 minutos de agitação a mistura foi centrifugada por 10 minutos a 3.000 r.p.m. A absorbância da camada orgânica sobrenadante (fase butanólica) foi medida em espectrofotômetro Beckman DU-640 (Fullerton, Califórnia) a 520 nm e 535 nm.

A diferença entre os valores obtidos nas duas leituras foi utilizada para calcular a concentração de TBARS, usando a regressão linear a partir de uma curva padrão. Para a aferição das concentrações de TBARS no plasma utilizou-se o mesmo método.

3.9.2 Determinação de grupos sulfidrílicos não protéicos (Glutathiona-GSH)

A determinação dos grupos SH é realizada pelo Método de Sedlak e Lindsay (1968), baseado na reação do 5,5'-ditiobis (2-ácido nitrobenzóico) (DTNB – reagente de Ellman) com o tiol livre, originando um dissulfeto misto mais ácido 2-nitro-5-tiobenzóico. A medida do produto de reação formado é feita por leitura da absorbância a 412nm em espectrofotômetro (Beckman DU-640, Fullerton, Califórnia).

Drogas e reagentes

Ácido etilenodiaminotetracético (EDTA)

Ácido tricloroacético (ATC, 50%)

Tampão TRIS 0,4 M pH 8,9

5,5'-ditiobis (2-ácido nitrobenzóico) (DTNB) 0,5M)

Metanol

Glutathiona (GSH, 1 mg/ml).

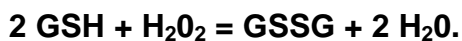
Preparação dos reagentes:

Ácido tricloroacético 50% - diluído em água destilada

EDTA Na₂ 0,2M PM 372,2 (% 211g + H₂O *qsp* 70.0 ml)

EDTA Na₂ 0,02M (30 ml de EDTA Na₂ 0,2M + H₂O *qsp* 300 ml)

Reação



Procedimento:

A amostra de tecido (500 mg) é pesada e homogeneizada em 5 ml de EDTA 0,02M gelado, com bastão de vidro e filtrado em lã de vidro. Retiram-se 4,0 ml do homogenato e mistura-se com 3,2 ml de água destilada e 0,8 ml de ácido tricloroacético 50%. O tubo é agitado e centrifugado a 3000 g por 15 minutos. Retiram-se 2,0 ml do sobrenadante e acrescenta-se 4 ml de TRIS 0,4 M (pH 8,9) e 0,1 ml de DTNB 0,01 M; agita-se a mistura para homogeneização. Em seguida, lêem-se as absorvâncias no espectrofotômetro à 412nm, 5 minutos após a adição do DTNB. A concentração final de GSH é obtida comparando-se o valor da absorvância com uma tabela padrão de GSH, previamente preparada. Para a aferição das concentrações de glutathiona no plasma utilizou-se o mesmo método.

3.10 Análise estatística

Para todas as variáveis, realizou-se uma análise descritiva dos dados onde foram determinadas as curvas de normalidade aplicando-se o teste de

Kolmogorov-Smirnov e calculados a média amostral e o erro padrão da média (E.P.M). Tem-se:

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

amostra.

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

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

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

4. RESULTADOS

4.1. TBARS

4.1.1 No plasma

4.1.1.1 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações plasmáticas de TBARS em ratos submetidos à Acupuntura manual

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

TABELA 1 - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações plasmáticas de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à acupuntura manual

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
Grupo Valores Basais (GVB)	0,02 \pm 0,02	0,02 \pm 0,02
Grupo Acupuntura (GAc)	0,03 \pm 0,04	0,04 \pm 0,03

Teste de Kruskal-Wallis/Dunn, em 12 ratos (Média \pm DP)

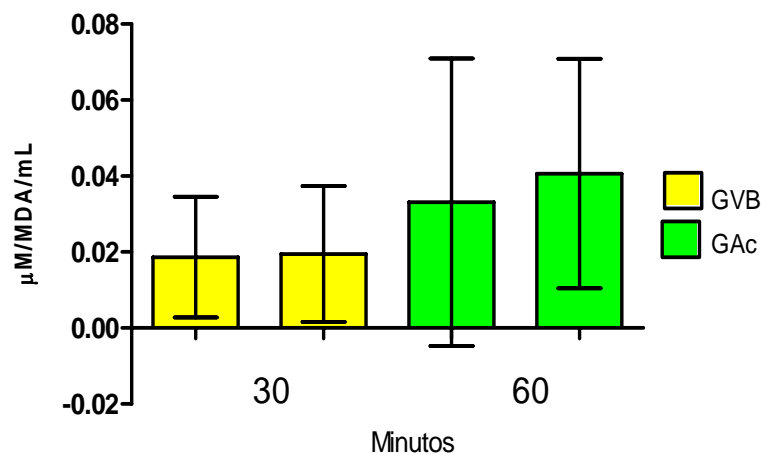


FIGURA 9 - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações plasmáticas de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à acupuntura manual. Teste de Kruskal-Wallis/ Dunn, em 12 ratos (Média \pm DP). Não foram encontradas diferenças significantes nas concentrações plasmáticas de TBARS, comparando-se o Grupo Acupuntura (GAc), ao Grupo Valores Basais (GVB) em nenhum dos tempos estudados.

4.1.1.2 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações plasmáticas de TBARS em ratos submetidos à Eletroacupuntura (10 Hz)

Ocorreu aumento significativo ($p>0,05$) na concentração de TBARS no GEAc10 após 30 minutos do término da sessão de eletroacupuntura, comparado ao Grupo Valores Basais (GVB).

TABELA 2 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações plasmáticas de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
Grupo Valores Basais (GVB)	0,02 \pm 0,02	0,02 \pm 0,02
Grupo Eletroacupuntura 10 Hz (GEAc10)	0,07 \pm 0,02 *	0,07 \pm 0,02

Teste de Kruskal-Wallis/Dunn, em 12 ratos (Média \pm DP)

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

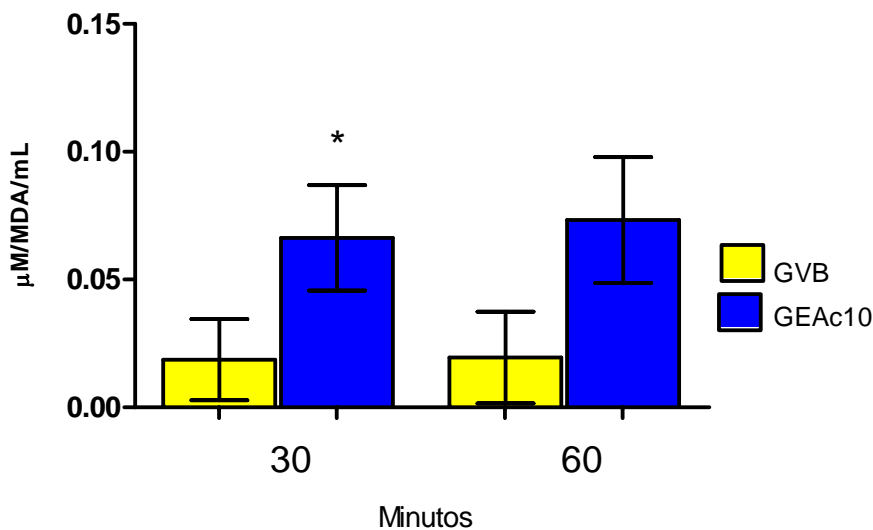


FIGURA 10 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações plasmáticas de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos). Teste de Kruskal-Wallis/Dunn, em 12 ratos (Média \pm DP). Ocorreu aumento significativo ($p>0,05$) na concentração de TBARS no GEAc10 após 30 minutos do término da sessão de eletroacupuntura, comparado ao Grupo Valores Basais (GVB). * $p<0,05$ comparado ao respectivo controle

4.1.1.3 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações plasmáticas de TBARS em ratos submetidos à Eletroacupuntura (100 Hz)

Não foram encontradas diferenças significantes nas concentrações plasmáticas de TBARS, comparando-se o Grupo EletroAcupuntura (GEAc 100), ao Grupo Valores Basais (GVB), em nenhum dos tempos estudados.

TABELA 3 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações plasmáticas de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
Grupo Valores Basais (GVB)	0,02 \pm 0,02	0,02 \pm 0,02
Grupo Eletroacupuntura 100 Hz (GEAc10)	0,010 \pm 0,06	0,10 \pm 0,06

Teste de Kruskal-Wallis/Dunn, em 12 ratos (Média \pm DP)

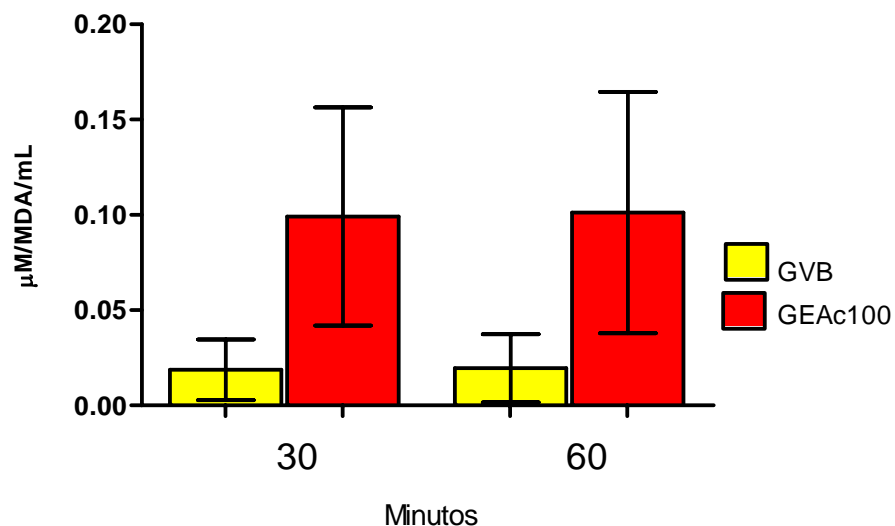


FIGURA 11 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações plasmáticas de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos). Teste de Kruskal-Wallis/Dunn, em 12 ratos (Média \pm DP). Não foram encontradas diferenças significantes nas concentrações plasmáticas de TBARS, comparando-se o Grupo EletroAcupuntura (GEAc 100), ao Grupo Valores Basais (GVB), em nenhum dos tempos estudados.

4.1.2 No fígado

4.1.2.1 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de TBARS em ratos submetidos à Acupuntura manual

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

TABELA 4 - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no fígado de ratos submetidos à acupuntura manual

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
Grupo Valores Basais (GVB)	0,06 \pm 0,02	0,03 \pm 0,03
Grupo Acupuntura (GAc)	0,08 \pm 0,09	0,08 \pm 0,06

Teste de Kruskal-Wallis/Dunn, em 12 ratos (Média \pm DP)

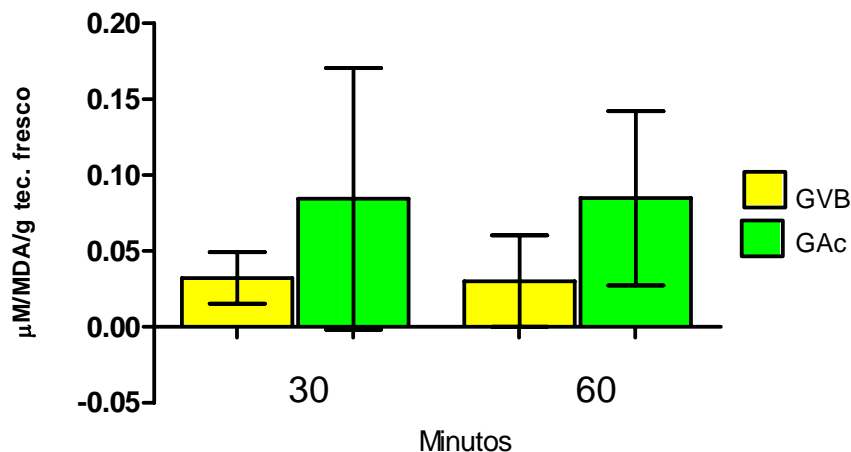


FIGURA 12 - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no fígado de ratos submetidos à acupuntura manual. Teste de Kruskal-Wallis/Dunn, em 12 ratos (Média \pm DP). Não foram encontradas diferenças significantes nas concentrações hepáticas de TBARS, comparando-se o Grupo Acupuntura (GAc), ao Grupo Valores Basais (GVB) em nenhum dos tempos estudados

4.1.2.2 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de TBARS em ratos submetidos à Eletroacupuntura (10 Hz)

Ocorreu aumento significativo ($p > 0,05$) na concentração de TBARS no fígado dos ratos do GEAc10 após 30 minutos do término da sessão de eletroacupuntura (T-60) comparado ao Grupo Valores Basais (GVB).

TABELA 5 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
Grupo Valores Basais (GVB)	0,06 \pm 0,02	0,03 \pm 0,03
Grupo Eletroacupuntura 10 Hz (GEAc10)	0,12 \pm 0,06	0,13 \pm 0,03 **

Teste de Kruskal-Wallis/Dunn, em 12 ratos (Média \pm DP)

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

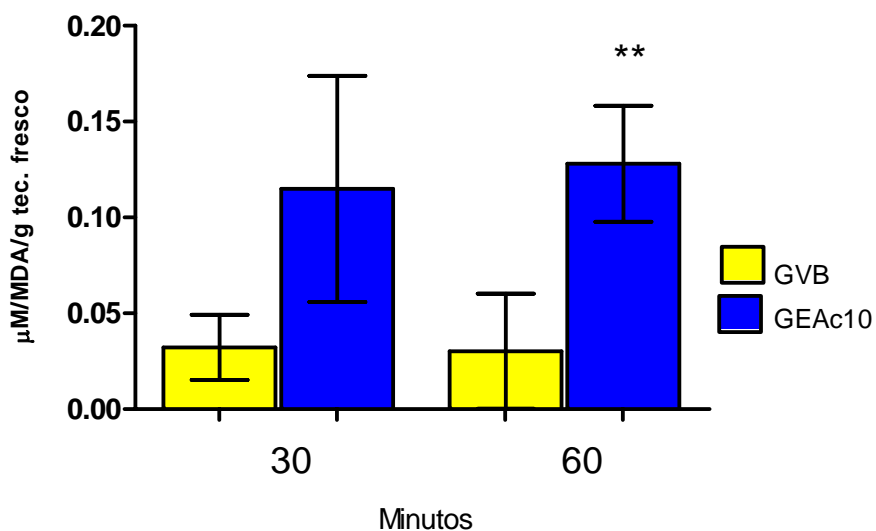


FIGURA 13 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos). Teste de Kruskal-Wallis/Dunn, em 12 ratos (Média \pm DP). Ocorreu aumento significativo ($p > 0,05$) na concentração de TBARS no fígado dos ratos do GEAc10 após 30 minutos do término da sessão de eletroacupuntura (T-60), comparado ao Grupo Valores Basais (GVB). ** $p < 0,01$ comparado ao respectivo controle.

4.1.2.3 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de TBARS em ratos submetidos à Eletroacupuntura (100 Hz)

Ocorreram diferenças significantes nas concentrações teciduais (hepáticas) de TBARS, comparando-se o Grupo EletroAcupuntura (GEAc 100), ao Grupo Valores Basais (GVB), no T-60.

TABELA 6 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
Grupo Valores Basais (GVB)	0,06 \pm 0,02	0,03 \pm 0,03
Grupo Eletroacupuntura 100 Hz (GEAc10)	0,14 \pm 0,04	0,15 \pm 0,04 **

Teste de Kruskal-Wallis/Dunn, em 12 ratos (Média \pm DP)

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

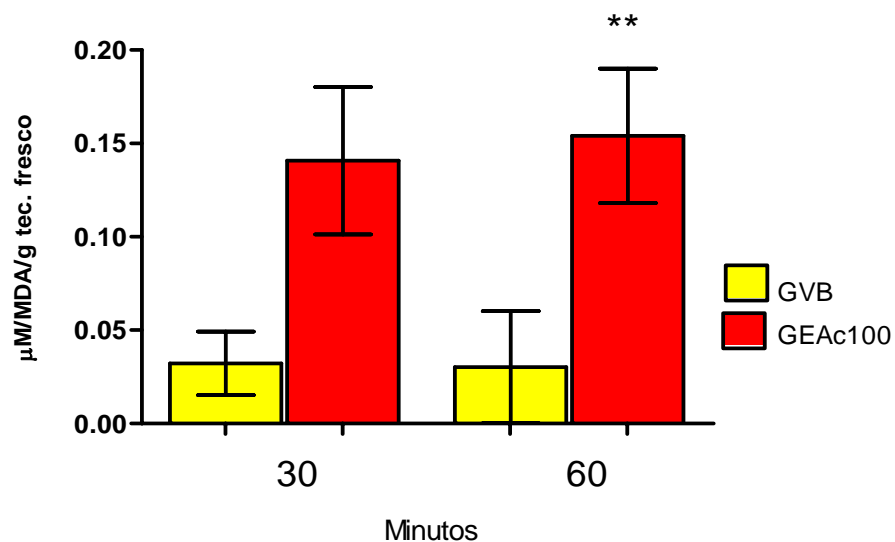


FIGURA 14 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos). Teste de Kruskal-Wallis/Dunn, em 12 ratos (Média \pm DP). Ocorreram diferenças significantes nas concentrações teciduais (hepáticas) de TBARS, comparando-se o Grupo EletroAcupuntura (GEAc 100), ao Grupo Valores Basais (GVB), no T-60.

4.1.3 No rim

4.1.3.1 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais (renais) de TBARS em ratos submetidos à Acupuntura manual

Ocorreram diferenças significantes nas concentrações renais de TBARS, comparando-se o Grupo Acupuntura (GAc), ao Grupo Valores Basais (GVB) em ambos os tempos estudados.

TABELA 7 - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no rim de ratos submetidos à acupuntura manual.

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
Grupo Valores Basais (GVB)	0,05 \pm 0,01	0,03 \pm 0,01
Grupo Acupuntura (GAc)	0,08 \pm 0,03 *	0,07 \pm 0,02 *

Teste de ANOVA/Tukey 12 ratos (Média \pm DP)

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

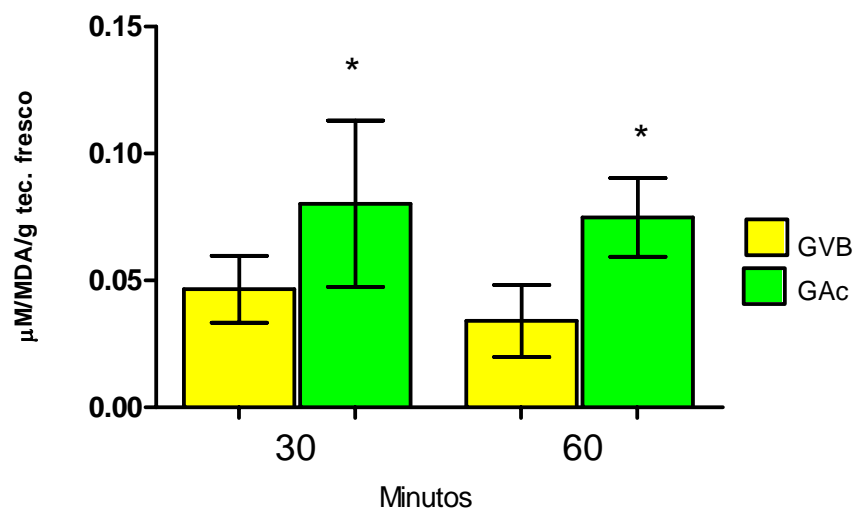


FIGURA 15 - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no rim de ratos submetidos à acupuntura manual. Teste de ANOVA/Tukey 12 ratos (Média \pm DP). Ocorreram diferenças significantes nas concentrações renais de TBARS, comparando-se o Grupo Acupuntura (GAc), ao Grupo Valores Basais (GVB) em ambos os tempos estudados.

4.1,3.2 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais (renais) de TBARS em ratos submetidos à Eletroacupuntura (10 Hz)

Ocorreu aumento significativo ($p > 0,01$) na concentração de TBARS no tecido renal, no grupo GEAc10 após 30 minutos do término da sessão de eletroacupuntura (T-60), comparado ao Grupo Valores Basais (GVB).

TABELA 8 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (renais) de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
Grupo Valores Basais (GVB)	0,05 \pm 0,01	0,03 \pm 0,01
Grupo Eletroacupuntura 10 Hz (GEAc10)	0,10 \pm 0,04	0,11 \pm 0,03 **

Teste de ANOVA/Tukey 12 ratos (Média \pm DP)

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

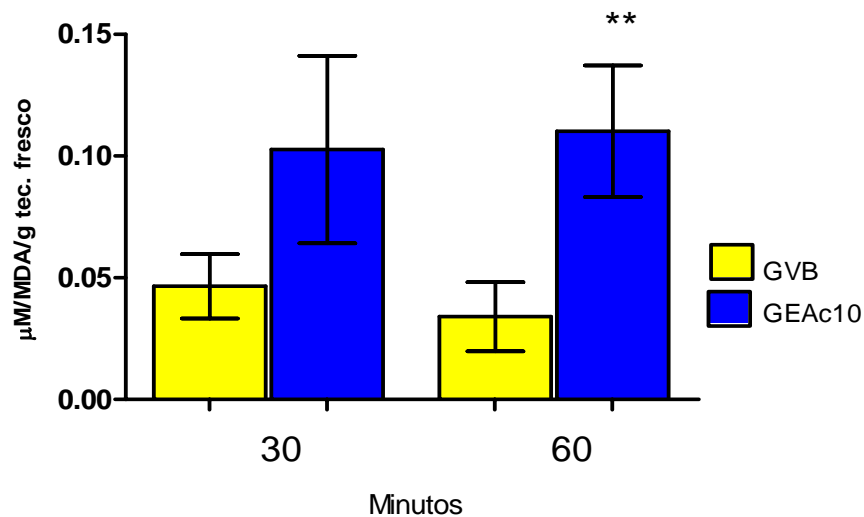


FIGURA 16 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (renais) de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos). Teste de ANOVA/Tukey 12 ratos (Média \pm DP). Ocorreu aumento significativo ($p > 0,01$) na concentração de TBARS no GEAc10 após 30 minutos do término da sessão de eletroacupuntura (T-60), comparado ao Grupo Valores Basais (GVB). ** $p < 0,01$ comparado ao respectivo controle.

4.1.3.3 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais (renais) de TBARS em ratos submetidos à Eletroacupuntura (100 Hz)

Ocorreram aumentos significantes nas concentrações teciduais (renais) de TBARS, comparando-se o Grupo Eletroacupuntura (GEAc 100), ao Grupo Valores Basais (GVB), em ambos os tempos estudados.

TABELA 9 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (renais) de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
Grupo Valores Basais (GVB)	0,05 \pm 0,01	0,03 \pm 0,01
Grupo Eletroacupuntura 100 Hz (GEAc10)	0,14 \pm 0,04 ***	0,15 \pm 0,02 ***

Teste de ANOVA/Tukey 12 ratos (Média \pm DP)

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

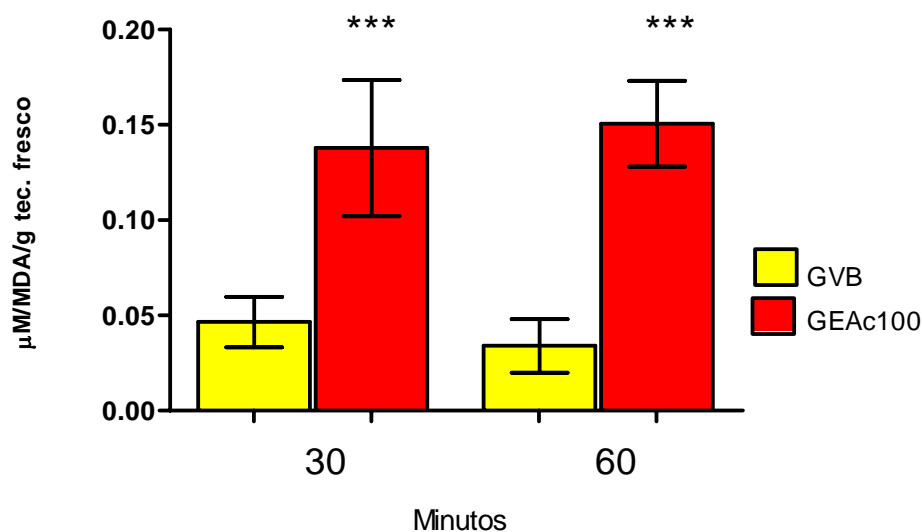


FIGURA 17 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (renais) de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos). Teste de ANOVA/Tukey 12 ratos (Média \pm DP). Ocorreram aumentos significantes nas concentrações teciduais (renais) de TBARS, comparando-se o Grupo EletroAcupuntura (GEAc 100), ao Grupo Valores Basais (GVB), em ambos os tempos estudados. *** $p < 0,001$ comparado ao respectivo controle.

4.2. GSH

4.2.1 No plasma

4.2.1.1 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações plasmáticas de GSH em ratos submetidos à Acupuntura manual

Houve aumento significativo nas concentrações plasmáticas de GSH ($p>0.01$), comparando-se o Grupo Acupuntura (GAc), ao Grupo Valores Basais (GVB) após 60 minutos da estimulação acupuntural.

TABELA 10 - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações plasmáticas de GSH ($\mu\text{Mol/ml}$) em ratos submetidos à acupuntura manual

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
Grupo Valores Basais (GVB)	6,55±0,47	5,90±0,38
Grupo Acupuntura (GAc)	8,44±0,66	9,84±0,56 **

Teste de Kruskal-Wallis/Dunn, em 12 ratos (Média±DP) ** $p>0,01$ comparado ao respectivo controle

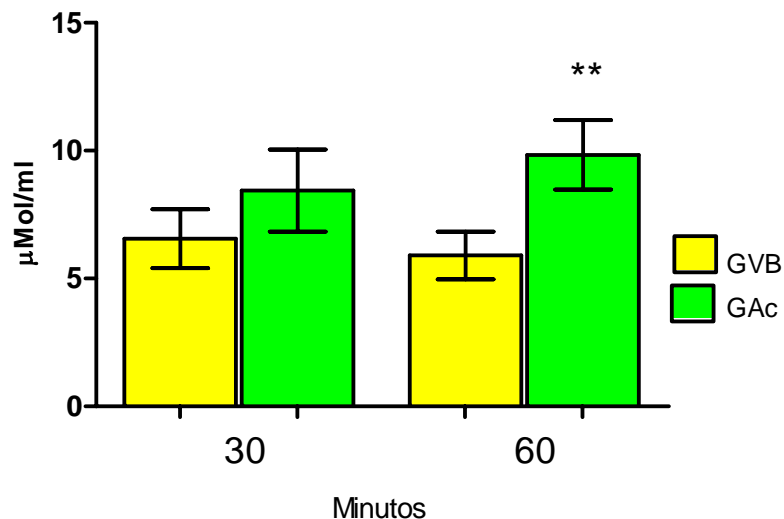


FIGURA 18 - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações plasmáticas de GSH ($\mu\text{Mol/ml}$) em ratos submetidos à acupuntura manual. Teste de Kruskal-Wallis /Dunn, em 12 ratos (Média±DP). Houve aumento significativo nas concentrações plasmáticas de GSH ($p>0.01$), comparando-se o Grupo Acupuntura (GAc), ao Grupo Valores Basais (GVB) após 60 minutos da estimulação acupuntural. ** $p>0,01$ comparado ao respectivo controle.

4.2.1.2 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações plasmáticas de GSH ($\mu\text{Mol/ml}$) em ratos submetidos à Eletroacupuntura (10 Hz)

Ocorreu aumento significativo ($p>0,01$) na concentração plasmática de GSH no GEAc10 comparado ao Grupo Valores Basais (GVB), em ambos os tempos estudados.

TABELA 11 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações plasmáticas de GSH ($\mu\text{Mol/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
Grupo Valores Basais (GVB)	6,55 \pm 0,15	5,90 \pm 0,93
Grupo Eletroacupuntura 10 Hz (GEAc10)	10,93 \pm 1,93	13,37 \pm 1,87 **

Teste de Kruskal-Wallis/Dunn, em 12 ratos (Média \pm DP)

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

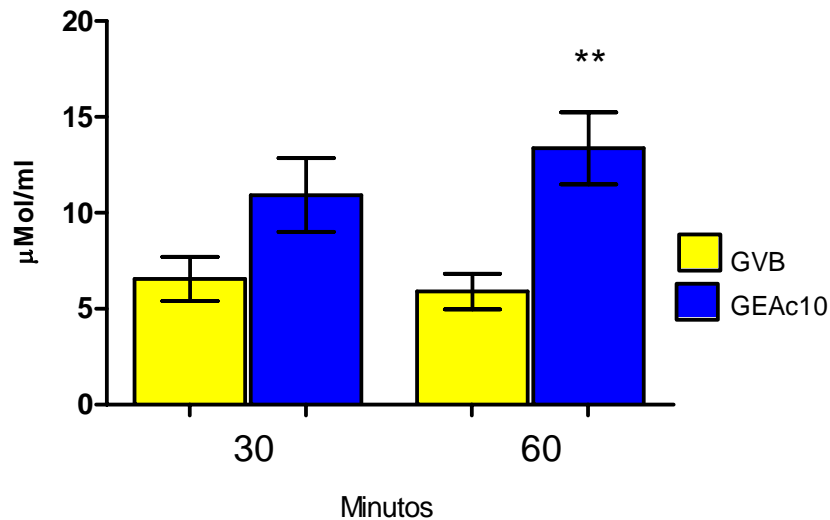


FIGURA 19 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações plasmáticas de GSH ($\mu\text{Mol/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos). Teste de Kruskal-Wallis/Dunn, em 12 ratos (Média \pm DP). Ocorreu aumento significativo ($p>0,01$) na concentração plasmática de GSH no GEAc10 comparado ao Grupo Valores Basais (GVB), em ambos os tempos estudados. ** $p<0,01$ comparado ao respectivo controle.

4.2.1.3 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações plasmáticas de GSH ($\mu\text{Mol/ml}$) em ratos submetidos à Eletroacupuntura (100 Hz)

Ocorreu aumento significativo ($p > 0,001$) na concentração plasmática de GSH no GEAc100 após 30 minutos do término da sessão de eletroacupuntura (T-60) comparado ao Grupo Valores Basais (GVB).

TABELA 12 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações plasmáticas de GSH ($\mu\text{Mol/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
Grupo Valores Basais (GVB)	6,55 \pm 1,15	5,90 \pm 0,93
Grupo Eletroacupuntura 100 Hz (GEAc10)	16,03 \pm 0,36	18,73 \pm 0,65 ***

Teste de Kruskal-Wallis / Dunn, em 12 ratos (Média \pm DP)

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

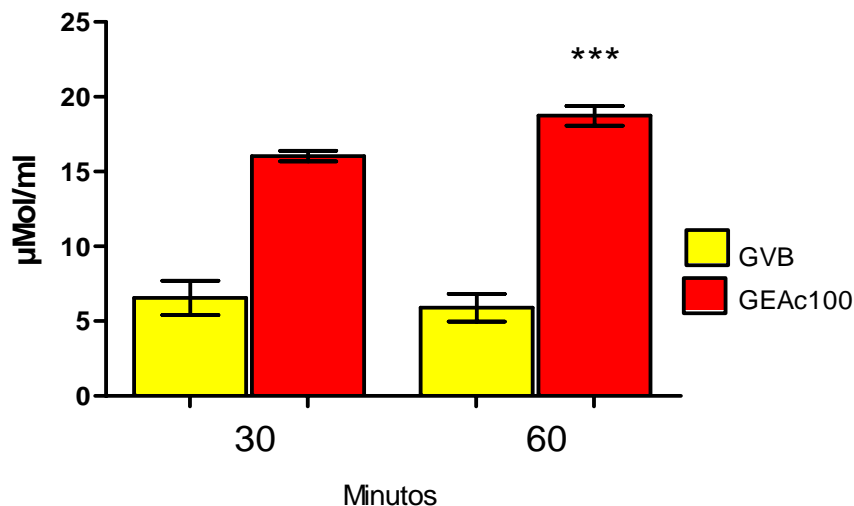


FIGURA 20 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações plasmáticas de GSH ($\mu\text{Mol/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100 Hz). Teste de Kruskal-Wallis / Dunn, em 12 ratos (Média \pm DP), Ocorreu aumento significativo ($p > 0,001$) na concentração plasmática de GSH no GEAc100 após 30 minutos do término da sessão de eletroacupuntura (T-60) comparado ao Grupo Valores Basais (GVB).

4.2.2 No fígado

4.2.2.1 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de GSH em ratos submetidos à Acupuntura manual

Houve aumento significativo nas concentrações teciduais (hepáticas) de GSH ($p>0.01$), comparando-se o Grupo Acupuntura (GAc), ao Grupo Valores Basais (GVB) no T-30.

TABELA 13 - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à acupuntura manual

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
Grupo Valores Basais (GVB)	7,58±2,15	8,09±1,93
Grupo Acupuntura (GAc)	13,53±0,80 **	14,00±1,54

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

** $p>0,01$ comparado ao respectivo controle.

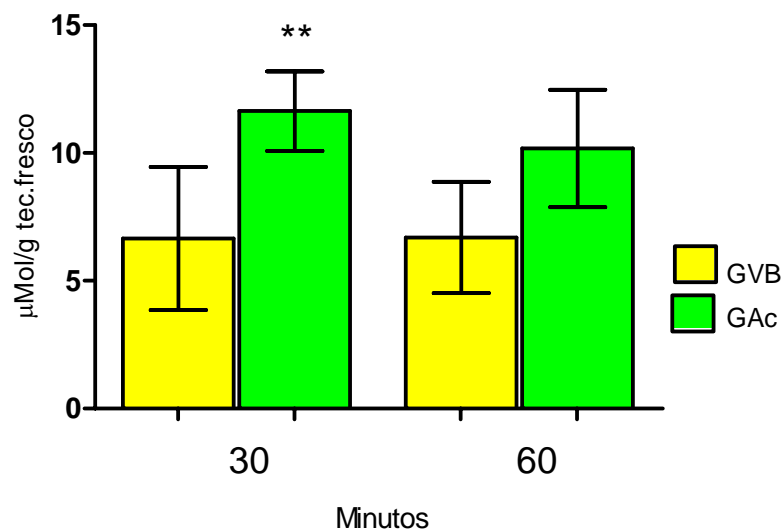


FIGURA 21 - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à acupuntura manual. Teste de ANOVA/Tukey, em 12 ratos (Média±DP). Houve aumento significativo nas concentrações plasmáticas de GSH ($p>0.01$), comparando-se o Grupo Acupuntura (GAc), ao Grupo Valores Basais (GVB) no T-30.

4.2.2.2 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de GSH ($\mu\text{Mol}/\text{ml}$) em ratos submetidos à Eletroacupuntura (10 Hz)

Ocorreram aumentos significantes ($p>0,001$) nas concentrações teciduais (hepáticas) de GSH, comparando-se o Grupo Eletroacupuntura (GEAc 10), ao Grupo Valores Basais (GVB), em ambos os tempos estudados.

TABELA 14 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de GSH ($\mu\text{Mol}/\text{ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
Grupo Valores Basais (GVB)	7,58 \pm 2,15	8,09 \pm 1,93
Grupo Eletroacupuntura 10 Hz (GEAc10)	17,54 \pm 2,44 ***	21,54 \pm 2,71 ***

Teste de ANOVA/Tukey em 12 ratos (Média \pm DP) *** $p>0,001$ comparado ao respectivo controle

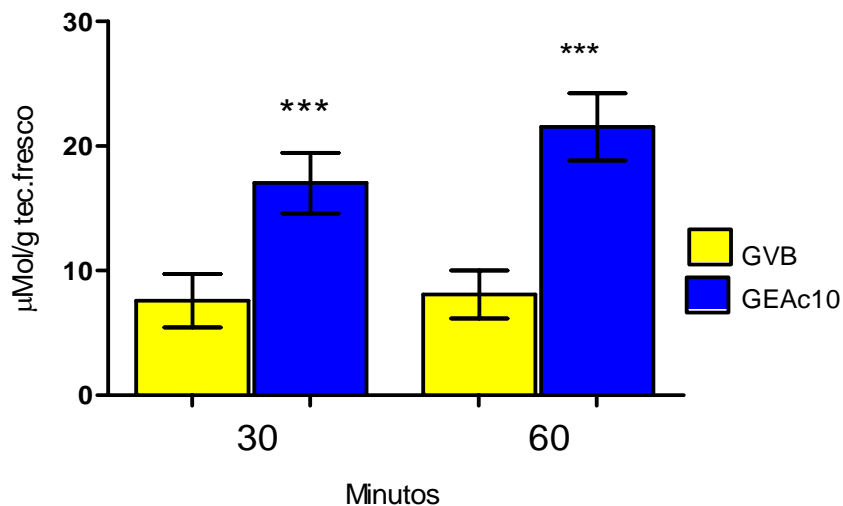


FIGURA 22 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de GSH ($\mu\text{Mol}/\text{ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos). Teste de ANOVA/Tukey em 12 ratos (Média \pm DP). Ocorreram aumentos significantes ($p>0,001$) nas concentrações teciduais (hepáticas) de GSH, comparando-se o Grupo EletroAcupuntura (GEAc 10) ao Grupo Valores Basais (GVB), em ambos os tempos estudados. *** $p>0,001$ comparado ao respectivo controle.

4.2.2.3 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de GSH ($\mu\text{Mol/ml}$) em ratos submetidos à Eletroacupuntura (100 Hz)

Ocorreram aumentos significantes ($p>0,001$) nas concentrações teciduais (hepáticas) de GSH, comparando-se o Grupo Eletroacupuntura (GEAc 100), ao Grupo Valores Basais (GVB), em ambos os tempos estudados.

TABELA 15 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de GSH ($\mu\text{Mol/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
Grupo Valores Basais (GVB)	7,58 \pm 2,15	8,09 \pm 1,93
Grupo Eletroacupuntura 100 Hz (GEAc10)	24,15 \pm 3,80 ***	26,76 \pm 2,52 ***

Teste de ANOVA/Tukey em 12 ratos (Média \pm DP)*** $p>0,001$ comparado ao respectivo controle

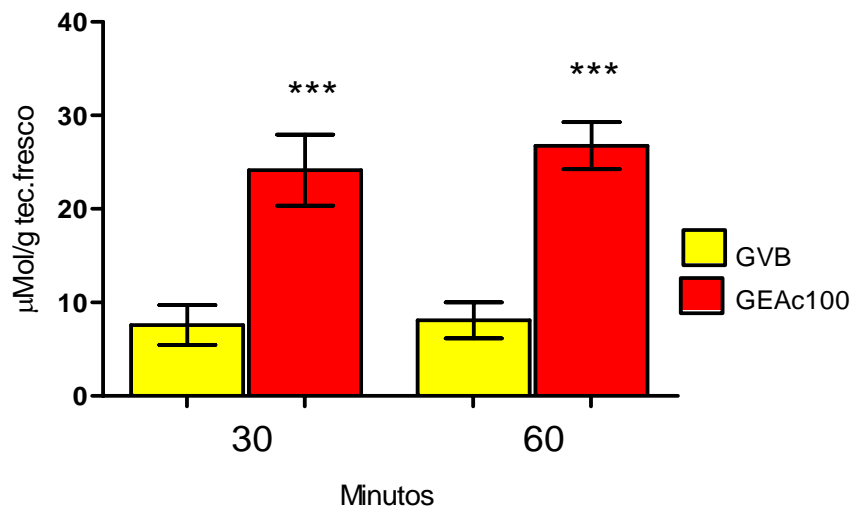


FIGURA 23 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de GSH ($\mu\text{Mol/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos). Teste de ANOVA/Tukey em 12 ratos (Média \pm DP). Ocorreram aumentos significantes ($p>0,001$) nas concentrações teciduais (hepáticas) de GSH, comparando-se o Grupo EletroAcupuntura (GEAc 100), ao Grupo Valores Basais (GVB), em ambos os tempos estudados.

4.2.3 No rim

4.2.3.1 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais (renais) de GSH em ratos submetidos à Acupuntura manual

Ocorreu aumento significativo ($p > 0,01$) nas concentrações renais de GSH, comparando-se o Grupo Acupuntura (GAc), ao Grupo Valores Basais (GVB) no T-30.

TABELA 16 - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais de GSH ($\mu\text{Mol}/\text{ml}$) no rim de ratos submetidos à acupuntura manual.

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
Grupo Valores Basais (GVB)	6,66 \pm 2,80	6,69 \pm 2,17
Grupo Acupuntura (GAc)	11,64 \pm 1,55 **	10,18 \pm 2,29

Teste de ANOVA/Tukey 12 ratos (Média \pm DP)

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

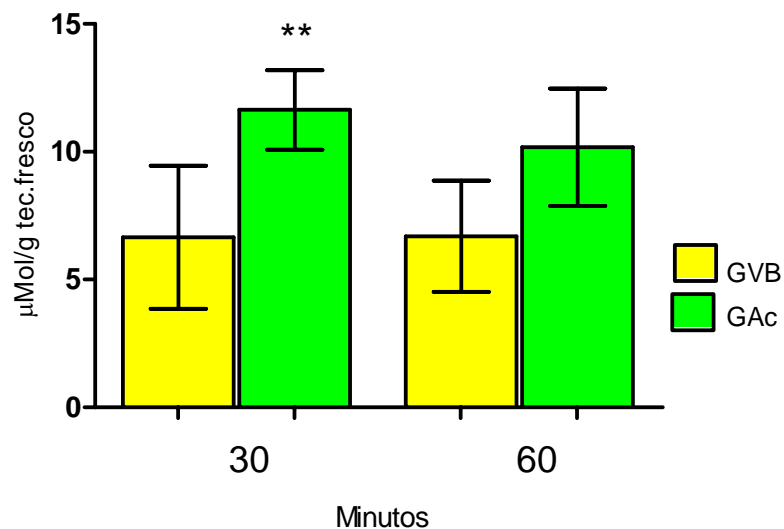


FIGURA 24 - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais de GSH ($\mu\text{Mol}/\text{ml}$) no rim de ratos submetidos à acupuntura manual. Teste de ANOVA/Tukey 12 ratos (Média \pm DP). Ocorreu aumento significativo ($p > 0,01$) nas concentrações renais de GSH, comparando-se o Grupo Acupuntura (GAc), ao Grupo Valores Basais (GVB) no T-30. ** $p < 0,01$ comparado ao respectivo controle.

4.2,3.2 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais (renais) de GSH em ratos submetidos à Eletroacupuntura (10 Hz)

Ocorreu aumento significativo ($p > 0,01$) nas concentrações renais de GSH, comparando-se o Grupo Eletroacupuntura 10 (GEAc_10), ao Grupo Valores Basais (GVB) no T-30 e no T-60.

TABELA 17 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (renais) de GSH ($\mu\text{Mol/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
Grupo Valores Basais (GVB)	6,66 \pm 2,80	6,69 \pm 2,17
Grupo Eletroacupuntura 10 Hz (GEAc10)	13,52 \pm 2,48***	15,07 \pm 2,73***

Teste de ANOVA/Tukey 12 ratos (Média \pm DP)

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

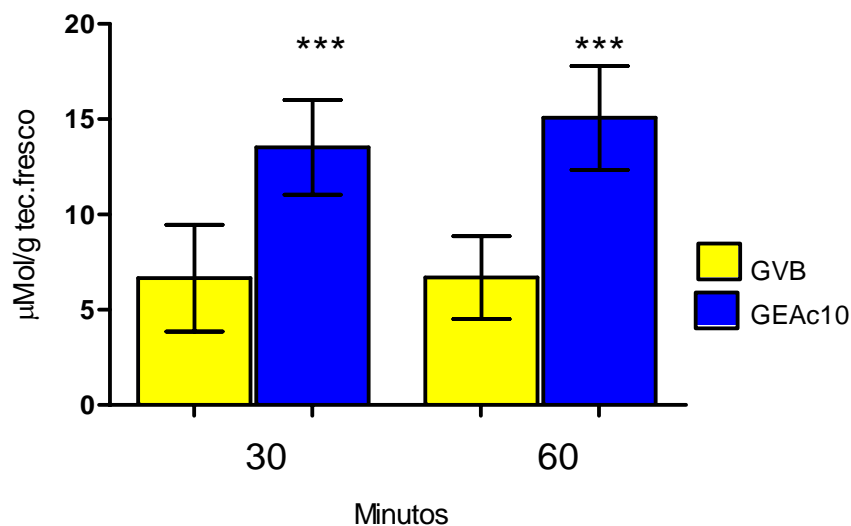


FIGURA 25 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (renais) de GSH ($\mu\text{Mol/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos). Teste de ANOVA/Tukey 12 ratos (Média \pm DP). Ocorreu aumento significativo ($p > 0,01$) nas concentrações renais de GSH, comparando-se o Grupo Eletroacupuntura 10 (GEAc_10), ao Grupo Valores Basais (GVB) no T-30 e no T-60. *** $p < 0,001$ comparado ao respectivo controle.

4.2.3.3 Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais (renais) de GSH em ratos submetidos à Eletroacupuntura (100 Hz)

Ocorreram aumentos significantes ($p > 0,001$) nas concentrações teciduais (renais) de GSH, comparando-se o Grupo Eletroacupuntura (GEAc 100), ao Grupo Valores Basais (GVB), em ambos os tempos estudados.

TABELA 18 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (renais) de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)

GRUPOS	Minutos decorridos	
	30	60
Grupo Valores Basais (GVB)	6,66 \pm 2,80	6,69 \pm 2,17
Grupo Eletroacupuntura 100 Hz (GEAc10)	18.82 \pm 3,01***	23,42 \pm 2,13***

Teste de ANOVA/Tukey 12 ratos (Média \pm DP)

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

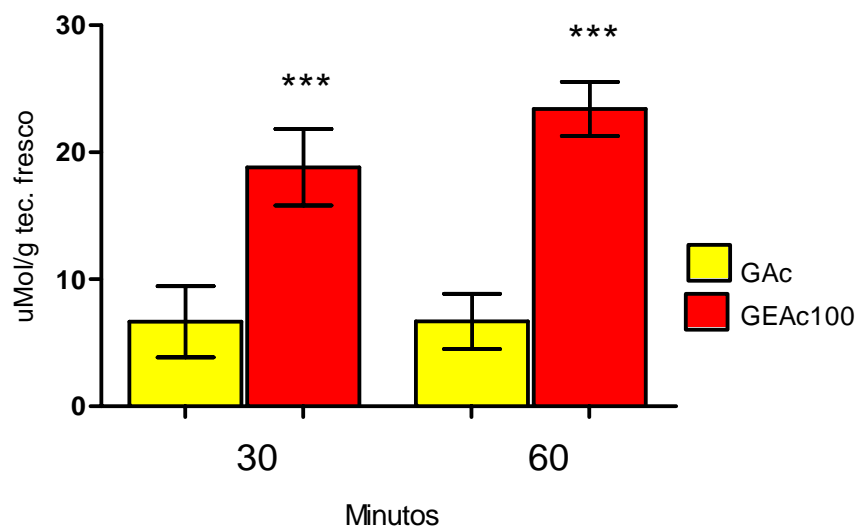


FIGURA 26 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (renais) de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos). Teste de ANOVA/Tukey 12 ratos (Média \pm DP). Ocorreram aumentos significantes nas concentrações teciduais (renais) de GSH, comparando-se o Grupo Eletroacupuntura (GEAc 100), ao Grupo Valores Basais (GVB), em ambos os tempos estudados. *** $p < 0,001$ comparado ao respectivo controle.

4.3 Concentrações de TBARS, comparando os grupos GAc, GEAc10 e GEAc100 ao GVB

4.3.1. Após 30 minutos

Houve aumento significativo das concentrações de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no plasma (GEAc100) (Figura 27), no fígado (GEAc10 e GEAc100) (Figura 28) e no rim (GEAc10 e GEAc100)(Figura 29) comparados aos valores basais (GVB), 30 minutos (T-30) após o início do estudo.

TABELA 19 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no plasma, fígado e rim, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30)

Grupos	Plasma	Fígado	Rim
GVB	0,02 \pm 0,02	0,06 \pm 0,02	0,05 \pm 0,01
GAc	0,03 \pm 0,04	0,08 \pm 0,09	0,08 \pm 0,03
GEAc10	0,07 \pm 0,02	0,12 \pm 0,06 *	0,10 \pm 0,04 *
GEAc100	0,010 \pm 0,06 **	0,14 \pm 0,04 ***	0,14 \pm 0,04 ***

Teste de Dunnett

Plasma: ** $p > 0,01$ comparado ao GVB

Fígado: * $p > 0,05$ comparado ao GVB

Rim: * $p > 0,05$ comparado ao GVB

*** $p > 0,001$ comparado ao GVB

*** $p > 0,001$ comparado ao GVB

4.3.1.1 – No plasma

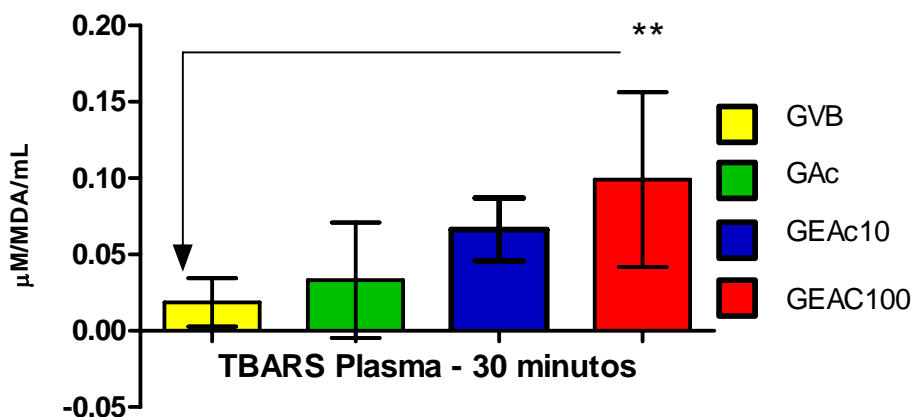


FIGURA 27 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no plasma, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30). **Teste de Dunnett.** Houve aumento significativo das concentrações de TBARS plasmático, aos 30 minutos, no grupo GEAC100 ($p > 0,01$) comparado ao grupo controle (GVB)

** $p > 0,01$ comparado ao GVB

4.3.1.2 – No fígado

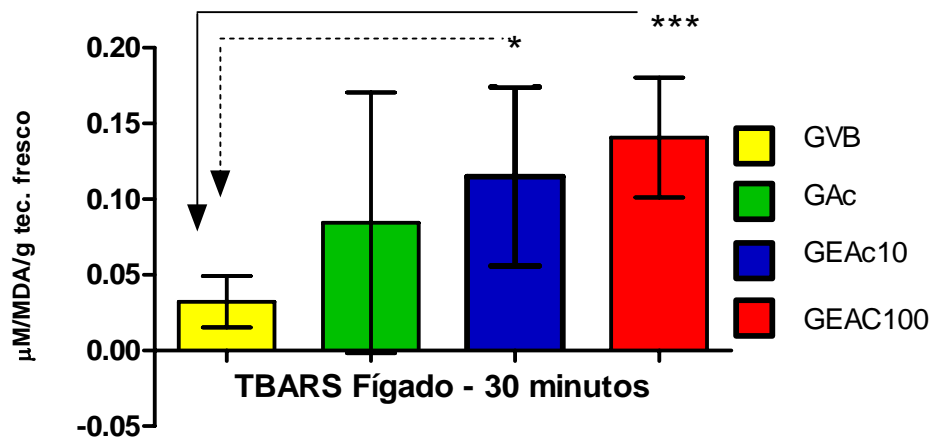


FIGURA 28 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no fígado, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30). **Teste de Dunnett.** Houve aumento significativo das concentrações de TBARS no tecido hepático, aos 30 minutos, nos grupos GEAc10 ($p>0,05$) e GEAC100 ($p>0,001$) comparados ao grupo controle (GVB)

* $p>0,05$ comparado ao GVB

*** $p>0,001$ comparado ao GVB

4.3.1.3 – No rim

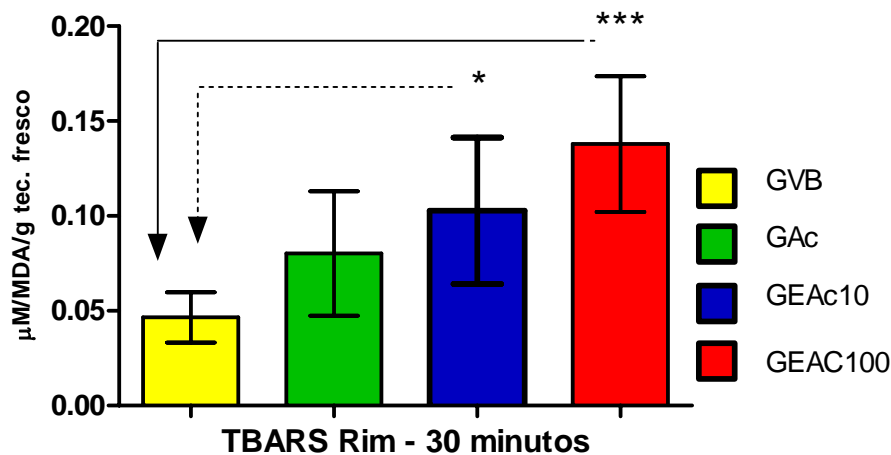


FIGURA 29 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no rim, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30). **Teste de Dunnett.** Houve aumento significativo das concentrações de GSH no tecido renal, aos 30 minutos, nos grupos GEAc10 ($p>0,05$) e GEAC100 ($p>0,001$) comparados ao grupo controle (GVB)

** $p>0,05$ comparado ao GVB

*** $p>0,001$ comparado ao GVB

4.3.2. Após 60 minutos

Houve aumento significativo das concentrações de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no plasma (GEAc100) (Figura 30), no fígado (GEAc10 e GEAc100) (Figura 31) e no rim (GAc, GEAc10 e GEAc100) (Figura 32) comparados aos valores basais (GVB), 60 minutos (T-60) após o início do estudo.

TABELA 20 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no plasma, fígado e rim, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60)

Grupos	Plasma	Fígado	Rim
GVB	0,02±0,02	0,03±0,03	0,03±0,01
GAc	0,04±0,03	0,08±0,06	0,07±0,02 *
GEAc10	0,07±0,02	0,13± 0,03 **	0,11±0,03 **
GEAc100	0,10±0,06 **	0,15±0,04 ***	0,15±0,02 ***

Teste de Dunnett

Plasma: ** $p > 0,01$ comparado ao GVB

Fígado: * $p > 0,01$ comparado ao GVB

*** $p > 0,001$ comparado ao GVB

Rim: * $p > 0,05$ comparado ao GVB

** $p > 0,01$ comparado ao GVB.

*** $p > 0,001$ comparado ao GVB

4.3.2.1 – No plasma

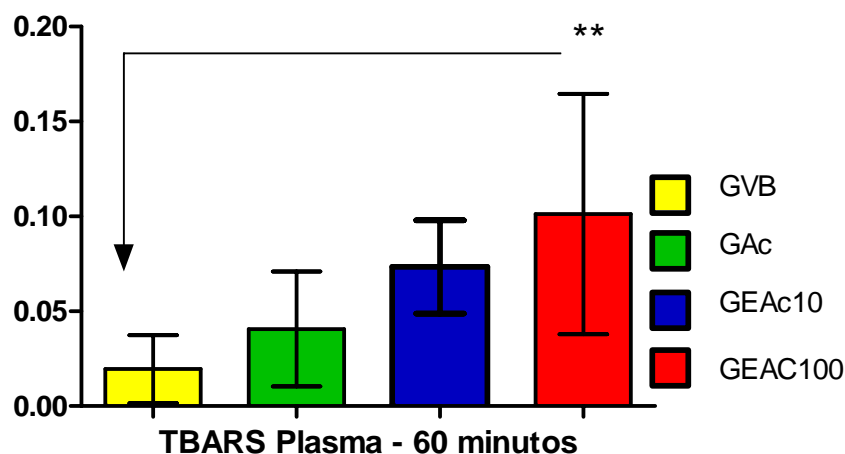


FIGURA 30 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no plasma em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60). **Teste de Dunnett. Houve aumento significativo das concentrações de TBARS plasmático, aos 60 minutos, no grupo GEAc100 ($p > 0,01$) comparados ao grupo controle (GVB).**

** $p > 0,01$ comparado ao GVB

4.3.2.2 – No fígado

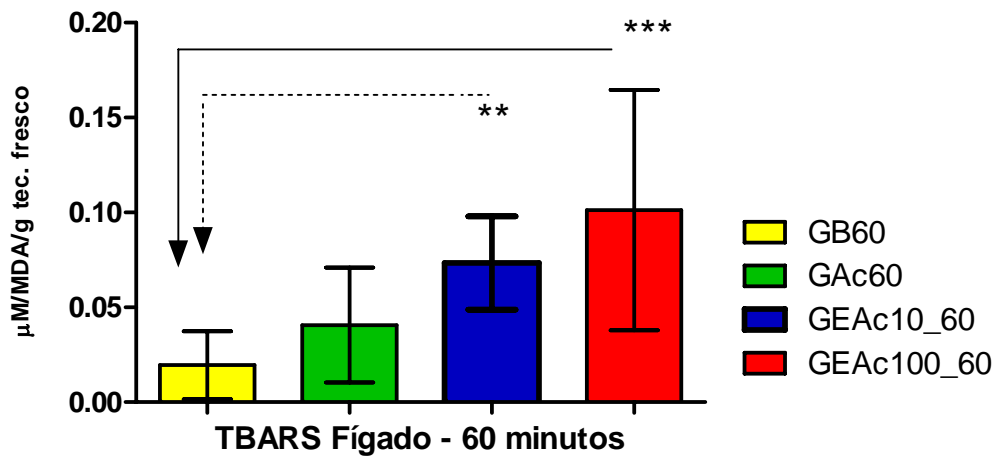


FIGURA 31 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no fígado em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60). **Teste de Dunnett.** Houve aumento significativo das concentrações de TBARS no tecido hepático, aos 60 minutos, nos GEAc10 ($p>0,01$), e GEAC100 ($p>0,001$) comparados ao grupo controle (GVB)

** $p>0,01$ comparado ao GVB

*** $p>0,001$ comparado ao GVB

4.3.2.3 – No rim

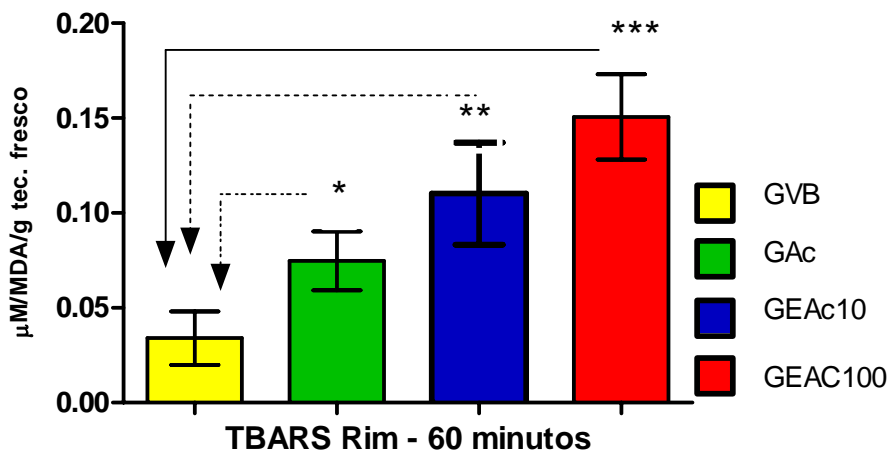


FIGURA 32 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no rim em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60). **Teste de Dunnett.** Houve aumento significativo das concentrações de GSH no tecido renal, aos 60 minutos nos grupos GAc ($p>0,05$), GEAc10 ($p>0,01$) e GEAC100 ($p>0,001$) comparados ao grupo controle (GVB)

* $p>0,05$ comparado ao GVB

** $p>0,001$ comparado ao GVB

*** $p>0,001$ comparado ao GVB

4.4 Concentrações de GSH, comparando os grupos GAc, GEAc10 e GEAc100 ao GVB

4.4.1. Após 30 minutos

Houve aumento significativo das concentrações de GSH ($\mu\text{Mol/ml}$) no plasma (GEAc10 e GEAc100) (Figura 33), no fígado (GAc, GEAc10 e GEAc100) (Figura 34) e no rim (GAc, GEAc10 e GEAc100) (Figura 35) comparados aos valores basais (GVB), 30 minutos (T-30) após o início do estudo.

TABELA 21 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de GSH ($\mu\text{Mol/ml}$) no plasma, fígado e rim, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30)

Grupos	Plasma	Fígado	Rim
GVB	6,55±0,47	7,58±2,15	6,66±2,80
GAc	8,44±0,66	13,53±0,80 **	11,64±1,55 **
GEAc10	10,93±1,93 *	17,54±2,44 ***	13,52±2,48 ***
GEAc100	16,03±0,36 ***	24,15±3,80 ***	18,82±3,01 ***

Teste de Dunnett

Plasma: * $p > 0,05$ comparado ao GVB

** $p > 0,001$ comparado ao GVB

Fígado: ** $p > 0,01$ comparado ao GVB

*** $p > 0,001$ comparado ao GVB

Rim: ** $p > 0,01$ comparado ao GVB

*** $p > 0,001$ comparado ao GVB

4.4.1.1 – No plasma

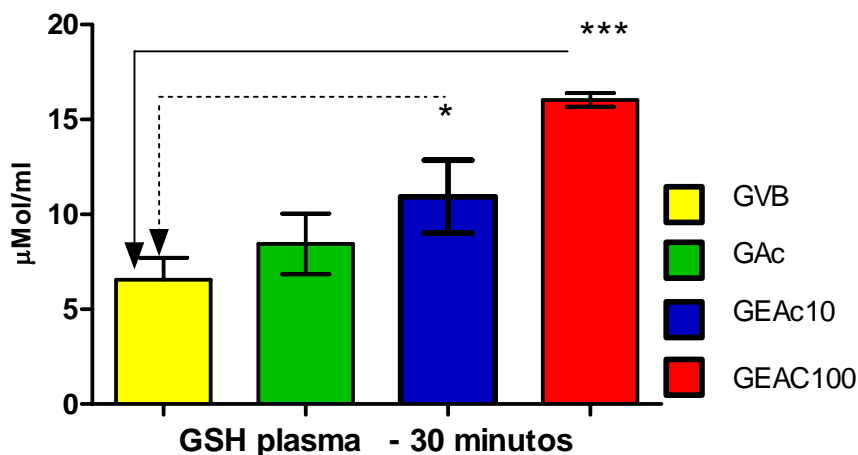


FIGURA 33 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de GSH ($\mu\text{Mol/ml}$) no plasma, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30). **Teste de Dunnett.** Houve aumento significativo das concentrações de GSH plasmático, aos 30 minutos, nos grupos GEAc10 ($p > 0,05$) e GEAc100 ($p > 0,001$) comparados ao grupo controle (GVB)

* $p > 0,05$ comparado ao GVB

*** $p > 0,001$ comparado ao GVB

4.4.1.2 – No fígado

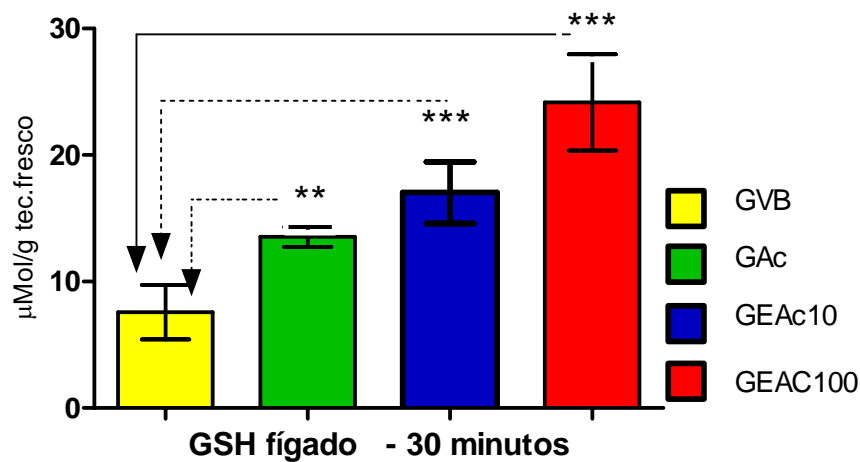


FIGURA 34 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de GSH ($\mu\text{Mol}/\text{ml}$) no fígado, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30). **Teste de Dunnett.** Houve aumento significativo das concentrações de GSH no tecido hepático, aos 30 minutos, nos grupos GAc ($p>0,01$) GEAc10 e GEAC100 ($p>0,001$) comparados ao grupo controle (GVB) ****** $p>0,01$ comparado ao GVB ******* $p>0,001$ comparado ao GVB

4.4.1.3 – No rim

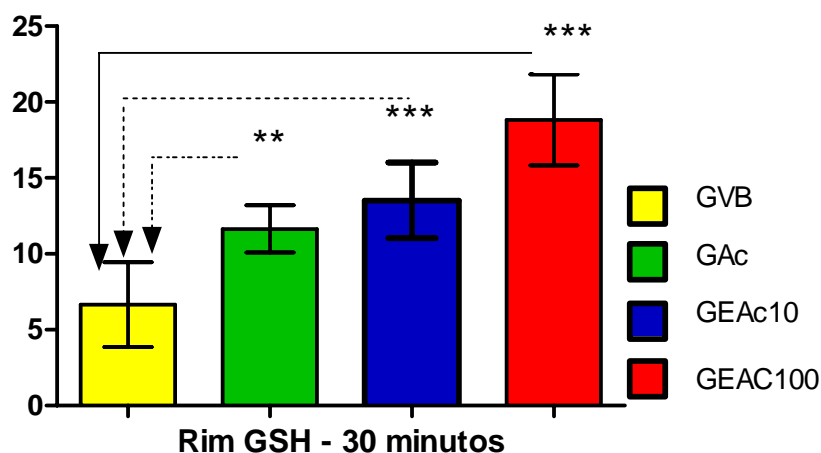


FIGURA 35 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de GSH ($\mu\text{Mol}/\text{ml}$) no rim, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30). **Teste de Dunnett.** Houve aumento significativo das concentrações de GSH no tecido renal, aos 30 minutos, nos grupos GAc ($p>0,01$) GEAc10 e GEAC100 ($p>0,001$) comparados ao grupo controle (GVB)

4.4.2 Após 60 minutos

Houve aumento significativo das concentrações de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) no plasma (Figura 36), fígado (Figura 37) e rins (Figura 38) em todos os grupos estudados (GAc, GEAc10 e GEAC100), comparados ao grupo controle basal (GVB) 60 minutos (T-60) após o início do estudo.

TABELA 22 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) no plasma, fígado e rim, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60)

Grupos	Plasma	Fígado	Rim
GVB	5,90±0,38	8,09±1,93	6,69±2,17
GAc	9,84±0,56 ***	14,00±1,54 ***	10,18±2,29 *
GEAc10	13,37±1,87 ***	21,54±2,71 ***	15,07±2,73 ***
GEAc100	18,73±0,65 ***	26,76±2,52 ***	23,42±2,13 ***

Teste de Dunnett

Plasma: *** $p > 0,01$ comparado ao GVB

Fígado: *** $p > 0,001$ comparado ao GVB

Rim: * $p > 0,05$ comparado ao GVB

*** $p > 0,001$ comparado ao

GVB

4.4.2.1 – No plasma

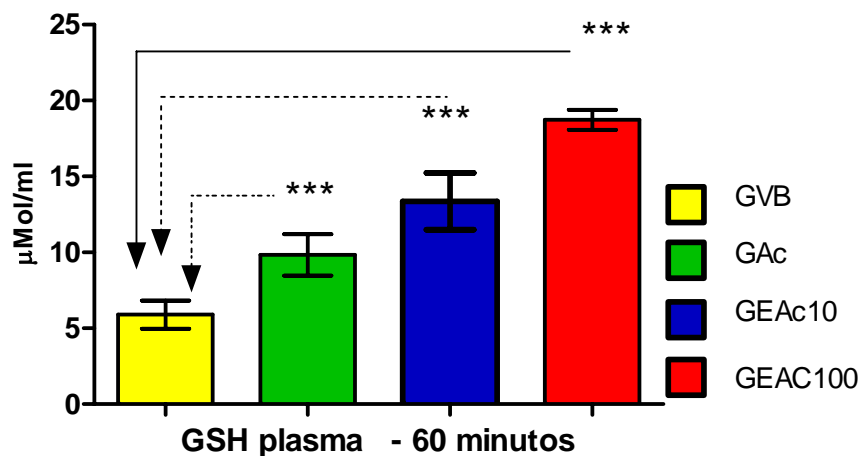


FIGURA 36 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) no plasma, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60). **Teste de Dunnett.** Houve aumento significativo das concentrações de GSH plasmático, aos 60 minutos, nos grupos GAc, GEAc10, e GEAC100 ($p > 0,001$) comparados ao grupo controle (GVB)

*** $p > 0,001$ comparado ao GVB.

4.4.2.2 – No fígado

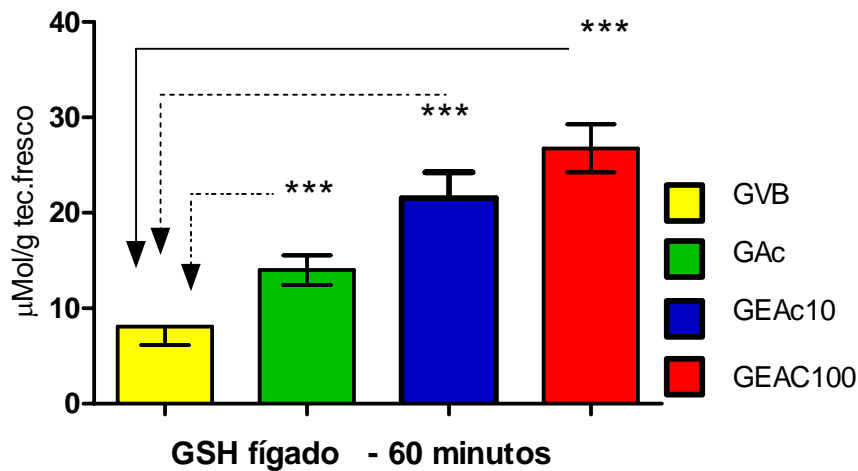


FIGURA 37 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de GSH ($\mu\text{Mol/ml}$) no fígado, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60). **Teste de Dunnett.** Houve aumento significativo das concentrações de GSH no tecido hepático, aos 60 minutos, nos grupos GAc, GEAc10, e GEAC100 ($p > 0,001$) comparados ao grupo controle (GVB)
*** $p > 0,001$ comparado ao GVB

4.4.2.3 – No rim

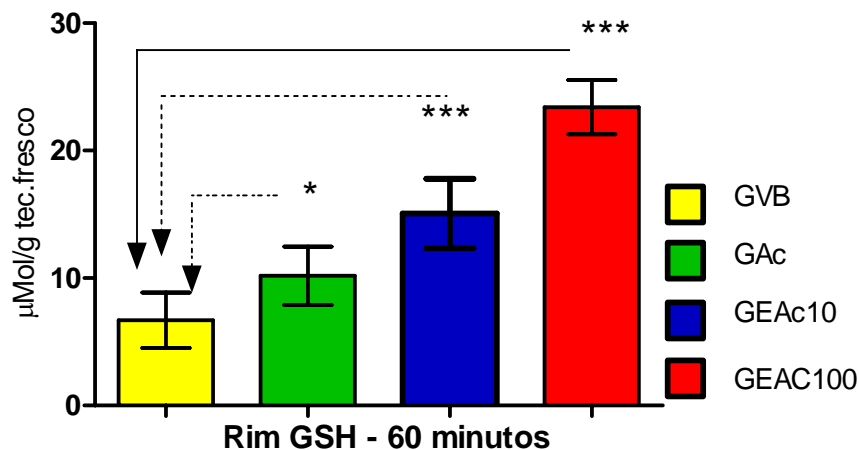


FIGURA 38 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de GSH ($\mu\text{Mol/ml}$) no fígado, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60). **Teste de Dunnett.** Houve aumento significativo das concentrações de GSH no tecido renal, aos 60 minutos, nos grupos GAc ($p > 0,05$), GEAc10 e GEAC100 ($p > 0,001$) comparados ao grupo controle (GVB).
* $p > 0,05$ comparado ao GVB *** $p > 0,001$ comparado ao GVB

6 CONCLUSÃO

A acupuntura promove aumento significativo da peroxidação lipídica no fígado e no rim, em ratos saudáveis.

A eletroacupuntura promove aumento significativo da peroxidação lipídica no plasma, rim e fígado, em ratos saudáveis.

A acupuntura e a eletroacupuntura exercem efeito protetor sobre o estresse oxidativo em ratos saudáveis.

7 REFERENCIAS

AKGÜR, F. M.; KILINC, K.; AKTUG, T. Reperfusion injury following testicular torsion and detorsion in prepuberal rats. **Urol. Res.**, v. 21, n. 6, p. 389-393, 1993.

ALTMAN, S. Acupuncture therapy in small animal practice. **Compend Contin Educ Pract Vet.**, v. 19, n. 11, p. 1238-44, 1997.

BENSOUSSAN, A. **The Vital Meridian – A Modern Exploration of Acupuncture**. London: Churchill Livingstone, 1991.

BONNES, T.; GUÉRIN, T. Is malonaldeyde a valuable of peroxidation? **Biochem. Pharmacol.**, v.44, n.5, p.985-988, 1992.

BONICA, J.J. **Anatomic and physiologic basis of nocicepcion and pain**. In: The management of pain. 2nd ed, Philadelphia, Lea & Febiger; p.28-45, 1990.

BOSSUT DF, LESHIN LS, STROMBERG MW, MALVEN PV: Plasma cortisol and beta-endorphin in horses subjected to electro-acupuncture for cutaneous analgesia. **Peptides**, v.4,n.4, p.501-507,.1983

CHEN, X.H.; HAN, J.S. All three types of opioid receptors in the spinal cord are important for 2/15 Hz electroacupuncture analgesia. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 211, n. 2, p.203-10, 1992.

CHIRICO, S. **High Performance Liquid Cromatography-based Thiobarbituric acid tests**. *Methods in Enzimology*, v.233, p.314-318, 1994.

CHONGHUO, T. **Tratado de Medicina Chinesa**. Ed. Roca, São Paulo, 692 p., 1993.

COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S.L. **Lesão e morte celular**. In: ROBBINS: Patologia estrutural e funcional. 5.^{ed.}, Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, p.1-30,1996.

CHANG, S-L.; LIN, K-J.; LIN. R-T.; HUNG, P-H.; LIN. J-G.; CHENG, J-T. Enhanced insulin sensitivity using electroacupuncture on bilateral Zusanli acupoints (ST 36) in rats. **Life Sci.**, v.79, p. 967-71, 2006.

CHIRICO, S. High Performance Liquid Cromatography-based Thiobarbituric acid tests. **Methods in Enzimology**, v.233, p.314-18, 1994.

COSTA, L.A.; ARAUJO, J.E. The immediate effects of local and adjacent acupuncture in the tibialis anterior muscle: a human study. **Chinese Med.**, v.3, p.1–6, 2008.

DAI, M.; MA, X-P.; SHI, Z.; WU, H-G.; ZHAO, T-P.; JIANG, G-N. Effect of Acupuncture on Serum SOD and MDA of Rats in Menopause. **J. Acupunct. Tuina. Sci.**, v.6, n.79-82, 2008.

DAI, M; MA X-P; SHI, Z.; WU, H-G.; ZHAO, T-P.; JIANG G-N. Effect of Acupuncture on Serum SOD and MDA of Rats in Menopause. **J. Acupunct. Tuina. Sci.**, v.6, p.79-82, 2006.

DE LIMA SILVA JJ, GUIMARÃES SB, DA SILVEIRA ER, DE VASCONCELOS PR, LIMA GG, TORRES SM, DE VASCONCELOS RC. Effects of *Copaifera langsdorffii* Desf. on ischemia-reperfusion of randomized skin flaps in rats. **Aesthetic Plast Surg.**, v. 33, n.1, p.104-9, 2009.

DENEKE, S.M.; FANBURG, B.L. Regulation of cellular glutathione. **Am. J. Physiol.**, v. 257, n. 4 (Pt 1), p. L163-173, 1989.

DRÖGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiol. Rev.**, v. 82, n. 1, p. 47-97, 2002.

DI MEO, S.; VENDITT, P.; De LEO, T. Tissue protection against oxidative stress. **Experientia**, v. 52, n. 8, p.786-794, 1996.

DU, L.N.: JIANG, J.W.: WU, G.C.: CAO, X.D. Naloxone and electroacupuncture (EA) improve the immune function of traumatized rats. **Sheng Li Xue Bao**; v.50, 636-42, 1998.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev. Ass. Med. Brasil.**, 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

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

FLOYD, R.A. Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia. **FASEB J.**, v. 4, n.2, p.587-597, 1990.

GALLEANO, M. PUNTARULO, S. Role of antioxidants on the erythrocyte resistance to lipid peroxidation after acute iron overload in rats. **Biochem. Biophys. Acta**, v. 1271, n. 2-3, p. 321-326, 1995.

GELLMAN, H. Acupuncture physical medicine. In: **Acupuncture Treatment for Musculoskeletal Pain**. Boston, USA: Taylor e Francis, p.162-80, 2002.

GHISELLI, A.; SERAFINI, M.; NATELLA, F.; SCACCINI, C. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 29, n. 11, p.1106-1114, 2000.

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

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

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. **Free Rad. Biol. Med.**, v. 18, n. 1, p. 125-126, 1995.

HAN, J. S. Physiologic and neurochemical basis of acupuncture analgesia. In: Research on acupuncture, moxibustion, and acupuncture anesthesia. **Xiantong Z, Beijing, Science Press; p.589-97, 1986.**

HAN, J. S.; TERENIUS, L. Neurochemical basis of acupuncture analgesia. In: The neurochemical basis of pain relief by acupuncture. **Beijing, Beijing Medical University. p.525-52, 1987.**

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

HUANG, C-L.; TSAI, P-S.; WANG, T-Y.; YAN, L-P.; XU, H-Z.; HUANG, C-J. Acupuncture Stimulation of ST36 (Zusanli) Attenuates Acute Renal but Not Hepatic Injury in Lipopolysaccharide-Stimulated Rats. **Anesth Analg.**, v.104, p.646 -54, 2007.

IWA M, MATSUSHIMA M, NAKADE Y, PAPPAS TN, FUJIMIYA M, Takahashi T. Electroacupuncture at ST-36 accelerates colonic motility and transit in freely moving conscious rats. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.**, v.290, n.2, p.285-92, 2006.

JAGGAR, D. History and basic introduction to veterinary acupuncture. **Problems in Vet. Med.**, v.4, n.1, p.13-15, 1992.

KANDEL, E.R.; SCHWARTZ, J.H. JESSELL, T.M. **Principles of Neural Science**, 4. ed., United States of America, McGrawHill Medicine, 2000. 1414 p. KENDALL, D.E. A scientific model for acupuncture. Part I. **Am J Acupunct.**, v.17, n.3, p.251-268, 1989.

KOO, S.T.; PARK, Y.I.; LIM, K.S.; CHUNG, K.; CHUNG, J.M. Acupuncture analgesia in a new rat model of ankle sprain pain. **Pain**, v.99, n.3, p.423-3, 2002.

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

LEE SC, YIN SJ, LEE ML, TSAI WJ, SIM CB: Effects of acupuncture on serum cortisol level and dopamine beta-hydroxylase activity in normal Chinese. **Amer. J. Chinese Med.**, 10(1-4):62-69, 1982.

LIANG, Y.; WANG, L.; XIAO, C.; WADABEI; GUO, Y. Influence of Electroacupuncture at Acupoints Zusanli (ST 36) and Taichong (LR 3) with Different Frequencies on Rats Swimming Endurance. **J. Acupunct. Tuina. Sci.**, v. 4, n. 5, p. 261-3, 2006.

LIAO YY, SETO K, SAITO H, FUJITA M, KAWAKAMI M: Effect of acupuncture on adrenocortical hormone production: I. Variation in the ability for adrenocortical hormone production in relation to the duration of acupuncture stimulation. **Amer. J. Chinese Med.**, 7(4):362-371,1979.

LIN, J.G.; CHEN, W.C.; HSIEH, C.L.; TSAI, C.C.; CHENG, Y.W.; CHENG, J.T.; CHANG, S.L. Multiple sources of endogenous opioid peptide involved in the hypoglycemic response to 15 Hz electroacupuncture at the Zhongwan acupoint in rats. **Neurosci. Lett.** 366 (1), 39–42 , 2004.

LIU, P.T.; KENTISH, P. A.; SYMONS, A.M.; PARKE, D.V. The effects of ether anaesthesia on oxidative stress in rats - dose response. **Toxicology**, v. 80, p. 37-49, 1993.

LIU, C-Z.; YU, J-C.; ZHANG, X-Z.; FUB, W-W.; WANG, T.; HANA, J-X. Acupuncture prevents cognitive deficits and oxidative stress in cerebral multi-infarction rats. **Neurosci. Lett.**, v. 393, p.45-50, 2006.

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

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

LLESUY, S.F. **Introducción y Espécies Activas de Oxigênio**. In: MARRONI, N. P. (org.). Estresse Oxidativo e Antioxidantes. Canoas: Ed. ULBRA, p. 21-32, 2002.

LUNDEBERG, T. Peripheral effects of sensory nerve stimulation (acupuncture) in inflammation and ischemia. **Scand J Rehabil Med Suppl.** v. 29, p.61-86, 1993.

MACHADO, A.B.M. **Neuroanatomia Funcional**. 2ª. ed., São Paulo, Ed. Atheneu, 2005.

MACIOCIA, G. **Os fundamentos da Medicina Chinesa**: um texto abrangente para acupunturistas e fitoterapeutas. São Paulo: Ed. Roca, p.651,1996.

MAYER, D.J. Biological mechanisms of acupuncture. **Prog Brain Res.**, v.122, p.457-77, 2000.

MALIZIA E, ANDREUCCI G, PAOLUCCI D, CRESCENZI F, FABBRI A, FRAIOLI F: Electroacupuncture and peripheral beta-endorphin and ACTH levels. **Lancet**, v.2 n.8141, p. 535-36, 1979.

MOTTA, L.A.C.R. DA; MOTTA, L.D.C. DA; PIVA, F. Peptídeos opióides endógenos **RBM rev. bras. Med.**, v.43, n.8, p.215-8, 1986.

PAN B, CASTRO-LOPES JM, COIMBRA A: Activation of anterior lobe corticotrophs by electroacupuncture or noxious stimulation in the anaesthetized

rat, as shown by colocalization of Fos protein with ACTH and beta-endorphin and increased hormone release. **Brain Res. Bull.**, v.40, n.3, p.175-82, 1996.

PAVLOV, V.A.; TRACEY, K.J. The cholinergic anti-inflammatory pathway. **Brain Behav Immun.**, v.19, p.493–9, 2005.

SCHOEN, A.M. **Introduction to veterinary acupuncture: scientific basis and clinical applications.** In: ANNUAL CONVENTION OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF EQUINE PRACTICIONERS. Proceedings San Diego: AAEP., p.39, 1993.

SCOGNAMILLO-SZABO, M,V,; BECHARA, G.H.: FERREIRA S.H. CUNHA, F,Q. Effect of various acupuncture treatment protocols upon sepsis in Wistar rats. **Ann N Y Acad Sci.**, v1026, p. 251– 6, 2004.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R.H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Anal. Biochem.**, v. 25, p. 192-205, 1968.

SIU F.K.; LO, S.C.; LEUNG, M.C. Electroacupuncture potentiates the disulphide-reducing activities of thioredoxin system by increasing thioredoxin expression in ischemia-reperfused rat brains. **Life Sci.**, v.77, n.4, p.386-99, 2005.

SMITH, F. W. K. Neurophysiologic basis of acupuncture. **Probl Vet Med.**, v.4, p. 34-52, 1992.

SUN, A.Y.; BONE, Y. F.; LEE, D.Z Electroacupuncture alters catecholamines in brain regions of rats. **Neurochem Res.**, v.10, n.2, p. 251-8, 1985.

TAKESHIGE, C. Differentiation between acupuncture and non-acupuncture points by association with analgesia inhibitory system. **Acupunct Electrother Res.**,v.10, n.3, p.195-202, 1985.

TIAN, L.; HUANG, Y.X.; TIAN, M.; GAO, W.; CHANG,. Downregulation of electroacupuncture at ST36 on TNF-alpha in rats with ulcerative colitis. **World J Gastroenterol.**, v.9, p.1028 –33, 2003.

UCHIYAMA, M.; MIHARA, M. Determination of malondialdehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. **Anal. Biochem.** v. 86, n. 1, p. 271-278, 1978.

VAN JAARSVELD, H.; KUYL, J. M., DE WET; E. H., ALBERTS, D. W.; VAN DER WESTHUIZEN, F. D. Effect of various mixtures of diethylether, halothane, nitrous oxide and oxygen on low molecular weight iron content and mitochondrial function of the rat myocardium. **Free Rad. Res. Commun.** v.15, n.3, p.151-57, 1991.

YAMAMURA, Y. **Acupuntura tradicional: A arte de inserir.** 2ª Ed. Ed. Roca, São Paulo, p. 919, 1993.

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

ZHAO, C.H.; STILLMAN, M.J.; ROZEN, T.D.. Acupuntura tradicional baseada em evidências para controle da cefaléia: teoria, mecanismos e prática. **Headache.**; v.45, p. 716-30, 2005.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1-** Rato anestesiado sendo submetido à acupuntura, aplicada aos pontos E 36 e RM 12.....61
- FIGURA 2-** Rato anestesiado sendo submetido à eletroacupuntura aplicada aos pontos E36 e RM 12.....61
- FIGURA 3-** Coleta de sangue arterial – punção da aorta abdominal.....61
- FIGURA 4-** Coleta de amostra do fígado.....61
- FIGURA 5-** Coleta de amostra do Rim.....62
- FIGURA 6-** Aparelho EL-608 (NKL) usado nas sessões de acupuntura.....62
- FIGURA 7-** Distribuição dos grupos e subgrupos, denominados de acordo Com o tipo de intervenção e o tempo de coleta das amostras.....13
- FIGURA 8-** Desenho do experimento: grupos e linha do tempo..... 14
- FIGURA 9-** Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações plasmáticas de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à acupuntura manual.....21
- FIGURA10-**Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações plasmáticas de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos).....22
- FIGURA11-**Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações plasmáticas de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos).....23
- FIGURA12-**Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no fígado de ratos submetidos à acupuntura manual.....24
- FIGURA13-**Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos).....25
- FIGURA14-**Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)...26
- FIGURA15-**Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no rim de ratos submetidos à acupuntura manual.....27

FIGURA 16 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (renais) de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos).....	28
FIGURA 17 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (renais) de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos).....	29
FIGURA 18 - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações plasmáticas de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à acupuntura manual.....	30
FIGURA 19 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações plasmáticas de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos).....	31
FIGURA 20 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações plasmáticas de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100 Hz).....	32
FIGURA 21 - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à acupuntura manual.....	33
FIGURA 22 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos).....	34
FIGURA 23 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos).....	35
FIGURA 24 - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) no rim de ratos submetidos à acupuntura manual.....	36
FIGURA 25 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (renais) de GSH ($\mu\text{Mol/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz,30 minutos).....	37

FIGURA 26- Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (renais) de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos).....	38
FIGURA 27 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no plasma, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30).....	39
FIGURA 28 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no fígado, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30).....	40
FIGURA 29 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no rim, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30).....	40
FIGURA 30 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no plasma em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60).....	41
FIGURA 31 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no fígado em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60).....	42
FIGURA 32 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no rim em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60).....	42
FIGURA 33 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) no plasma, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30).....	43
FIGURA 34 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) no fígado, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30).....	44
FIGURA 35 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) no rim, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30).....	44

- FIGURA 36** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) no plasma, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60).....45
- FIGURA 37** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) no fígado, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60).....46
- FIGURA 38** - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) no fígado, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60).....46

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações plasmáticas de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à acupuntura manual	21
TABELA 2 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações plasmáticas de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)	22
TABELA 3 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações plasmáticas de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)	23
TABELA 4 - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no fígado de ratos submetidos à acupuntura manual	24
TABELA 5 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações <i>teciduais (hepáticas)</i> de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)	25
TABELA 6 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)	26
TABELA 7 - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no rim de ratos submetidos à acupuntura manual	27
TABELA 8 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (renais) de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)	28
TABELA 9 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as <i>teciduais (renais)</i> de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos).....	29
TABELA 10 - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações plasmáticas de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à acupuntura manual.....	30
TABELA 11 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações plasmáticas de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos).....	31
TABELA 12 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações plasmáticas de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos).....	32

TABELA 13 - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à acupuntura manual.....	33
TABELA 14 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)	34
TABELA 15 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (hepáticas) de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)	35
TABELA 16 - Efeitos do trauma anestésico e da acupuntura sobre as concentrações teciduais de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) no rim de ratos submetidos à acupuntura manual.....	36
TABELA 17 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (renais) de GSH ($\mu\text{Mol/ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (10 Hz, 30 minutos)	37
TABELA 18 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações teciduais (renais) de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) em ratos submetidos à eletroacupuntura (100Hz, 30 minutos)	38
TABELA 19 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no plasma, fígado e rim, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30)	39
TABELA 20 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de TBARS ($\mu\text{Mol MDA/ml}$) no plasma, fígado e rim, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60)	41
TABELA 21 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) no plasma, fígado e rim, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 30 minutos após o início do estudo (T-30)	43
TABELA 22 - Efeitos do trauma anestésico e da eletroacupuntura sobre as concentrações de GSH ($\mu\text{Mol /ml}$) no plasma, fígado e rim, em ratos submetidos à estimulação manual e a eletroacupuntura (10 Hz e 100 Hz) 60 minutos após o início do estudo (T-60)	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ac - acupuntura

μM – microMol

mM - milimoles

GAc – Grupo Acupuntura

GGEAc10 – Grupo Eletroacupuntura 10 Hz

GGEAc100 – Grupo Eletroacupuntura 100 Hz

GSH – glutationa (forma reduzida)

GVB – Grupo Valores Basais

$\text{H}_2\text{O}\bullet$ – hidroperoxila

H_2O_2 – peróxido de hidrogênio

ip - intraperitoneal

MDA - malondialdeído

nm – nanômetro

$\text{O}_2\text{-}\bullet$ – radical superóxido

$\text{OH}\bullet$ – radical hidroxila

p:v – peso:volume

$\text{R}\bullet$ – radical

RLO – radicais livres de oxigênio

$\text{ROO}\bullet$ – radical peroxila

ROOH – hidroxiperóxido

T-30 – 30 minutos após a indução anestésica/término da sessão de acupuntura ou eletroacupuntura

T-60 – 60 minutos após a indução anestésica/início da sessão de acupuntura ou eletroacupuntura

TBA – ácido tiobarbitúrico

TBARS – substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico .