



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS**

**Marcos Lisboa Neves**

**EFEITO DA ESTIMULAÇÃO DO RAMO AURICULAR DO NERVO VAGO NA  
FIBROMIALGIA: UM ESTUDO TRANSLACIONAL EM RATOS E HUMANOS**

**FLORIANÓPOLIS – SC**

**2023**

**Marcos Lisboa Neves**

**EFEITO DA ESTIMULAÇÃO DO RAMO AURICULAR DO NERVO VAGO NA  
FIBROMIALGIA: UM ESTUDO TRANSLACIONAL EM RATOS E HUMANOS**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação  
em Neurociências da Universidade Federal de  
Santa Catarina para a obtenção do título de Doutor  
em Neurociências

Orientadora: Prof. Dra. Morgana Duarte da Silva

**FLORIANÓPOLIS**

**2023**

Lisboa Neves, Marcos

EFEITO DA ESTIMULAÇÃO DO RAMO AURICULAR DO NERVO VAGO NA FIBROMIALGIA: UM ESTUDO TRANSLACIONAL EM RATOS E HUMANOS / Marcos Lisboa Neves ; orientadora, Morgana Duarte da Silva, 2023.

192 p.

2. Dor crônica. 3. Nervo vago. 4. Fibromialgia. 5. Acupuntura. I. Duarte da Silva, Morgana. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Neurociências. III. Título.

MARCOS LISBOA NEVES

**EFEITO DA ESTIMULAÇÃO DO RAMO AURICULAR DO NERVO VAGO NA  
FIBROMIALGIA: UM ESTUDO TRANSLACIONAL EM RATOS E HUMANOS**

O presente trabalho em nível de Doutorado foi avaliado e aprovado, em 14 de junho de 2023, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Eduardo Luiz Gasnhar Moreira, Dr.  
Instituição CFS/CCB/UFSC

Prof. Lúcio José Botelho, Dr.  
Instituição SPB/CCS/UFSC

Prof. Ari Ojeda Ocampo Moré, Dr.  
Instituição CLM/CCS/UFSC

Prof. Daniel Fernandes Martins, Dr.  
Instituição Universidade do Sul de Santa Catarina – Unisul

Prof<sup>a</sup> Tatiane Regina de Sousa, Dr<sup>a</sup>  
Centro Universitário Estácio de Santa Catarina

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Doutora em Neurociências.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Prof<sup>a</sup> Morgana Duarte da Silva, Dr<sup>a</sup>

## AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a minha orientadora, Prof. Dra. Morgana Duarte da Silva, por ter me acolhido como orientando e por todos os ensinamentos. Desta forma, aproveito para registrar minha admiração por sua dedicação a pesquisa, pelo seu conhecimento, sua paciência e força de vontade em ensinar, estar sempre disponível para colaborar e superar as dificuldades do dia a dia, coordenando um laboratório de pesquisa perante todas as demandas, necessidades, limitações e dificuldades que a ciência enfrenta no cenário acadêmico em nosso país.

Agradeço aos meus colegas de LANDI por todo carinho e parceria durante esse tempo que passamos juntos:

- À Jeane Bachi Ferreira, por toda a dedicação e disposição em me auxiliar nas pesquisas;
- Ao Vinícius Wippel (Vini) pelo auxílio na tabulação dos dados, parceria e dedicação;
- Ao Pedro André Amaral, que ficou responsável pelas avaliações e reavaliações, sempre dedicado e presente;
- Aos ICs, Juliana Bud, João Valentini e Mara Quadri, foram impecáveis em tocar todas as avaliações dos pacientes clínicos;
- À Caroline Ramires e Luiza Getil, foi muito bom ter vocês como colegas e termos convivido nesse período, também sempre dispostos a ajudar nas avaliações;
- À minha colega Scheila Iria Kraus, pesquisadora e profissional dedicada, que ajuda a todos e está sempre disponível para colocar o seu conhecimento e colaboração em prol da ciência. Muito obrigado, colega, você faz a diferença no laboratório.

Agradeço a todos os professores e funcionários do CCB e do programa de Pós-graduação em Neurociências pela amizade, ensinamentos e auxílio.

Agradeço ao Prof. Dr. Guilherme Fleury Fina Speretta, que desde o mestrado me acompanha, me ensina e é um grande parceiro.

Agradeço ao Professor Eduardo Moreira pela disponibilidade de me acompanhar em todas as bancas desde a seleção do mestrado, qualificação do mestrado, defesa do mestrado, seleção do doutorado e nesta defesa de tese.

Seus questionamentos influenciaram diretamente no meu amadurecimento científico.

Aproveito para agradecer a minha banca: Prof. Dr. Ari Moré, Prof. Dr. Daniel Martins, Prof. Dr. Eduardo Moreira; Prof. Dr. Lúcio Botelho e Profa. Dra. Tatiana de Souza. Profissionais que admiro e contribuem para minha formação.

Agradeço ao amigo e colega Prof. Dr. Bernardo Diniz Coutinho por todo incentivo, conversas, trocas de experiências e auxílio na análise dos meus dados. Bernardo, você foi essencial para a minha análise estatística.

Agradeço imensamente a minha esposa Fernanda e minha filha Maria Eduarda, por todo o suporte e apoio, sem elas não seria possível. Sei que para quem acompanha de perto os desafios da carreira acadêmica também é muito difícil. O suporte da família é fundamental no enfrentamento das dificuldades. Obrigado por toda a paciência com minhas ausências.

Agradeço a Deus por colocar na minha vida tantas pessoas especiais que trazem sentido à minha existência.

Agradeço à minha mãe por toda educação, carinho e investimento, você me ajudou a crescer como pessoa, muito obrigado.

Preciso também fazer um agradecimento especial ao meu saudoso orientador Prof. Dr. Adair Roberto Soares dos Santos, meu pai científico. Me orientou e guiou como um pai durante meu mestrado, me incentivou a continuar na pesquisa e fazer a seleção para o doutorado. Mas infelizmente partiu cedo, não sem antes me deixar em boas mãos, para que eu pudesse seguir a minha jornada sob a orientação da professora Morgana.

Por fim, agradeço a CAPES pelo apoio financeiro e a UFSC, instituições que fizeram toda a diferença na minha formação profissional e pessoal. Instituições que fazem a diferença na vida do povo brasileiro e contribuem para um Brasil melhor.

## RESUMO

### **EFEITO DA ESTIMULAÇÃO DO RAMO AURICULAR DO NERVO VAGO NA FIBROMIALGIA: UM ESTUDO TRANSLACIONAL EM RATOS E HUMANOS**

A fibromialgia é uma síndrome caracterizada por dores articulares e musculares generalizadas, podendo ser acompanhada de fadiga, alterações cognitivas, do humor e do sono. Acomete em sua grande maioria mulheres e sua prevalência em média é de 3% da população mundial. De etiologia ainda não definida, algumas evidências recaem sobre a sensibilização do sistema nervoso central, o que leva ao quadro de hiperalgesia e distúrbios autonômicos. Nesse sentido, sendo o nervo vago uma importante rota aferente ao sistema nervoso central, onde entre muitas das suas funções, conta com projeções encefálicas envolvidas no controle nociceptivo e na percepção da dor, o objetivo deste estudo é avaliar a influência da estimulação do ramo auricular do nervo vago na percepção da dor, bem como no controle do humor e do sono. Esta pesquisa caracteriza-se como translacional e possui duas etapas, a primeira experimental “não clínica”, utilizando um modelo de fibromialgia induzida por reserpina em ratos, e a segunda experimental “clínica”, com uma população de mulheres diagnosticada com fibromialgia. Em ambas as etapas, o tratamento foi feito por acupuntura auricular no ramo auricular do nervo vago. Foram realizadas avaliações comportamentais, que tiveram como desfecho primário dor e como desfechos secundário depressão, sono, ansiedade, funcionalidade e determinação da concentração de fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF), interleucinas (IL) IL-6, IL-8, IL-10 e fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ). Esta tese é apresentada no formato de artigos, dividida em quatro capítulos, sendo o primeiro um revisão narrativa, seguido por um estudo não clínico, um protocolo de estudo clínico e por fim, um ensaio clínico randomizado controlado, duplo cego e de três braços.

**Palavras-chave:** ramo auricular do nervo vago; acupuntura auricular; fibromialgia; dor crônica; depressão

## ABSTRACT

Fibromyalgia is a syndrome characterized by widespread joint and muscle pain, which may be concomitant with fatigue, cognitive, mood and sleep disorders. It affects mostly women and its average prevalence is 3% of the world population. Of still undefined etiology, some indications fall on the sensitization of the central nervous system, which leads to hyperalgesia and autonomic disorders. In this sense, as the vagus nerve is an important afferent route to the central nervous system, where, among many of its functions, it has encephalic projections involved in nociceptive control and pain perception, the objective of this study is to evaluate the influence of stimulation of the auricular branch of the vagus nerve in the perception of pain, as well as in the control of mood and sleep. This research is characterized as translational and has two stages, the first experimental "pre-clinical", using an model of fibromyalgia induced by reserpine in rats, and the second experimental "clinical", with a population of women treated with fibromyalgia. In both stages, the treatment was performed by auricular acupuncture in the auricular branch of the vagus nerve. Behavioral were evaluated, which had as primary symptoms pain and as secondary symptoms depression, sleep, anxiety, functionality and of the concentration of brain-derived neurotrophic factor (BDNF), interleukins (IL) IL-6, IL-8, IL-10 and tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ). This thesis is presented in the format of manuscript, divided into four chapters, the first being a narrative review, followed by a preclinical study, a clinical study protocol and finally, a randomized controlled, double-blind, three-arm clinical trial.

**Keywords:** auricular branch of the vagus nerve; auricular acupuncture; fibromyalgia; chronic pain; depression

## LISTA DE FIGURAS

### INTRODUÇÃO

<b>Figura 1.</b> Instrumentos de avaliação da fibromialgia .....	18
<b>Figura 2.</b> Circuitos neurais e núcleos vagais .....	21
<b>Figura 3.</b> Ramo auricular do nervo vago .....	22
<b>Figura 4.</b> Ramo auricular do nervo vago e suas conexões .....	23

### CAPÍTULO 2 – ESTUDO NÃO CLÍNICO

<b>Figura 1.</b> Desenho experimental.....	33
<b>Figura 2.</b> Acupuntura no RANV.....	34
<b>Figura 3.</b> Análise comportamental do sono.....	40
<b>Figura 4.</b> Estimulação do RANV no limiar mecânico.....	42
<b>Figura 5.</b> Estimulação do RANV na dor espontânea.....	43
<b>Figura 6.</b> Estimulação do RANV na alodínia ao frio.....	44
<b>Figura 7.</b> Estimulação do RANV na atividade motora.....	45
<b>Figura 8.</b> Estimulação do RANV no comportamento tipo anedônico.....	46
<b>Figura 9.</b> Estimulação do RANV no comportamento tipo depressivo.....	47
<b>Figura 10.</b> Estimulação do RANV-D na força dos membros anteriores.....	48
<b>Figura 11.</b> Estimulação do RANV-D na avaliação do sono.....	49
<b>Figura 12.</b> Concentração de citocinas no córtex pré-frontal.....	50
<b>Figura 13.</b> Concentração de citocinas no hipocampo.....	51
<b>Figura 14.</b> Concentração de BDNF no córtex pré-frontal e hipocampo.....	52

### CAPÍTULO 3 – PROTOCOLO

<b>Figura 1.</b> Desenho experimental.....	67
--	----

### CAPÍTULO 4 – ESTUDO CLÍNICO

<b>Figura 1.</b> Intervenção.....	85
<b>Figura 2.</b> Localização dos pontos auriculares.....	86
<b>Figura 3.</b> Fluxograma das fases do estudo.....	93
<b>Figura 4.</b> Efeito agudo da estimulação do RANV na VFC.....	113
<b>Figura 5.</b> Efeito agudo da estimulação do RANV na atividade simpática.....	114

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 2 – ESTUDO NÃO CLÍNICO

<b>Tabela 1.</b> Avaliação comportamental do sono.....	40
--	----

### CAPÍTULO 4 – ESTUDO CLÍNICO

<b>Tabela 1.</b> Dados demográficos.....	94
<b>Tabela 2.</b> Resultados da escala numérica de dor.....	95
<b>Tabela 3.</b> Resultados dos questionários de fibromialgia.....	97
<b>Tabela 4.</b> Resultados da depressão, ansiedade, catastrofização e sono.....	102
<b>Tabela 5.</b> Resultados da força e limiar de dor a pressão.....	107
<b>Tabela 6.</b> Resultados não paramétricos de força e dor a pressão.....	111
<b>Tabela 7.</b> Desempenho dos grupos.....	118

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABVN - Auricular Branch of the Vagus Nerve  
ABVN-L - Auricular Branch of the Vagus Nerve Left  
ABVN-R - Auricular Branch of the Vagus Nerve Right  
Ach - Acetilcolina  
ACR - American College Rheumatology  
AD - Anticonvulsant Drugs  
ANOVA - Análise estatística de uma variância  
ATV - Área Tegumentar Ventral  
BAI - Beck Anxiety Inventory  
BDI - Beck Depression Inventory  
BDNF - Brain-derived neurotrophic fator  
BMI - Body Mass Index  
CAAE - Certificado de Apresentação para Apreciação Ética  
CCA - Córtex Cingula Anterior  
CEPSH - Comitê de Ética e Pesquisa com Seres Humanos  
DP - Diastolic Pressure  
DY - Disease Years  
ECG - Eletrocardiograma  
EEG - Eletroencefalograma  
EIS - Escala de Intensidade dos Sintomas  
EMG - Eletromiografia  
E.P.M. - Erro Padrão da Média  
FIQ - Fibromyalgia Impact Questionnaire  
FM - Fibromialgia  
fMRI - Ressonância magnética funcional  
GABA - Ácido-gama aminobutírico  
GS - Grimace Scale  
HF - High frequency  
HPA - Eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal  
HR - Heart Rate  
HRV - Heart Rate Variability  
HT - Hipotálamo

IDG - Índice de Dor Generalizada

IL-1 - Interleucina 1

IL-1 $\beta$  - Interleucina 1 beta

IL-4 - Interleucina 4

IL-6 - Interleucina 6

IL-8 - Interleucina 8

IL-10 - Interleucina 10

i.m. - Intramuscular

i.p. - Intraperitoneal

i.pl. - Intraplantar

LC - Locus Ceruleus

LF - Low Frequency

mg - Miligrama

min - Minuto

ml - Mililitro

mm - Milimetro

N - Number

NOP - Non Opioid Analgesics

NPB - Núcleo Parabraquial

NPRS - Numeric Pain Rating Scale

NTS - Núcleo do Trato Solitário

OMS - Organização Mundial de Saúde

P2X7R - Purinergic P2X7 Receptor

PCS - Pain Catastrophizing Scale

PICs - Práticas Integrativas e Complementares

PSQI - Pittsburgh Sleep Quality Index

PS - Preferência de Sacarose

PVC - Polyvinyl Chloride

RANV - Ramo auricular do nervo vago

RMSSD - Root Mean Square of Successive RR Interval Differences

RVM - Bulbo rostro ventromedial

s.c. - Subcutânea

SCP - Substância cinzenta periaquedutal

SD - Standard Deviation

SDNN - Standard Deviation of All Normal NN Interval  
SEM - Standard Error of the Mean  
SL - Sistema Límbico  
SNC - Sistema Nervoso Central  
SNP - Sistema Nervoso Periférico  
SP - Systolic Pressure  
SP - Substância P  
SS - Solução Salina  
SUS - Sistema Único de Saúde  
taVNS - Transcutaneous Auricular Vagus Nerve Stimulation  
TCAs - Tricyclic Antidepressants  
TCC - Terapia Cognitiva Comportamental  
TE - Tronco Encefálico  
T&CM - Traditional and Complementary Medicine  
TNF- $\alpha$  - Tumor Necrosis Factor Alpha  
UBS - Unidade Básica de Saúde  
VFC - Variabilidade da Frequência Cardíaca  
WFAS - World Federation of Acupuncture and Moxibustion Societies  
WFCMS - World Federation of Chinese Medicine Societies  
WHO - World Health Organization

## SUMÁRIO

<b>APRESENTAÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>17</b>
<b>2 JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>25</b>
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>26</b>
3.1 Objetivo geral.....	26
3.2 Objetivos específicos.....	26
<b>4 MÉTODOS E RESULTADOS.....</b>	<b>27</b>
4.1 Capítulo 1.....	28
4.2 Capítulo 2.....	29
4.3 Capítulo 3.....	62
4.4 Capítulo 4.....	80
<b>5 CONSIDERAÇÕES E PERSPECTIVAS.....</b>	<b>128</b>
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>130</b>
<b>7 PUBLICAÇÕES.....</b>	<b>131</b>
<b>8 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>132</b>
<b>9 ANEXOS .....</b>	<b>152</b>

## APRESENTAÇÃO

A presente tese está vinculada ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). O estudo foi conduzido sob orientação da Profa. Dra. Morgana Duarte da Silva, que está à frente do Laboratório de Neurobiologia da Dor e Inflamação (LANDI).

A construção deste estudo envolveu uma equipe de mestrandos, doutorandos e alunos de iniciação científica, todos vinculados ao LANDI, além do doutorando responsável por esta tese. O Doutorando Marcos Lisboa Neves (autor da tese) é formado em fisioterapia pela Universidade Luterana do Brasil (Canoas - RS) no ano de 1998; possui formação em acupuntura pela Associação Brasileira de Acupuntura (ABA) no ano de 2000, com treinamento avançado em acupuntura e tui na pela Universidade de Shandong (China) no ano de 2011; especialização em dor e medicina paliativa pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS em 2014 e mestrado em neurociências pela Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC em 2018. Atuou por 15 anos como fisioterapeuta na União Gaúcha dos Policiais Civis – UGAPOCI, além de ter também atuado no Hospital Moinhos de Vento (Porto Alegre - RS), Instituto de Cardiologia (Porto Alegre - RS) e HU-UFSC (Florianópolis - SC). Foi membro do comitê de acupuntura e dor da Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor – SBED (2016 - 2017), filiada à Associação Internacional para o Estudo da Dor – IASP; e foi vice-presidente da regional de Santa Catarina da Associação Brasileira de Fisioterapia Traumatológica – ABRAFITO (2022-2023).

Esta tese aborda uma condição dolorosa crônica que tem relevante impacto na sociedade, acometendo principalmente mulheres e que traz prejuízos econômicos, sociais e emocionais para aproximadamente 3% da população brasileira. A intervenção terapêutica escolhida como abordagem no presente trabalho está entre as práticas integrativas e complementares reconhecidas pelo Sistema Único de Saúde (SUS). Sendo assim, optou-se por realizar um estudo translacional que envolveu uma pesquisa não clínica, com ratas Wistar, e um estudo clínico piloto, randomizado controlado, com mulheres diagnosticadas com fibromialgia. Além disso, foram escritos uma revisão narrativa e um protocolo de estudo clínico. O primeiro já publicado e o segundo submetido.

A tese é apresentada na forma de artigos e dividida em quatro capítulos. No primeiro capítulo a revisão narrativa aborda o estado da arte da acupuntura auricular e da estimulação do ramo auricular do nervo vago. No segundo capítulo um estudo não clínico foi conduzido utilizando o modelo de fibromialgia induzida por reserpina em ratas. No terceiro capítulo é apresentado o protocolo do estudo clínico que foi submetido para publicação. No quarto capítulo é apresentado o estudo clínico piloto com mulheres diagnosticadas com fibromialgia. Por fim, são apresentadas as considerações, perspectivas e as conclusões da tese.

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 Fibromialgia

A fibromialgia (FM) é uma condição crônica caracterizada por dores articulares e musculares generalizadas, fadiga, alterações do humor, do sono e da cognição (YILMAZ et al., 2018). Estima-se que a sua prevalência seja em torno de 3% da população mundial (**Figura 1**), ocorrendo principalmente em mulheres, com idade que varia de 35 a 65 anos (SARZI-PUTTINI et al., 2020). A etiologia da FM não foi completamente elucidada, contudo, evidências recaem sobre a sensibilização do sistema nervoso central (SNC), o que leva ao quadro de hiperalgesia, alodinia e distúrbios autonômicos. Nesse sentido, a relação entre nocicepção e o seu processamento cognitivo parece resultar em uma percepção exagerada de dor (GALVEZ-SÁNCHEZ et al., 2018).

Estudos que utilizam exames de imagem em pacientes com FM mostraram alterações na região do córtex pré-frontal ventro lateral, com aumento da concentração de glutamato, quando comparados aos seus controles (FERACO et al., 2011). Observa-se também aumento da concentração de glutamato na amígdala dessas pacientes (VALDE´S et al., 2010), assim como na região da insula posterior (HARRIS et al., 2008, 2009). Da mesma forma, o perfil inflamatório dessas pacientes vem mostrando relação com o aumento da concentração de citocinas pró-inflamatórias no soro, como a interleucina (IL)-6, e o fator de necrose tumoral (TNF)- $\alpha$ , assim como IL-8 no líquido cefalorraquidiano (KADETOFF et al., 2012; TSILIONI et al., 2016).

Apesar disso, ainda não existe um marcador biológico específico para a FM e seu diagnóstico é clínico. Segundo o Colégio Americano de Reumatologia, um paciente satisfaz os critérios para o diagnóstico de FM se apresentar as três condições a seguir: (1) Índice de Dor Generalizada (IDG)  $\geq 7$  e Escala de Intensidade dos Sintomas (EIS)  $\geq 5$  ou IDG 3-6 com escore da EIS  $\geq 9$  (**Figura 1**); (2) os sintomas devem estar presentes de forma semelhante há pelo menos 3 meses; (3) o paciente não deve ter outro distúrbio que possa vir explicar o seu quadro de dor persistente (WOLFE et al., 2010).

**Figura 1.** Instrumentos de avaliação da fibromialgia.

IDG - INDICE DE DOR GENERALIZADA					
ÁREA	SIM	NÃO	ÁREA	SIM	NÃO
Cervical			Tórax		
Abdome			Dorso		
Lombar			Mandíbula E		
Mandíbula D			Ombro E		
Ombro D			Braço E		
Braço D			Antebraço E		
Antebraço D			Quadril E		
Quadril D			Coxa E		
Coxa D			Perna E		
Perna D			Total		

EGS – ESCALA DE GRAVIDADE DOS SINTOMAS				
Intensidade dos sintomas	Ausente (0)	Leve (1)	Moderado (2)	Grave (3)
Fadiga (cansaço nas atividades)				
Sono não reparador (acordar cansado)				
Sintomas cognitivos (falta de memória e concentração)				
Sintomas somáticos (dores no corpo)				
Total				

IDG, cada item vale um ponto e o escore máximo é de 19 pontos; EGS, os itens variam de 0-1 pontos e o escore máximo é de 12 pontos. Fonte: autor, a partir dos dados de WOLFE et al., 2016.

Contudo, esses critérios levaram a erros de classificação quando aplicados a síndromes de dor regionais. Sendo assim, o Colégio Americano de Reumatologia revisou os critérios diagnósticos no ano de 2016, e atualmente atende aos critérios para diagnóstico de fibromialgia o indivíduo que apresentar: (1) dor generalizada, definida como dor em pelo menos 4 de 5 regiões do corpo (superior esquerda, superior direita, inferior esquerda, inferior direita e cabeça - mandíbula, peito e abdomen não estão incluídos); (2) os sintomas devem estar presentes em um nível semelhante por pelo menos três meses; (3) Índice de Dor Generalizada (IDG)  $\geq 7$  e Escala de Intensidade dos Sintomas (EIS)  $\geq 5$  ou IDG 4-6 com escore da EIS  $\geq 9$ ; (4) o diagnóstico de fibromialgia não necessita excluir a presença de outras doenças clinicamente importantes (WOLFE et al., 2016).

A FM é a terceira condição musculoesquelética mais comum e, dentre as modalidades terapêuticas indicadas para essa condição, destacam-se a utilização de fármacos analgésicos, anticonvulsivantes e antidepressivos; exercício físico; terapia cognitivo comportamental (TCC); educação do paciente e terapias complementares como acupuntura, massagem e hidroterapia (SUGERMAN et al., 2014; SARZI-PUTTINI et al., 2020). Porém, essas abordagens terapêuticas apresentam diversos contrapontos, como frequentes efeitos adversos das terapias farmacológicas, além das dificuldades que os alguns pacientes tem de aderir aos exercícios físicos e a psicoterapia. O fato é que ainda não existe um padrão ouro de tratamento para pacientes com FM (SARZI-PUTTINI et al., 2020).

Todavia, é importante lembrar o papel de terapias complementares, ou, melhor dizendo, das Práticas Integrativas e Complementares em Saúde (PICS), destacando aqui a sua inserção no Sistema Único de Saúde do Brasil (SUS). A implementação de tais práticas na saúde pública brasileira estão em consonância com as diretrizes da Organização Mundial de Saúde (OMS) e visam estimular mecanismos naturais de prevenção de agravos e recuperação da saúde. Atualmente, levando em consideração dados de 2017, já são mais de 8.200 Unidades de Atenção Básica de Saúde (UBS) que ofertam alguma de PICS no Brasil, como é o caso da acupuntura e da auriculoterapia (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018). Só entre 2016 e 2017, mais de 4.200 profissionais de saúde de atenção básica concluíram a formação de auriculoterapia por meio de curso de capacitação promovido pela parceria entre a Universidade Federal de Santa Catarina e o Ministério da Saúde do Brasil (TESSER, 2019).

## 1.2 Acupuntura auricular e estimulação vagal

Existe crescente evidência para o uso da acupuntura auricular (auriculoterapia) e para participação do nervo vago em diversas condições de saúde, incluindo dor, depressão e epilepsia. Em condições de dor, o uso da neuromodulação vagal possui potencial antinociceptivo e influência na redução da percepção de dor (FRØKJAER et al., 2016).

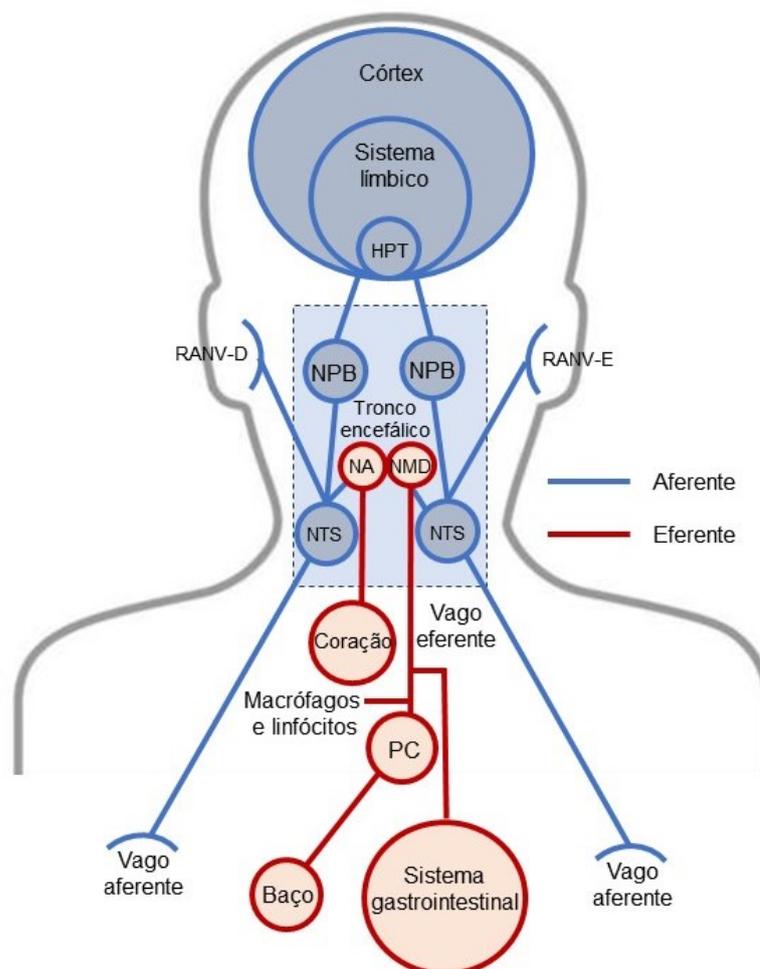
O nervo vago possui ampla distribuição no organismo e um importante papel na homeostase, sendo responsável pelo mecanismo parassimpático do

controle autonômico das atividades dos sistemas cardiovascular, respiratório, gastrointestinal e endócrino (BROWNING, 2015). Contudo, apenas 20% das suas fibras desempenham função motora, os 80% restantes são aferentes sensoriais (FRANGOS et al., 2015; JOHNSON et al., 2018).

Segundo Porges (2001), enquanto as fibras vagais aferentes fazem conexões com o núcleo do trato solitário (NTS), suas fibras motoras constituem circuitos que partem do núcleo motor dorsal do vago (NMD) ou do núcleo ambíguo (**Figura 2**). As conexões entre o NTS e o NMD formam o complexo motor dorsal do vago (CMD) abrangendo principalmente os órgãos viscerais subdiaphragmáticos, como o trato gastrointestinal. Enquanto as fibras vagais motoras do núcleo ambíguo formam o complexo vagal ventral (CVV), abrangendo principalmente órgãos viscerais supradiaphragmáticos, influenciando na fonação, deglutição e na atividade cardíaca (MARTINS, 2021). Nesse caso, após os baroreceptores enviarem sinais do aumento da frequência cardíaca até o NTS, sinais excitatórios são enviados ao núcleo ambíguo. Deste local, há ativação de fibras eferentes vagais, que por sua vez, atuam de forma inibitória sobre o nodo sinoatrial, reduzindo a frequência cardíaca. Dessa maneira, a atividade parassimpática vagal atua de forma protetora aumentando a variabilidade da frequência cardíaca (WANG, 2001).

A atividade reflexa do vago também está envolvida na resposta imunológica, suas fibras aferentes possuem receptores para diversas citocinas e a resposta inflamatória detectada pelas fibras aferentes vagais ativa os neurônios do NTS. O núcleo possui circuitarias neuronais que fazem sinapse no (i) hipotálamo, ativando o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), resultando na liberação de glicocorticóides; (ii) no NMD, resultando na liberação de acetilcolina que irá se ligar em receptores nicotínicos nos macrófagos, micróglia e linfócitos, inibindo sua atividade pró-inflamatória; (iii) e no plexo celíaco, ativando a via do nervo esplênico, inibindo a liberação de TNF por órgãos linfóides, como o baço, conforme **Figura 2** ( TRACEY, 2002; MARTINS, 2021).

**Figura 2.** Circuitos neurais e núcleos vagais.



RANV-D, ramo auricular do nervo vago direito; RANV-E, ramos auricular do nervo vago esquerdo; HPT, hipotálamo; NPB, núcleo parabraquial; NA, núcleo ambíguo; NMD, Núcleo motor dorsal do vago; NTS, núcleo do trato solitário; PC, plêxus celíaco. Fonte: autor.

O vago também possui ramificação para o pavilhão auricular, seu único ramo sensorial somático, onde é denominado ramo auricular do nervo vago (RANV), que inerva a pele do centro da aurícula, principalmente abrangendo as conchas auriculares (cava e cimba) e o conduto auditivo (BOROVIKOVA et al., 2000) (**Figura 3**).

**Figura 3.** Ramo auricular do nervo vago.

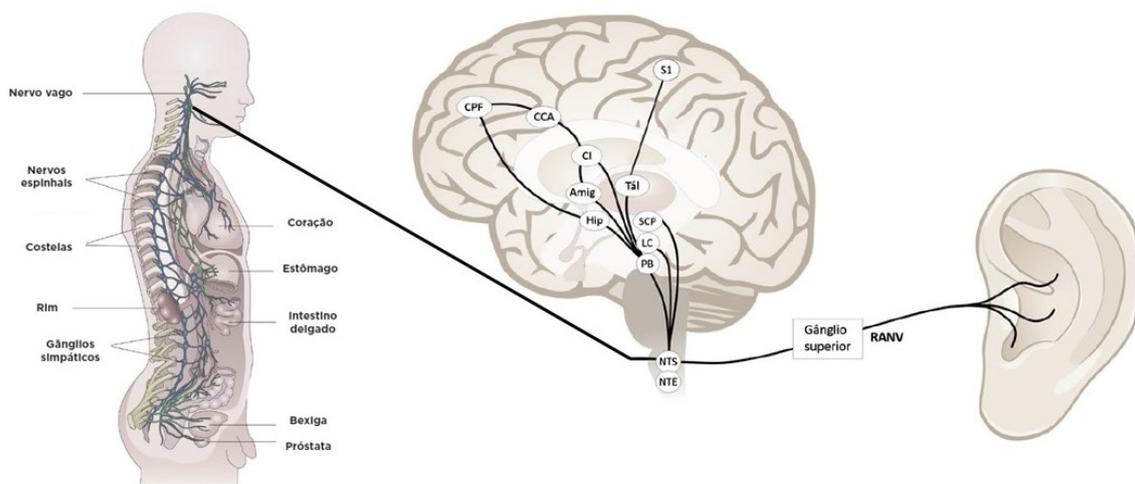


Abrangência do ramo auricular do nervo vago na concha central do pavilhão auricular. Fonte: autor, a partir dos dados de PEUKER et al., 2002.

A eletroestimulação transcutânea dessas regiões auriculares vem sendo utilizada de forma exitosa em substituição a eletroestimulação invasiva do nervo vago, para evitar os riscos de um procedimento cirúrgico na colocação de eletrodos no ramo cervical do vago, além de sequelas como tosse e rouquidão (GAO, 2012).

Estudos com ressonância magnética funcional (fMRI) e estimulação vagal transcutânea via auricular, em voluntários saudáveis, confirmaram seu envolvimento com a ativação de neurônios do NTS e do locus ceruleus (LC), no tronco encefálico (NAPADOW et al. 2012; BREIT et al., 2018). O NTS possui projeções para o bulbo rostro ventromedial (RVM), para a substância cinzenta periaquedutal (SCP), hipotálamo e para outras estruturas que compõem o sistema límbico (SL), incluindo amígdala (Amig) e córtex pré-frontal (CPF), regiões chaves para a percepção da dor e importantes na modulação inibitória nociceptiva (**Figura 4**). A eletroestimulação vagal transcutânea pode reduzir o sinal em áreas como amígdala, hipocampo, córtex cingulado anterior (CCA) e giro para-hipocampal, por meio das conchas do pavilhão auricular (USICHENKO et al., 2017).

**Figura 4.** Ramo auricular do nervo vago e suas conexões centrais e periféricas.



RANV, ramo auricular do nervo vago; NTE, núcleo trigeminal espinal; NTS, núcleo do trato solitário; PB, núcleo parabraquial; LC, locus ceruleus; SCP, substância cinzenta periaquedutal; Hip, hipotálamo; Amig, amígdala; Tál, tálamo; CI, córtex insular; CCA, córtex cingulado anterior; CPF, córtex pré-frontal; S1, córtex somatosensorial primário. Fonte: autor, adaptado de NAPADOW et al., 2012.

Ademais, dados do Laboratório de Neurobiologia da Dor e da Inflamação (LANDI), publicados na revista *Life Science* (2022), indicam que a estimulação do RANV promove redução da resposta nociceptiva de origem inflamatória, tanto viscero-somática, quanto somática, em modelos de dor aguda em ratos. Os resultados mostraram que a estimulação do RANV do pavilhão auricular esquerdo foi capaz de inibir a nocicepção visceral por meio da redução do número de contorções abdominais induzidas por ácido acético, tanto em ratos machos, quanto em fêmeas, com inibição de 52 a 64% comparado ao grupo controle. Já na nocicepção somática, observado pelo teste da formalina, a estimulação do RANV promoveu redução da nocicepção neurogênica e inflamatória, com inibição de 38 a 52% comparado ao controle. Além disto, foi observado que o efeito analgésico produzido pela estimulação do RANV no modelo do ácido acético foi bloqueado pela vagotomia cervical do ramo esquerdo e pelo pré-tratamento dos animais com atropina ou mecamilamina, que são antagonistas colinérgicos (NEVES et al., 2022).

Sendo assim, a estimulação do RANV se mostra um método terapêutico promissor em diversas condições, e que merece maior investigação. Os dados obtidos durante o meu mestrado, em modelos de dor aguda, serviram de base para darmos continuidade com novos experimentos, agora para avaliar a eficácia da estimulação vagal dentro de um modelo de FM induzida por reserpina em ratos, assim como em pacientes humanos com FM.

Desta forma, a hipótese da presente pesquisa é que a acupuntura sobre o RANV-E produza efeito analgésico, tanto no modelo de FM por reserpina em animais, como em mulheres diagnosticadas com esta síndrome.

## 2 JUSTIFICATIVA

A FM é uma doença crônica bastante comum e seu tratamento ainda representa um grande desafio para os profissionais da saúde. O manejo da FM combina terapias farmacológicas com intervenções não farmacológicas. Ainda que façam parte das diretrizes clínicas no manejo da FM, fármacos moduladores da dor, como antidepressivos (ex. duloxetina e amitriptilina) e antiepilépticos (ex. gabapentina ou pregabalina), possuem seus efeitos limitados ao tempo do tratamento. Em estudos, a proporção de pessoas que alcançam um alívio satisfatório da dor é pequena, geralmente de 10-15% a mais do que o placebo, ou seja, apenas uma pequena proporção de participantes tem uma boa resposta ao tratamento (SAXE et al., 2012; WIFFEN et al., 2013; MOORE et al., 2021).

Ademais, intervenções não farmacológicas, como exercício, são indicadas como primeira linha de tratamento em diretrizes recentes, especialmente porque elas possuem efeitos clinicamente relevantes em diferentes domínios dos sintomas da FM, como dor, distúrbios do sono, fadiga, sintomas afetivos (depressão/ ansiedade), déficit funcional e comprometimento cognitivo, além de menos efeitos colaterais do que os medicamentos (MACFARLANE 2017; PERROT et al., 2014).

Contudo, é importante destacar os benefícios de intervenções ainda não totalmente comprovadas, principalmente no sentido de propiciar uma janela terapêutica para poder iniciar abordagens ativas, visto que a maioria dos pacientes com FM apresentam dificuldade de iniciar e manter um programa de exercícios. A inserção da acupuntura e da auriculoterapia dentro da política nacional de saúde vem ganhando espaço e trazendo incentivo às pesquisas, principalmente pela necessidade de se buscar maior e melhores evidências, tanto para sua eficácia, quanto efetividade e segurança.

Nesse sentido, estudos com estimulação do RANV vêm demonstrando resultados promissores em diferentes condições, com evidência crescente na ação analgésica e anti-inflamatória, incluindo também condições emocionais e cognitivas. Sendo assim, o presente estudo propõe investigar os efeitos da estimulação do RANV em um modelo de FM induzido por reserpina em ratos, e em mulheres diagnosticadas com FM.

### 3 Objetivos

#### 3.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos da estimulação do RANV por acupuntura na fibromialgia, em modelo com ratas e em humanas mulheres.

#### 3.2 Objetivos específicos

- a) Elucidar o referencial teórico da acupuntura auricular e da estimulação do RANV;
- b) Avaliar o efeito da estimulação do RANV na alodinia mecânica, na hiperalgesia térmica ao frio, no comportamento tipo depressivo, na concentração de BDNF e das interleucinas IL-6, IL-8, IL-10 e TNF- $\alpha$ , no córtex pré-frontal e no hipocampo, dentro do modelo de fibromialgia induzida por reserpina em ratas;
- c) Avaliar os efeitos da estimulação do RANV em mulheres diagnosticadas com fibromialgia, por meio da intensidade e distribuição da dor, índices de depressão, ansiedade, pensamento catastrófico sobre dor, qualidade do sono, funcionalidade e gravidade dos sintomas;
- d) Avaliar se existe diferença da resposta terapêutica, comparando a estimulação do RANV-D com o RANV-E, tanto no modelo de fibromialgia em animais, como em mulheres diagnosticadas com fibromialgia.

## 4 MÉTODOS E RESULTADOS

Esta Tese de Doutorado apresenta seus principais resultados divididos em capítulos, sendo cada, respectivamente, um manuscrito completo de (1) uma revisão narrativa, (2) um estudo não clínico, (3) um protocolo de tratamento, e (4) um ensaio clínico duplo cego com três braços .

### Capítulo 1

*“Ear acupuncture and neuromodulation: narrative review”*

Manuscrito completo publicado no periódico **Longhua Chin Med.** 2022;5:27. <https://dx.doi.org/10.21037/lcm-21-42>, referente ao objetivo (a).

### Capítulo 2

“A resposta terapêutica da acupuntura manual sobre o ramo auricular do nervo vago no modelo de fibromialgia é dependente da lateralidade auricular”

Manuscrito do estudo pré-clínico, referente aos objetivos (b) e (d), ainda não submetido.

### Capítulo 3

*“Stimulation of the auricular branch of the vagus nerve by acupuncture in the individual with fibromyalgia: Randomized, controlled, double-blind clinical trial.”*

Protocolo submetido no periódico **Longhua Chin Med.** Referente aos objetivos (c) e (d). Aceito pelos editores e aguardando o retorno dos revisores.

### Capítulo 4

“Efeitos da acupuntura sobre o ramo auricular do nervo vago no manejo da fibromialgia: um estudo piloto randomizado e controlado por simulação.”

Manuscrito do estudo clínico, referente aos objetivos (c) e (d), ainda não submetido.



## Review Article

## Ear acupuncture and neuromodulation: narrative review

Marcos Lisboa Neves<sup>1^</sup>, Bernardo Diniz Coutinho<sup>2^</sup>, Emiliana Domingues Cunha da Silva<sup>3^</sup>,  
Luiza Borges Gentil<sup>1^</sup>, Adair Roberto Soares dos Santos<sup>1\*^</sup>, Morgana Duarte da Silva<sup>1^</sup>

<sup>1</sup>Program of Post-graduation in Neuroscience, Federal University of Santa Catarina, University Campus-Trindade, Florianópolis, Brazil;

<sup>2</sup>Professional Postgraduate Program in Family Health, Federal University of Ceará, Fortaleza, Brazil; <sup>3</sup>Post-graduate Program in Public Health, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, Brazil

**Contributions:** (I) Conception and design: Neves ML, da Silva MD, dos Santos ARS; (II) Administrative support: Neves ML, da Silva MD, dos Santos ARS; (III) Provision of study materials or patients: All authors; (IV) Collection and assembly of data: All authors; (V) Data analysis and interpretation: All authors; (VI) Manuscript writing: All authors; (VII) Final approval of manuscript: All authors.

**Correspondence to:** Marcos Lisboa Neves. Program of Post-graduation in Neuroscience, Federal University of Santa Catarina, University Campus-Trindade, Florianópolis 88040-900, Brazil. Email: marcoslisboaneves@gmail.com.

**Background and Objective:** We conducted a narrative review of the literature to describe the evolution of ear acupuncture and its effects on pain neuromodulation and other disorders. Ear acupuncture is a therapeutic approach that has its own diagnosis and treatment, and its use by different peoples in antiquity and modern age has been reported for pain and associated disorders treatment. Acquiring knowledge of its neuromodulatory mechanisms and effects is of utmost importance to support its clinical practice and guide professionals in choosing the most appropriate methods and regions for auricular stimulation.

**Methods:** Through the search and analysis of pre-clinical and clinical research in PubMed/MEDLINE database, related available articles up to January 2022 were used for the research, only in English language.

**Key Content and Findings:** We present the results of studies using nuclear magnetic resonance to demonstrate the effect of auricular stimulation over the somatosensory cortex and limbic regions treating somatic and emotional dysfunctions, as well as the role of vagus nerve in activating one of the pathways responsible for suppressing inflammation and regulating autonomic function and weight control. Stimulation in adequate doses on the central and peripheral regions of the auricular pavilion, through stimulation of the auricular branch of the vagus nerve (ABVN), can activate and inhibit brain regions and trigger behavioral inhibition effects, reduce inflammatory response and appetite, improve cardiac function, depressive symptoms, epilepsy and pain.

**Conclusions:** Discussing the mechanism and efficacy of auricular acupuncture can provide strong scientific support for the clinical application of the therapeutic method. Therefore, continuous joint effort of researchers is needed, searching for a cost-effective treatment, based on quality studies.

**Keywords:** Auriculotherapy; auricular acupuncture; pain; depression; autonomic system

Received: 04 August 2021; Accepted: 06 July 2022; Published: 30 September 2022.

doi: 10.21037/lcm-21-42

View this article at: <https://dx.doi.org/10.21037/lcm-21-42>

\*, in memoriam.

^ ORCID: Marcos Lisboa Neves, 0000-0001-8358-3229; Bernardo Diniz Coutinho, 0000-0003-2939-9679; Emiliana Domingues Cunha da Silva, 0000-0002-9163-1005; Luiza Borges Gentil, 0000-0001-6265-9386; Adair Roberto Soares dos Santos, 0000-0002-6435-4698; Morgana Duarte da Silva, 0000-0002-2487-236X.

## **A RESPOSTA TERAPÊUTICA DA ESTIMULAÇÃO DO RAMO AURICULAR DO NERVO VAGO NO MODELO DE FIBROMIALGIA É DEPENDENTE DA LATERALIDADE AURICULAR.**

Marcos Lisboa Neves<sup>1</sup>, Scheila Iria Kraus<sup>1</sup>, Jeane Bachi Ferreira<sup>1</sup>, Jhenifer Karvat<sup>1</sup>, Morgana Duarte da Silva<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Programa de Pós-graduação em Neurociências, Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Trindade, Florianópolis, SC, 88040-900, Brasil.

### **RESUMO**

A fibromialgia é uma síndrome caracterizada por dores somáticas generalizadas, fadiga, alterações cognitivas e do sono. De etiologia ainda não definida, algumas evidências recaem sobre a sensibilização do sistema nervoso central, o que leva ao quadro de hiperalgesia e distúrbios autonômicos. Considerando o nervo vago uma importante rota aferente ao sistema nervoso central, com projeções encefálicas envolvidas no controle nociceptivo e na percepção da dor, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da acupuntura sobre o ramo auricular do nervo vago no modelo de fibromialgia induzida por reserpina. Ratos Wistar fêmeas foram tratadas com acupuntura no ramo auricular do nervo vago esquerdo ou direito e comparadas a grupo não submetido ao tratamento. Foram feitas avaliações comportamentais para dor, depressão, sono, e análise da concentração do fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF), interleucinas (IL) IL-6, IL-1 $\beta$ , IL-10 e do fator de necrose tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ), no hipocampo e córtex pré-frontal. A acupuntura sobre o ramo auricular do nervo vago direito, mas não esquerdo, produziu redução da alodínea mecânica e térmica, melhora do comportamento tipo depressivo e redução do número de despertares durante o sono dos animais. Além disso, aumentou a concentração de BDNF córtex pré-frontal. Nossos dados demonstram que apenas a estimulação por acupuntura manual no ramo auricular do nervo vago direito é eficaz no modelo de fibromialgia induzida por reserpina em ratas.

**Palavras-chave:** ramo auricular do nervo vago; acupuntura auricular; fibromialgia; dor crônica; depressão

## 1. INTRODUÇÃO

A fibromialgia (FM) é uma síndrome complexa de etiologia indefinida, descrita como uma dor crônica primária na subdivisão da dor crônica generalizada (TREEDE et al., 2019). Estima-se que sua prevalência seja em torno de 3% da população mundial, acometendo principalmente mulheres de 35 a 65 anos, em uma proporção de 3:1 em relação aos homens (SARZI-PUTTINI et al., 2020). Indivíduos com FM apresentam a dor de característica nociplástica, pois apresentam dor apesar de não existir dano tecidual aparente, nem doença ou lesão do sistema somatossensorial que cause a ativação de nociceptores periféricos (CHIMENTI et al., 2018; TREEDE et al., 2019).

A FM também é caracterizada por fadiga, alterações do sono, déficit cognitivo e problemas de humor, que parecem estar relacionados com diferentes alterações no sistema nervoso, como um aumento da sensibilização, que leva ao quadro de hiperalgesia e distúrbios autonômicos (SARZI-PUTTINI et al., 2020). Estudos com exames de imagens em pacientes com FM mostram alterações em regiões encefálicas como córtex pré-frontal ventro lateral e estruturas límbicas (HARRIS et al., 2008, 2009; VALDE'S et al., 2010; FERACO et al., 2011). Da mesma forma, esses pacientes possuem um perfil inflamatório, com aumento na concentração de citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina (IL)-6 e o fator de necrose tumoral (TNF) (TSILIONI et al., 2016).

Dentre as abordagens terapêuticas, destacam-se a utilização de fármacos antidepressivos, exercício físico e terapias complementares como acupuntura, massagem e hidroterapia (ROOKS et al., 2007; HAUSER et al., 2009; SUGERMAN, 2014). Nesse sentido, existe crescente evidência para o uso da estimulação do ramo auricular do nervo vago (RANV) por acupuntura com potencial ação terapêutica na dor e na depressão (FRØKJAER et al., 2016).

Recentemente nosso grupo de pesquisa publicou um estudo demonstrando que a estimulação por acupuntura manual no RANV-E (esquerdo), mas não no RANV-D (direito), foi capaz de produzir um efeito antinociceptivo em modelos de dor aguda viscero-somática, também em ratos (NEVES et al. 2022). Sendo assim, decidimos investigar a mesma intervenção terapêutica em um modelo de fibromialgia induzida por reserpina.

Muitos modelos de indução da FM são utilizados em roedores para maior elucidação de seus mecanismos e potenciais alvos terapêuticos, entre eles a indução por reserpina subcutânea, solução salina muscular e a exposição ao estresse. Contudo, o modelo de indução por reserpina parece ser o mais próximo ao quadro clínico em humanos, evocando dor espontânea, fadiga, comportamento tipo depressivo e distúrbios do sono (BRUM et al., 2022).

Sendo assim, o presente estudo investigou os efeitos da estimulação do RANV-D e RANV-E, com acupuntura, em ratas submetidas ao modelo de fibromialgia induzida por reserpina.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Animais

A amostra foi composta por ratos Wistar, fêmeas, com idade de 45-65 dias, pesando em média entre 200-250g, obtidos do biotério da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Os animais foram alojados - cinco animais por caixa - à temperatura ambiente ( $22 \pm 1$  °C, 50-80% de umidade) com um ciclo claro/escuro de 12 h (começando às 6h) e tiveram ad *libitum* acesso a ração e água, padronizadas para ratos de laboratório. Todos os experimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina (CEUA/UFSC), sob o protocolo experimental CEUA nº 9733250219, e seguiram as diretrizes do NIH (*Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, NIH Publication 86-23*), bem como o Guia do Conselho Nacional de Pesquisa para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório. Os experimentos também foram conduzidos de acordo com as normas éticas para a investigação da dor experimental em animais conscientes e as diretrizes brasileiras para o cuidado de animais de laboratório (ZIMERMANN, 1983; CONCEA, 2013). O trabalho obedeceu às diretrizes do ARRIVE (DU SERT et al. 2020) e do STRIAAM (MORÉ et al., 2021). Todos os esforços foram feitos para reduzir o número de animais utilizados. Ao final de cada experimento, ou em caso de sofrimento, os animais foram eutanasiados em câmara de CO<sub>2</sub>. Nenhum animal foi excluído dos experimentos.

## 2.2 Design experimental

Foi utilizado um total de 47 animais, divididos em grupos controle e intervenção, randomizados em 4 grupos experimentais (5-8 animais por grupo). As caixas de alojamento dos animais foram divididas aleatoriamente em grupos intervenção e controles. Os animais foram avaliados por pesquisadores cegos em relação a intervenção, em dois protocolos que verificaram a ação terapêutica da estimulação do RANV por acupuntura no modelo de FM induzida por reserpina. Foram feitas avaliações comportamentais de alodinia mecânica, dor espontânea, alodinia ao frio, força das patas anteriores, comportamento tipo depressivo e qualidade dos sono (**Figura 1**). Posteriormente os animais foram eutanasiados e foram coletadas estruturas encefálicas para análises bioquímicas.

No primeiro protocolo os animais foram divididos em quatro grupos distintos: (G1) os animais deste grupo receberam o veículo de diluição da reserpina, via subcutânea (s.c.), e não foram tratados; (G2) os animais deste grupo receberam reserpina 1 mg/kg (s.c.) e não foram tratados; (G3) os animais deste grupo receberam reserpina 1 mg/kg (s.c.) e foram tratados com a estimulação do RANV do lado esquerdo (RANV-E); e (G4) os animais deste grupo receberam reserpina 1 mg/kg (s.c.) e foram tratados com a estimulação do RANV do lado direito (RANV-D). No segundo protocolo, os animais foram divididos em três grupos distintos: (G1) os animais deste grupo receberam o veículo da reserpina, via subcutânea (s.c.) e não foram tratados; (G2) os animais deste grupo receberam reserpina 1 mg/kg (s.c.) e não foram tratados; (G3) os animais deste grupo receberam reserpina 1 mg/kg (s.c.) e foram tratados com a estimulação do RANV-D por acupuntura manual.

**Figura 1.** Desenho experimental

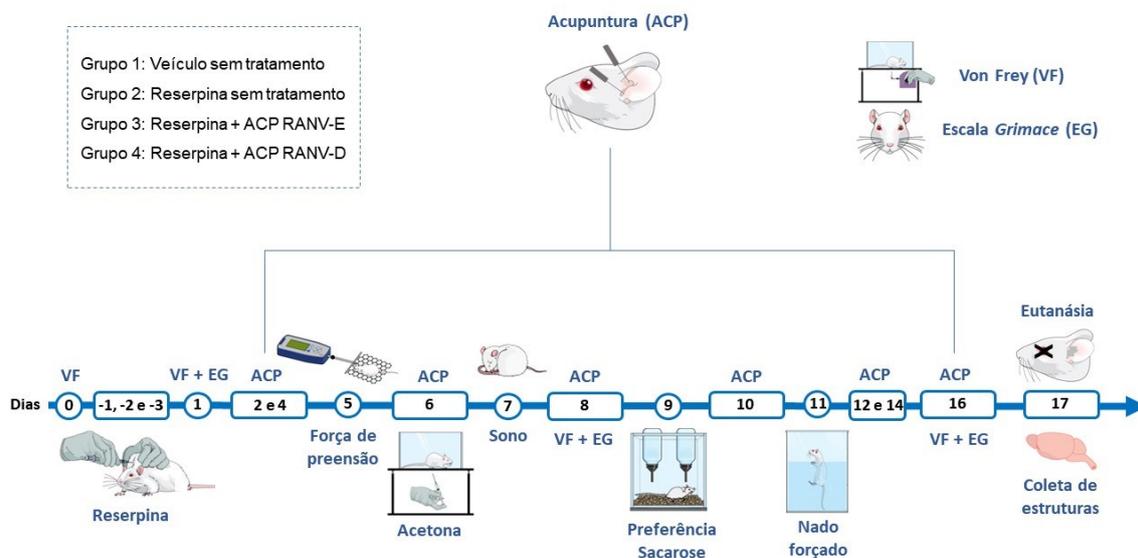


Figura elaborada pelo autor, utilizando a plataforma *Mind the Graph*®.

## 2.3 Drogas

Para a realização desta pesquisa foram utilizadas as seguintes substâncias: isoflurano (Cristália, São Paulo, Brasil), reserpina (Sigma Chemical Co., St. Louis, EUA), kits para teste enzimático ELISA para citocinas TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 e para o fator neurotrófico BDNF (R&D Systems Elisa, EUA; ThermoFisher, Massachusetts, EUA).

## 2.4 Indução do modelo de fibromialgia

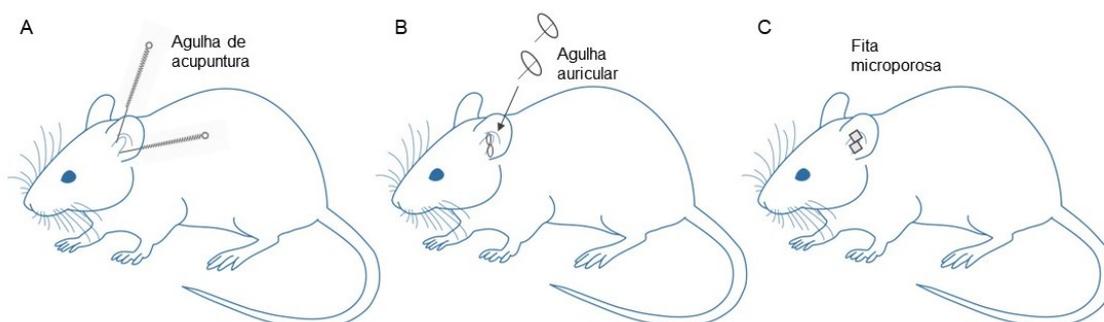
Para indução do modelo de fibromialgia foi utilizado reserpina na dose de 1 mg/kg s.c., dissolvida em solução salina e 5% de Tween 80, uma vez por dia, por três dias consecutivos, às 9h da manhã, injetada no dorso do animal (NAGAKURA et al., 2009; WELLS et al., 2017). A reserpina é um alcaloide (SINGH, 1955), extraída das raízes da *Rauwolfia Serpentina*, um arbusto encontrado na região sul e sudeste da Ásia, que já foi utilizada no tratamento da hipertensão (LOBAY, 2015). Seu mecanismo de ação inibe o transporte de

monoaminas, por meio de ligação irreversível aos transportadores de monoamina vesicular (VMAT1 e VMAT2), com efeitos colaterais de depressão e dor generalizada (NAGAKURA et al., 2009).

## 2.5 Estimulação do RANV com acupuntura

Os animais foram previamente sedados com 1-2 % de isoflurano, através de cone nasal. Após a verificação do estado de consciência de cada animal, por meio do pinçamento da cauda e das pregas interdigitais, duas agulhas de acupuntura com tamanho 0,18 mm (espessura) X 8 mm (comprimento), da marca Dong Bang, foram implantadas a uma profundidade de 1-2 mm da superfície da pele, nas regiões superior (centro da cimba da concha) e inferior (centro da cava da concha) das conchas do pavilhão auricular direita ou esquerda, e estimuladas manualmente por meio de dois semi-giros (direito e esquerdo) por segundo, durante 30 segundos em cada agulha. Após esse procedimento as agulhas foram retiradas e duas micro agulhas de aço inox, estéreis, específicas para acupuntura auricular, da marca Dong Bang, com tamanho 0,22 mm (espessura) X 1,5 mm (comprimento), foram implantadas, nas mesmas regiões do agulhamento anterior, e fixadas com fita microporosa da marca Micropore - 3M (**Figura 2 A-C**).

**Figura 2.** Acupuntura no RANV.



(A) Inserção e manipulação de duas agulhas de acupuntura, (B) colocação de duas agulhas de acupuntura auricular e (C) fixação com fita microporosa. Fonte: autor.

Esta região auricular já foi mapeada em ratos, e comparada com a aurícula humana, sendo a região de maior abrangência de inervação do RANV (FOLAN-CURRAN et al., 1994). Também vale lembrar que o método de anestesia utilizado já foi validado por outros autores no uso em experimentos que avaliam nocicepção em ratos (KINGERY et al. 2002) e, em nosso estudo, o anestésico foi utilizado com o objetivo de minimizar o estresse da restrição e da colocação de agulhas nos animais. O tempo de procedimento realizado em cada animal teve em média a duração de 3 minutos, tempo que os animais ficaram anestesiados com isoflurano, bem abaixo do tempo necessário para o isoflurano produzir efeito antinociceptivo (KINGERY et al., 2002).

É importante destacar que a escolha de dois tipos diferentes de agulhas para o tratamento se deu por: (1) a primeira (agulha de acupuntura) possibilitar melhor manipulação, conforme realizado no estudo de Gao et al. (2008); (2) a segunda (micro agulha) possibilitar maior tempo de permanência, sem a necessidade de manter o animal sob o efeito da anestesia por isoflurano, como já realizado em nosso estudo anterior (NEVES et al., 2022). Sendo assim, logo que a agulha foi implantada e fixada com micropore, os animais foram retirados do isoflurano e a micro agulha permaneceu implantada durante todo o tempo dos testes comportamentais. O tratamento foi realizado por um pesquisador com experiência em laboratório de pesquisa e acupuntura, em dias alternados, iniciando no 2º dia após a última dose de reserpina e finalizando no 16º dia. Os animais do grupo controle foram sedados com isoflurano pelo mesmo tempo do grupo intervenção, mas não receberam acupuntura.

## 2.6 Avaliação da alodinia mecânica

Os animais foram ambientados por 20 minutos em caixas transparentes individuais, medindo 20x17x14, sobre uma plataforma elevada, feita em malha de arame, permitindo o acesso da superfície ventral das patas posteriores. O teste de alodínia mecânica foi realizado por meio de filamento de von Frey (*Touch Test* - EUA), pelo método ascendente, iniciado por 0,4g até chegar na gramatura com resposta positiva (DEUIS et al., 2017). Sendo assim, o filamento de 12g foi escolhido por apresentar resposta positiva quando aplicado na superfície plantar da pata posterior direita. A partir daí, levando em consideração

o número de respostas positivas de 10 aplicações, alternando entre os animais, foi registrado a porcentagem de resposta positiva de cada animal. Esse teste foi realizado 24 horas antes da indução do modelo por reserpina (basal), e após 24 horas da última dose de reserpina, ou seja, no primeiro dia após a última dose de reserpina, e assim seguindo nos dias 2, 4, 8 e 16. Nesta fase do experimento o avaliador estava cego para os grupos experimentais.

## 2.7 Avaliação da dor espontânea

Com objetivo de quantificar a dor espontânea dos animais, e sendo a dor espontânea uma condição comum na fibromialgia em humanos (BRUM, 2022), foi aplicada a *Grimace Scale (GS)* para ratos. Essa escala possui cinco itens de observação facial, que inclui a contração orbital, protuberância do nariz, protuberância da bochecha, posição das orelhas e alteração do bigode. Cada item da escala é pontuado de 0-2, onde 0 representa ausência de alteração, 1 representa alteração moderada e 2 a alteração óbvia (SOTOCINAL et al., 2011). A escala foi aplicada nos mesmo dias da análise pelo von Frey, enquanto os animais estavam posicionados na plataforma de avaliação, descrita no item anterior, e avaliados de forma cega para os grupos experimentais.

## 2.8 Avaliação da hiperalgesia térmica ao frio

Para avaliação da sensibilidade térmica ao frio foi utilizado o teste da acetona. Nesse teste, 50 µl de acetona foi instilado na superfície plantar da pata posterior direita usando uma seringa. A quantidade de resposta na retirada da pata, definida como encolher, sacudir, lamben ou morder o membro, foi medida por 1 minuto, após a aplicação de acetona. A aplicação de acetona foi realizada cinco vezes, alternadamente entre os animais, sob a pata traseira direita. A resposta de cada animal foi convertida em um percentual geral ao longo de 5 aplicações (CHOI et al., 1994; YAMAMOTO et al., 2016). Para este teste, os animais foram ambientados por 20 minutos em caixas transparentes individuais, medindo 20x17x14, sobre uma plataforma elevada, feita em malha de arame, para permitir o acesso da superfície ventral das patas traseiras. O percentual de resposta de cada animal, como o comportamento de elevação da pata, agitação,

lambida ou mordida, foi considerado indicativo de hiperalgesia ao frio. O teste da acetona foi realizado no 6º dia após a última dose de reserpina e o avaliador estava cego para os grupos experimentais.

## 2.9 Avaliação da atividade locomotora

Para a avaliação da atividade locomotora foi usado o teste do campo aberto. Este teste consiste em uma arena de madeira revestida com uma fórmica branca impermeável (100 x 100 cm) e com o piso dividido em 25 quadrados (20 x 20 cm), marcados com linhas pretas, sendo 9 quadrados centrais e 16 periféricos. As paredes têm 40 cm de altura e a luminosidade sobre o aparato é de 10 lux. As ratas são colocadas individualmente no centro do aparato e durante 5 min o número de quadrados cruzados com as quatro patas é registrado. Uma redução no número de travessias, quando comparada ao grupo controle, foi interpretada como uma perda na atividade locomotora (LIM et al., 2008). Este teste fornece informações importantes sobre a mobilidade do animal, uma vez que as análises comportamentais utilizadas no estudo dependem da resposta motora dos ratos. O avaliador estava cego para os grupos experimentais.

## 2.10 Avaliação do comportamento tipo depressivo

O teste de preferência de sacarose (PS) foi realizado no intuito de avaliar o comportamento tipo anedônico. Para o teste, foram utilizados dois bebedouros na caixa-moradia dos animais, um deles preenchido com 250 ml de água e outro com o mesmo volume de sacarose a 3% (LUEDTKE et al., 2014; RIAZ et al., 2015). Os bebedouros foram colocados sobre a grade das caixas e em posição opostas. Este teste teve duração total de 2 horas, sendo que após 1 hora do seu início a posição das garrafas foi trocada, no intuito de evitar o viés de preferência por lugar pelos animais. A PS foi calculada utilizando a fórmula:  $\%PS = \frac{\text{ingestão de solução de sacarose (ml)}}{\text{ingestão de solução de sacarose (ml)} + \text{ingestão de água (ml)}} \times 100$  (LUEDTKE et al., 2014). O consumo de sacarose e o consumo de líquido total (ingesta de água + ingesta de sacarose), foram calculados para todos os grupos experimentais no 9º dia após a última dose de reserpina.

O teste do nado forçado também foi utilizado para avaliar a possível atividade antidepressiva da estimulação do RANV, o teste está associado a desesperança, que é um sintoma presente em humanos com depressão. Para tanto, os animais foram submetidos à habituação durante 15 minutos, 24 horas antes do dia do teste, ou seja, no 10º dia após a última dose de reserpina. Os animais foram colocados individualmente em cilindros de policloreto de vinilo (diâmetro interno de 21 cm; altura de 50 cm) cheios com água, a uma profundidade de 30 cm e uma temperatura de 24 a 25°C. Desta forma, eles foram forçados a nadar durante 5 minutos consecutivos, e o tempo gasto nadando, esforçando-se, ou imóvel, e a latência para imobilidade foi analisada (LU et al., 2017). O teste foi filmado e as imagens foram posteriormente analisadas e avaliadas. Após este período o animal foi retirado da água, secado e recolocado na sua caixa. Esse teste foi realizado no 11º dia após a última dose de reserpina, posteriormente aos demais testes citados anteriormente. O indivíduo que avaliou as imagens estava cego para os grupos experimentais.

#### 2.11 Avaliação da força de preensão dos membros anteriores (*Grip Force*)

Foi utilizado um dinamômetro digital de tração, modelo DD-500 (Instrutherm Instrumentos de Medição Ltda., Brazil), calibrado pelo fabricante, para medir a força de preensão dos membros anteriores (CABE et al. 1978), conectado a uma grade de aço (MATTSSON et al., 1986) de 1,5 mm, medindo 30 X 10 cm e contendo uma trama em torno de 6 cm<sup>2</sup> em cada quadrado. A grade estava conectada ao dinamômetro e o animal era colocado com as patas anteriores sobre a grade e, assim que fosse feita a preensão, o rato era puxado pelo corpo, e não pela cauda, para trás, onde o pico da força de tração em gramas foi registrado em um display no momento que o animal soltava a grade. Foi feita a média de 3 medições consecutivas por animal, com um intervalo de 1 minuto. A avaliação da força de preensão foi realizada no 5º dia após a última dose de reserpina, de forma cega para o grupo experimental.

## 2.12 Avaliação do sono

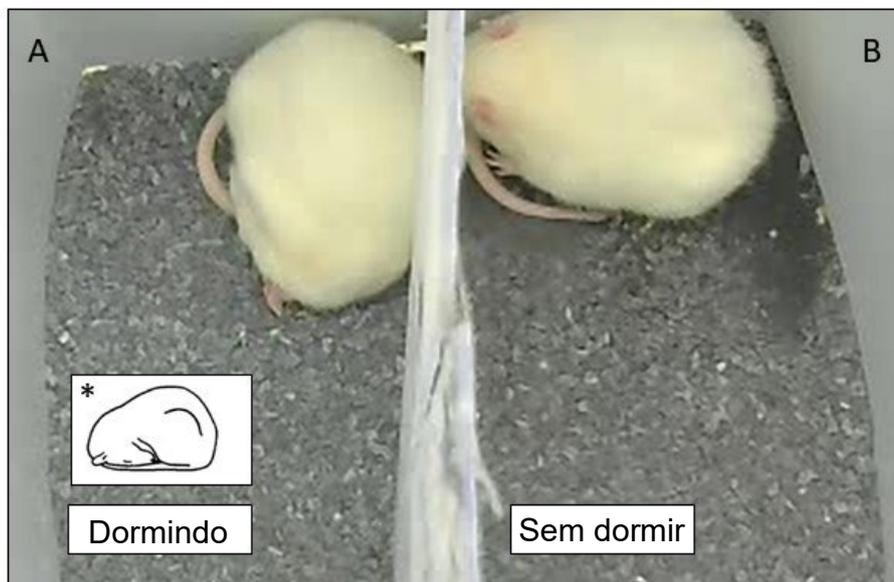
Para a avaliação do sono, optamos por uma análise comportamental, ao invés de registros eletrofisiológicos como EEG (eletroencefalograma) e EMG (eletromiograma). Essa análise levou em consideração três aspectos: latência, número de despertares e tempo total que os animais permaneceram dormindo. Esses são três aspectos comumente abordados em questionários clínicos para avaliação da qualidade do sono e que levamos em consideração em nossa análise.

Nossos registros foram feitos em uma sala controlada de 8 m<sup>2</sup> com iluminação de 1.200 lumens (luz branca) e temperatura de 22°, isolada de ruídos e da presença humana. Os animais foram ambientados nesta sala por três dias consecutivos, durante 2 horas. Foram usadas caixas idênticas a do biotério, medindo 40x34x45 cm, contendo apenas dois animais por caixa, separados por uma divisória de acrílico transparente, criando dois ambientes de 40x17x45, e com dois orifícios de 2 cm de diâmetro para facilitar a visualização e o contato entre os animais. As caixas continham um fundo com adesivo preto, que foi recoberto com brita na cor preta, para propiciar maior contraste com os animais e facilitar os registros. A filmagem foi realizada no 7º dia após a última dose de reserpina.

Na gravação foi utilizada uma Webcam Logitech C270, conectada a um computador, com uma distância de 50 cm acima da caixa. O tempo de gravação foi de 4 horas em dois blocos de 2 horas, sendo que o primeiro bloco contou como ambientação e somente o segundo bloco foi usado para análise, visto que nas duas primeiras horas os animais mantiveram um comportamento predominantemente exploratório. As análises das gravações foram feitas por um avaliador que considerou que o animal estivesse dormindo quando: o seu comportamento de imobilidade era combinado com uma postura encolhida (bola) em um dos cantos da caixa, colocando a cabeça junto e sob o corpo (**Figura 3A**). Isso ocorre devido que no ciclo claro os ratos tendem a dormir na postura de bola, com os olhos fechados e em contato com um dos cantos da caixa, pois a claridade é um estímulo aversivo para esses animais (VAN BETTERAY et al., 1991). Seguindo este critério, foi contabilizado o tempo de latência para dormir,

o número de despertar e o tempo total que o animal passou dormindo (**Tabela 1**). O avaliador também estava cego para o grupo experimental.

**Figura 3.** Análise comportamental do sono.



As duas imagens mostram os animais em imobilidade, porém, na primeira imagem (A) o animal está numa postura encolhida (bola) e na segunda imagem (B) ele permanece com a cabeça erguida, uma postura que constantemente era alternada com movimentos e não foi considerada dormindo. Fonte: autor, a partir dos dados de VAN BETTERAY et al., 1991.

**Tabela 1.** Avaliação comportamental do sono.

AVALIAÇÃO	COMPORTAMENTO
LATÊNCIA PARA DORMIR	Tempo para adotar a postura de imobilidade em bola.
NÚMERO DE DESPERTARES	Número de vezes que o animal sai da postura de bola.
TEMPO DE SONO	do tempo total que o animal permanece imóvel na postura de bola.

A coluna da esquerda mostra os três aspectos avaliados no teste e a coluna da direita os critérios analisados em cada item.

### 2.13 Quantificação da concentração de citocinas e BDNF

Após o término de todos os experimentos, os animais foram eutanasiados por overdose de CO<sub>2</sub> e assim retirados córtex pré-frontal e hipocampo. Essas estruturas foram armazenadas a -80°C, para posterior dosagem de BDNF e das citocinas pró-inflamatórias (IL-6, IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ ) e anti-inflamatória (IL-10), por meio do teste enzimático ELISA, conforme recomendação do fabricante, da empresa R&D Systems.

As amostras foram homogeneizadas em uma solução de PBS (solução salina tamponada com fosfato) contendo Tween 20 (0,05%), fluoreto de fenilmetilsulfonil (PMSF, 0,1 mM), ácido etilenodiaminotetracético (EDTA, 10 mM), aprotinina (2 ng/ml) e cloreto de benzetônio (0,1 mM). Em seguida, foram centrifugadas a 3000 r.p.m (10 min, 4°C), sendo o sobrenadante coletado para as análises. As proteínas totais foram avaliadas conforme o método de Bradford, e os níveis de citocinas inflamatórias e BDNF foram verificados de acordo com as recomendações dos fabricantes dos kits de ELISA para ratos (R&D Systems, Minneapolis, MN, EUA; ThermoFisher Scientific, Massachusetts, EUA). As leituras de absorbância foram realizadas em um leitor TECAN, no comprimento de onda da 450 nm. O avaliador estava cego para o grupo experimental.

### 2.14 Análise estatística

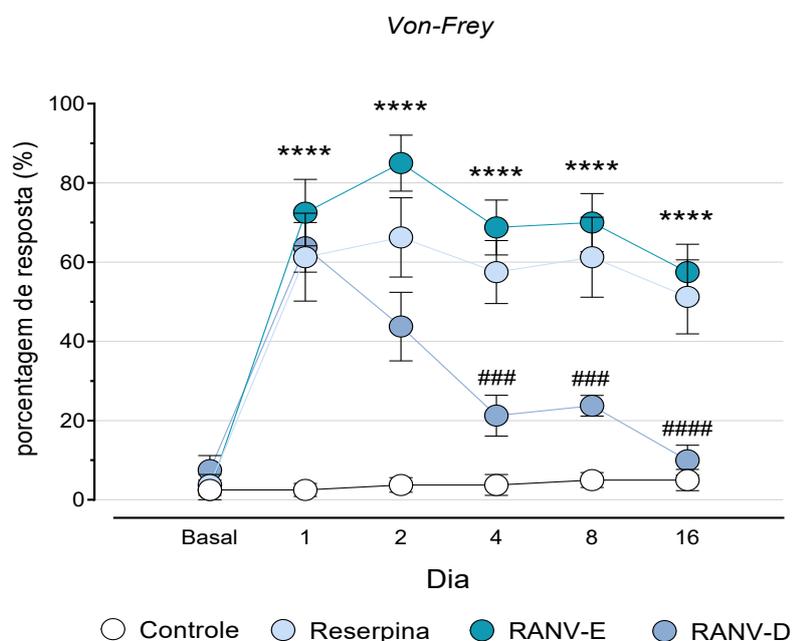
Todos os dados passaram por teste de normalidade de Shapiro-Wilk e seus resultados são apresentados com erro padrão da média (EPM) para cada grupo, avaliados estatisticamente por ANOVA de uma e duas vias com medidas repetidas, seguida por *pos-hoc* de Tukey. Todos com múltiplas comparações, utilizando o *GraphPad Prism Versão 7.0* (*GraphPad Software, Inc., San Diego, CA*). Os valores de  $p < 0,05$  foram considerados como indicativos de significância.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Alodínia mecânica

Os resultados apresentados na **Figura 4** mostram que os grupos Reserpina (DM -58,75; 95% IC -82,01 a -35,49), RANV-E (DM -70,00; 95% IC -93,26 a -46,74) e RANV-D (DM -61,25; 95% IC -84,51 a -37,99) tiveram um aumento significativo no percentual de resposta no primeiro dia após a última aplicação de reserpina, comparados ao grupo controle. No quarto dia, apenas o grupo RANV-D apresentou redução significativa no percentual de resposta em relação ao grupo Reserpina (DM 36,25; 95% IC 12,99 a 59,51), que se seguiu nos demais dias. Também é possível observar que não existe diferença significativa entre o grupo que recebeu acupuntura no RANV-E, quando comparado com o grupo Reserpina. Esses dados indicam que a estimulação por acupuntura no RANV-D foi eficaz em reduzir o comportamento de alodínia mecânica induzido pela reserpina.

**Figura 4.** Efeito da estimulação do RANV sobre o limiar mecânico (von-Frey) no modelo de fibromialgia induzida por reserpina.

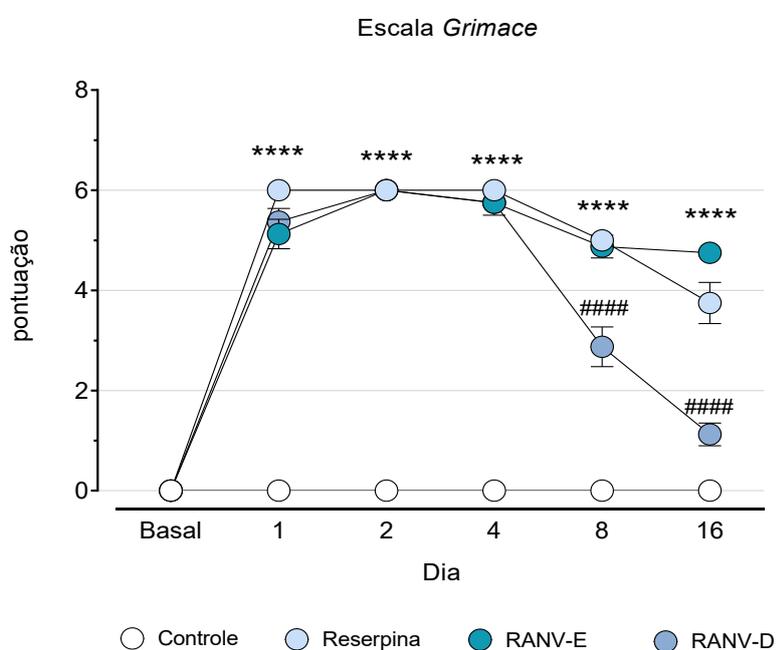


Os resultados representam a média de 8 animais por grupo e as linhas verticais indicam o erro padrão da média (E.P.M.). Os asteriscos mostram o nível de significância estatística em relação ao grupo controle e os sustentados em relação ao grupo reserpina. (ANOVA de duas vias com medidas repetidas, seguida por *pos-hoc* de Tukey), \*\*\*\* $p < 0,0001$ , ### $p < 0,001$  e ##### $p < 0,0001$ .

### 3.2 Percepção de dor espontânea pela Escala *Grimace* (EG)

Os resultados apresentados na **Figura 5** mostram que os grupos Reserpina (DM -6,00; 95% IC -6,644 a -5,356), RANV-E (DM -5,12; 95% IC -5,769 a -4,481) e RANV-D (DM -5,37; 95% IC -6,019 a -4,731) tiveram um aumento significativo na pontuação da EG no primeiro dia após a última aplicação de reserpina, comparados ao grupo controle. No oitavo dia, apenas o grupo RANV-D apresentou redução na pontuação da EG em relação ao grupo Reserpina (DM 2,12; 95% IC 1,481 a 2,769), que se seguiu no 16º dia. Também é possível observar que não existe diferença significativa entre o grupo que recebeu acupuntura no RANV-E, quando comparado com o grupo Reserpina. Esses dados indicam que a estimulação por acupuntura no RANV-D foi eficaz em reduzir o comportamento que reflete a dor espontânea induzida pela reserpina.

**Figura 5.** Efeito da estimulação do RANV na percepção de dor espontânea no modelo de fibromialgia induzida por reserpina.

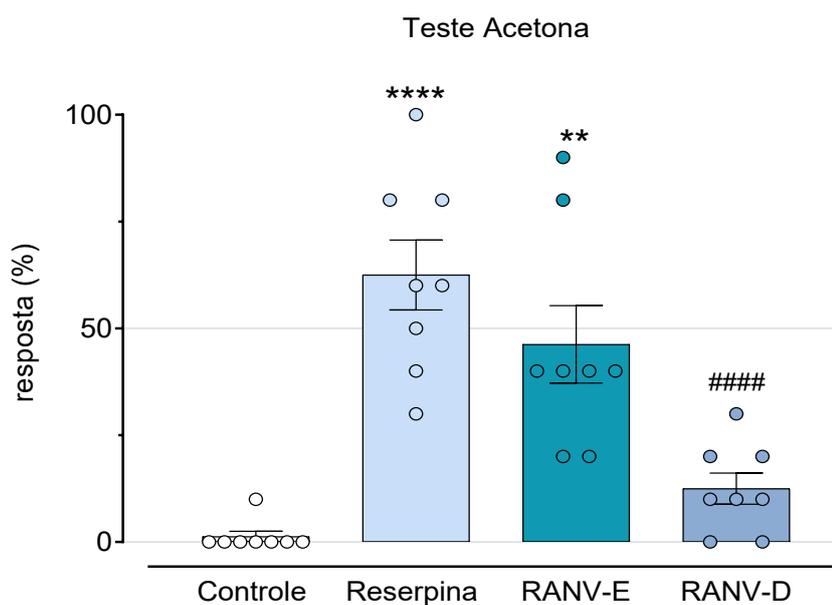


Estimulação do RANV na Os resultados representam a média de 8 animais por grupo e as linhas verticais indicam o erro padrão da média (E.P.M.). Os asteriscos mostram o nível de significância estatística em relação ao grupo controle e os sustentados em relação ao grupo reserpina. (ANOVA de duas vias com medidas repetidas, seguida por *pos-hoc* de Tukey), \*\*\*\* $p < 0,0001$  e #### $p < 0,0001$ .

### 3.3 Hiperalgesia térmica ao frio

Os resultados apresentados na **Figura 6** mostram que, comparados ao grupo controle, os animais do grupo reserpina (DM -61,25; 95% IC -85,96 a -36,54) e RANV-E (DM -45,00; 95% IC -69,71 a -20,29) tiveram um aumento significativo no tempo de resposta positiva durante o teste de acetona. Contudo, o tratamento de acupuntura sobre o RANV-D reduziu o tempo de resposta (DM 50,00; 95% IC 25,29 a 74,71), comparado ao grupo Reserpina. Estes dados indicam que a estimulação por acupuntura no RANV-D foi eficaz em reduzir a hiperalgesia térmica ao frio induzida pela reserpina.

**Figura 6.** Efeito da estimulação do RANV na hiperalgesia térmica ao frio, pelo teste da acetona, no modelo de fibromialgia induzida por reserpina.

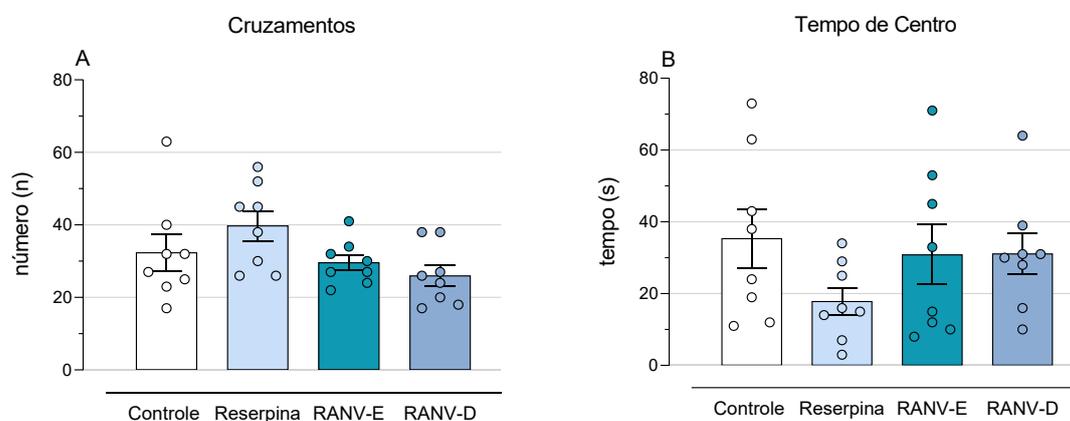


Os resultados representam a média de 8 animais por grupo e as linhas verticais indicam o erro padrão da média (E.P.M.). Os asteriscos mostram o nível de significância estatística em relação ao grupo controle e os sustentados em relação ao grupo reserpina. (ANOVA de uma via seguida por *pos-hoc* de Tukey), \*\*\*\* $p < 0,0001$ , \*\* $p < 0,01$  e #### $p < 0,0001$ .

### 3.4 Atividade motora

Os resultados apresentados na **Figura 7** mostram que não houve diferença entre os quatro grupos em relação ao número de cruzamentos (**Figura 7A**) e no tempo que os animais permaneceram no centro do campo aberto (**Figura 7B**). Estes dados indicam que a reserpina e a acupuntura sobre o RANV não influenciaram a atividade motora dos animais.

**Figura 7.** Efeito da estimulação do RANV sobre atividade motora no modelo de fibromialgia induzida por reserpina.

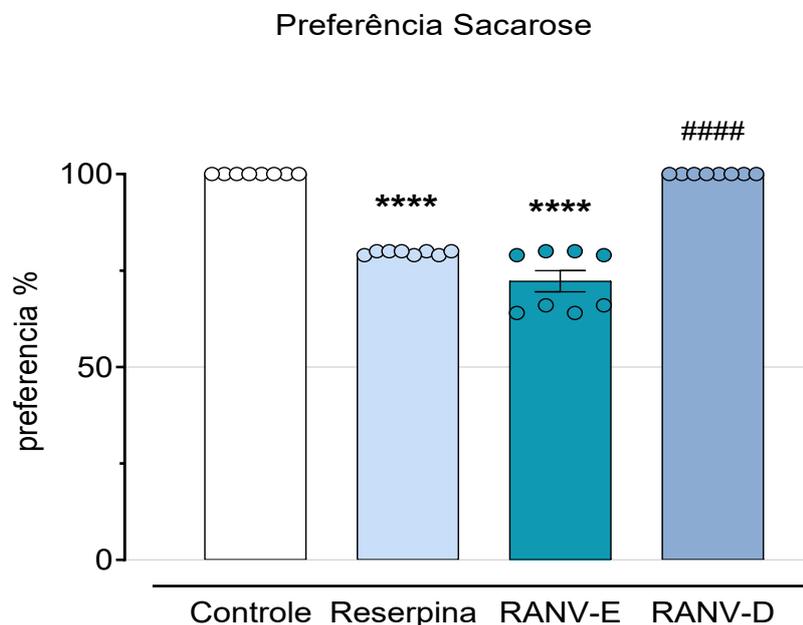


Os resultados representam a média de 8 animais por grupo e as linhas verticais indicam o erro padrão da média (E.P.M.). ANOVA de uma via seguida por *pos-hoc* de Tukey.

### 3.5 Comportamento tipo anedônico

Os resultados apresentados na **Figura 8** mostram que, comparados ao grupo controle, os animais do grupo reserpina tiveram uma redução no consumo de sacarose (DM 20,38; 95% IC 15,04 a 25,71), assim como os animais do grupo RANV-E (DM 27,75; 95% IC 22,42 a 33,08). Contudo, o tratamento de acupuntura sobre o RANV-D aumentou o consumo de sacarose (DM -20,38; 95% IC -25,71 a -15,04), quando comparado ao grupo Reserpina. Estes dados indicam que a estimulação do RANV-D por acupuntura reverteu o comportamento tipo anedônico induzido pela reserpina.

**Figura 8.** Efeito da estimulação do RANV sobre o comportamento tipo anedônico no modelo de fibromialgia induzida por reserpina.

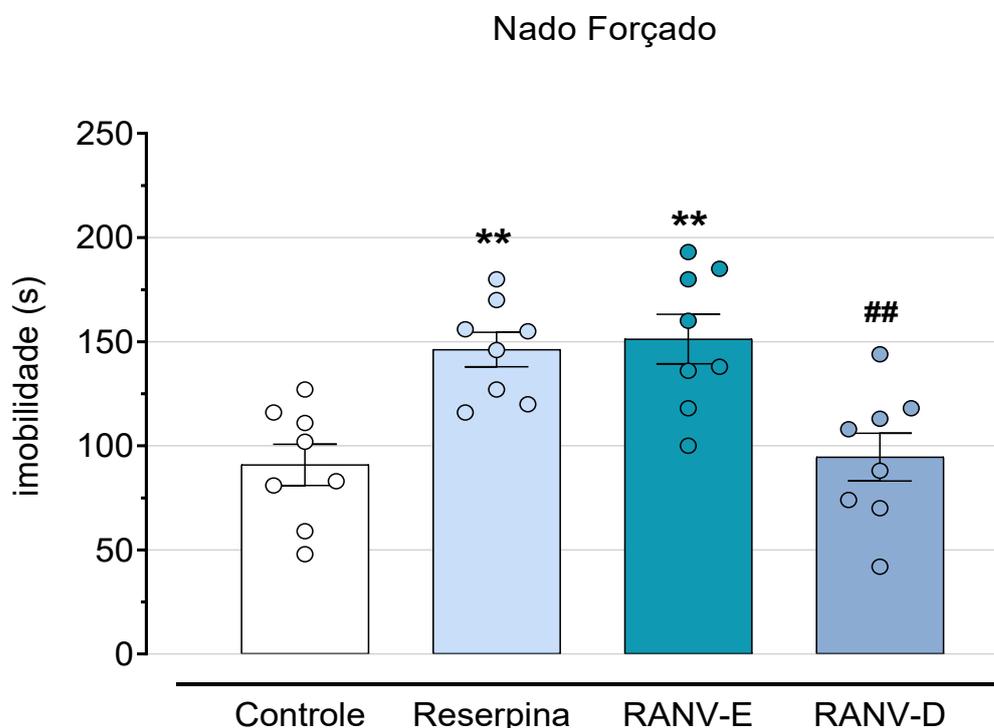


Os resultados representam a média de 8 animais por grupo e as linhas verticais indicam o erro padrão da média (E.P.M.). Os asteriscos mostram o nível de significância estatística em relação ao grupo controle e os sustentados em relação ao grupo reserpina. (ANOVA de uma via seguida por *pos-hoc* de Tukey), \*\* $p < 0,01$ , \*\*\*\* $p < 0,0001$  e #### $p < 0,0001$ .

### 3.6 Comportamento tipo depressivo

Os resultados apresentados na **Figura 9** mostram que, comparados ao grupo controle, os animais do grupo Reserpina tiveram um aumento significativo no tempo de imobilidade (DM -55,38; 95% IC -95,84 a -14,91), assim como os animais do grupo RANV-E (DM -60,38; 95% IC -100,8 a -19,91), no teste do nado forçado. Contudo, é possível observar que no grupo que recebeu acupuntura no RANV-D teve uma redução significativa no tempo de imobilidade (DM 51,63; 95% IC 11,16 a 92,09), quando comparado ao grupo Reserpina. Estes dados indicam que a estimulação por acupuntura no RANV-D foi eficaz em reduzir o comportamento tipo depressivo induzido pela reserpina, visto que os animais não apresentaram alterações na atividade locomotora no teste do campo aberto.

**Figura 9.** Efeito da estimulação do RANV no comportamento tipo depressivo no modelo de fibromialgia induzida por reserpina.

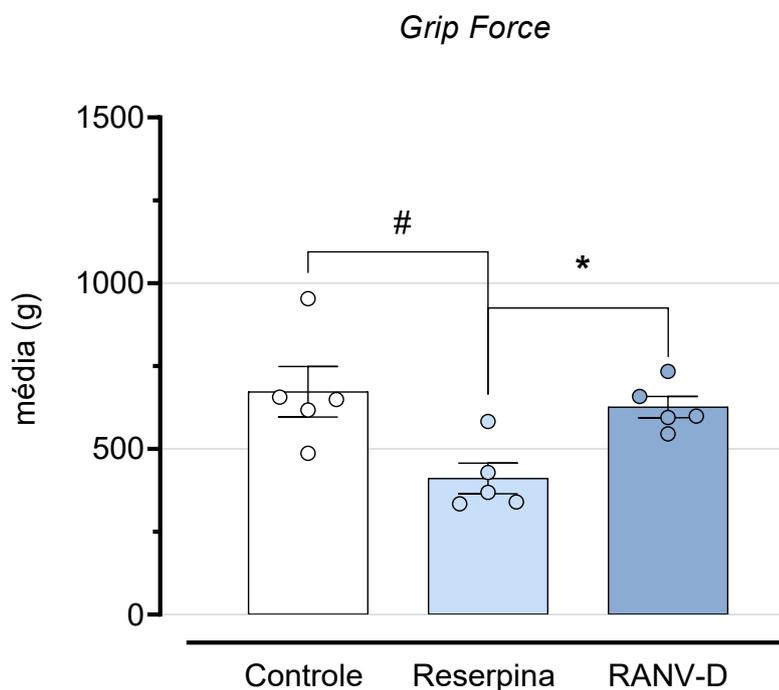


Os resultados representam a média de 8 animais por grupo e as linhas verticais indicam o erro padrão da média (E.P.M.). Os asteriscos mostram o nível de significância estatística em relação ao grupo controle e os sustentados em relação ao grupo reserpina. (ANOVA de uma via, seguida por *pos-hoc* de Tukey), \*\* $p < 0,01$  e ## $p < 0,01$ .

### 3.7 Avaliação da força de preensão dos membros anteriores

Os resultados apresentados na **Figura 10** mostram que os animais que receberam reserpina e não foram tratados tiveram uma redução significativa na força de preensão dos membros anteriores (DM 261,4; 95% IC 54,42 a 468,4), quando comparado ao grupo controle. Contudo, o tratamento com acupuntura sobre o RANV-D reverteu a redução de força (DM -215,2; 95% IC -422,2 a -8,218) dos membros anteriores. Estes dados indicam que a estimulação por acupuntura do RANV-D foi eficaz em preservar a força modelo de fibromialgia induzida por reserpina.

**Figura 10.** Efeito da estimulação do RANV-D na força dos membros anteriores no modelo de fibromialgia induzida por reserpina.

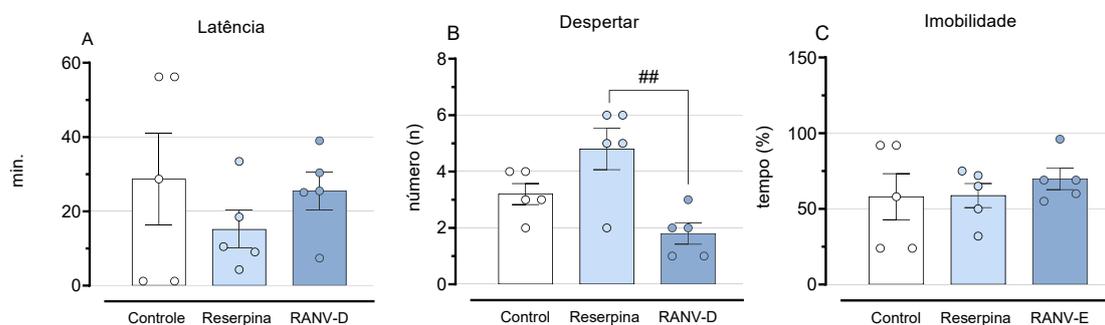


Os resultados representam a média de 5 animais por grupo e as linhas verticais indicam o erro padrão da média (E.P.M.). O asterisco mostra o nível de significância estatística em relação ao grupo controle (ANOVA de uma via, seguida por *pos-hoc* de Tukey),  $^{\#}p < 0,05$ .

### 3.8 Avaliação comportamental do sono

Os resultados apresentados na **Figura 11** mostram que não houve diferença entre os três grupos em relação a latência ou tempo de imobilidade (**Figura 11 A-B**). Contudo, a **Figura 11B** mostra que os animais que receberam reserpina e foram tratados com acupuntura sobre o RANV-D tiveram uma redução significativa no número de despertar, quando comparados ao grupo Reserpina (DM 3.000; 95% IC 1,027 a 4,973). Estes dados indicam que a estimulação por acupuntura do RANV-D influenciou no comportamento do sono dos animais por meio do número de vezes que os animais despertaram.

**Figura 11.** Efeito da estimulação do RANV-D no comportamento do sono.

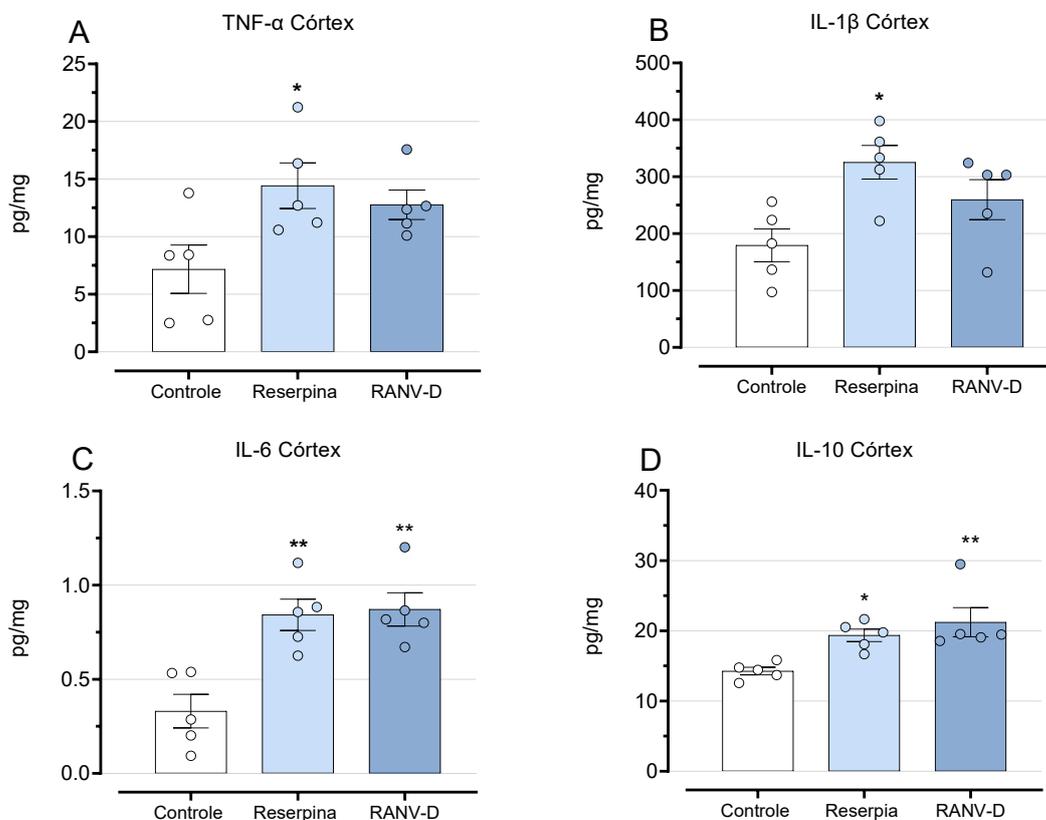


Os resultados representam a média de 5 animais por grupo e as linhas verticais indicam o erro padrão da média (E.P.M.). Os asteriscos mostram o nível de significância estatística em relação ao grupo controle e os sustentados em relação ao grupo reserpina. (ANOVA de uma via, seguida por *post-hoc* de Tukey), ## $p < 0,01$ .

### 3.9 Quantificação da concentração de citocinas e BDNF

Os resultados apresentados na **Figura 12 A-D** mostram que os animais do grupo Reserpina tiveram um aumento significativo na concentração de TNF- $\alpha$  (DM -7,25; 95% IC -14,13 a -0,38), IL-1 $\beta$  (DM -146,1; 95% IC -264,1 a -28,08), IL-6 (DM -0,51; 95% IC -0,84 a -0,18) e IL10 (DM -5,09; 95% IC -10,14 a -0,037), quando comparados com o grupo controle, e o tratamento com acupuntura sobre o RANV não foi capaz de reverter esse aumento.

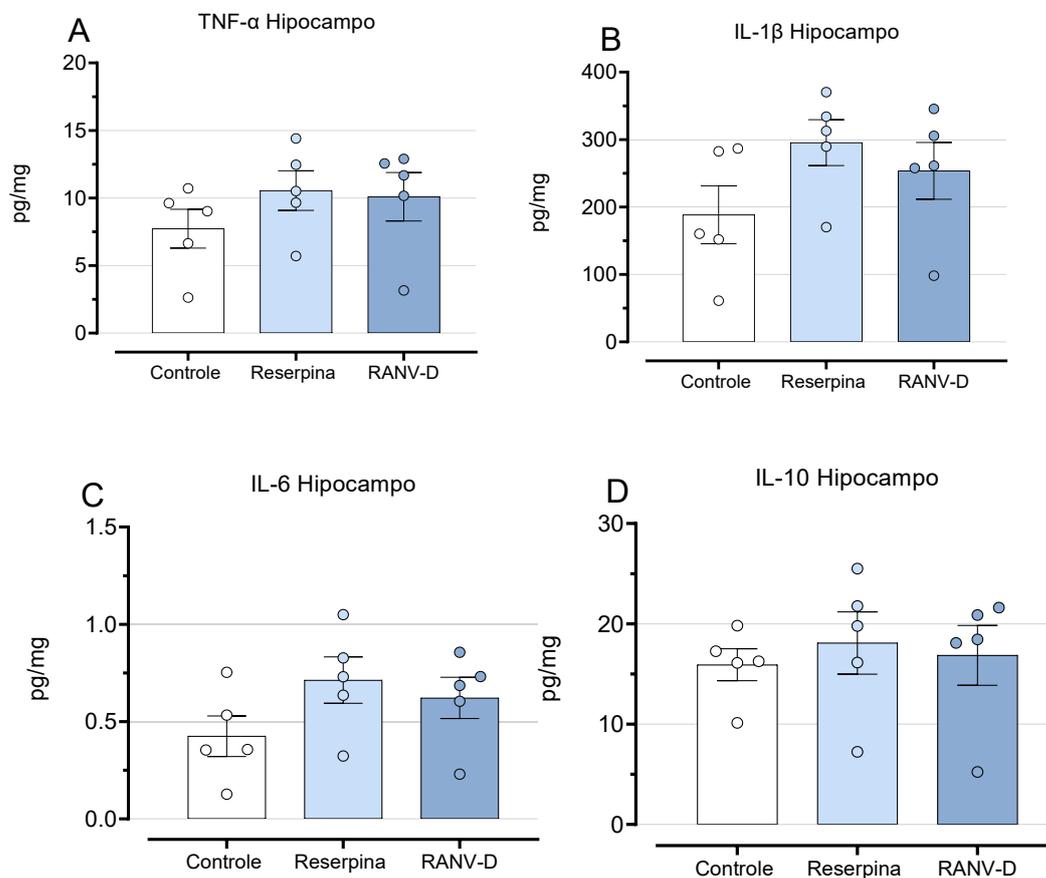
**Figura 12.** Efeito da estimulação do RANV-D por acupuntura na concentração de citocinas no córtex no modelo de fibromialgia induzida por reserpina.



Os resultados representam a média de 5 animais por grupo e as linhas verticais indicam o erro padrão da média (E.P.M.). Os asteriscos mostram o nível de significância estatística em relação ao grupo controle e os sustentados em relação ao grupo reserpina. (ANOVA de uma via, seguida por *pos-hoc* de Tukey), \*\* $p < 0,01$  e \* $p < 0,05$ .

Os resultados apresentados na **Figura 13 A-D** mostram que tanto a reserpina, como o tratamento com acupuntura sobre o RANV-D, não influenciaram significativamente na concentração das citocinas TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6 e IL-10 no hipocampo dos animais.

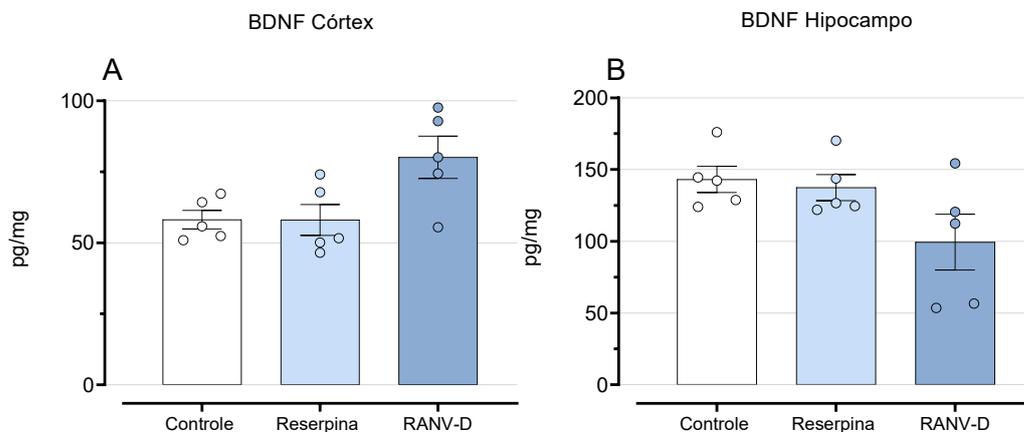
**Figura 13.** Efeito da estimulação do RANV-D por acupuntura na concentração de citocinas no hipocampo no modelo de fibromialgia induzida por reserpina.



Os resultados representam a média de 5 animais por grupo e as linhas verticais indicam o erro padrão da média (E.P.M.). ANOVA de uma via, seguida por *pos-hoc* de Tukey.

Os resultados apresentados na **Figura 14** mostram que tanto a reserpina, como o tratamento com acupuntura sobre o RANV-D, não influenciaram significativamente na concentração de BDNF no córtex pré-frontal e no hipocampo dos animais.

**Figura 14.** Efeito da estimulação do RANV-D na concentração de BDNF.



Os resultados representam a média de 5 animais por grupo e as linhas verticais indicam o erro padrão da média (E.P.M.). ANOVA de uma via, seguida por *pos-hoc* de Tukey.

#### 4. DISCUSSÃO

A FM continua sendo um grande desafio para clínicos e pesquisadores. Ainda não existe consenso sobre as suas causas, assim como um padrão ouro de tratamento. O uso de fármacos, pelo menos de forma isolada, se mostra clinicamente eficaz em menos da metade dos pacientes tratados (SARZIPPOTTINI et al., 2020). Nesse sentido, a combinação de terapias pode ser uma forma de individualizar o tratamento e centralizá-lo no paciente. Sendo assim, novos estudos são necessários para melhorar o manejo dessa condição. Nosso estudo se propôs a investigar a ação da estimulação do RANV por meio de acupuntura, usando o modelo experimental de indução de FM em ratos por reserpina.

A reserpina é um alcalóide que bloqueia o transporte vesicular de monoaminas, levando a um quadro de hiperalgesia muscular, alodinia e aumento do comportamento tipo depressivo (FAVERO et al., 2017; KISO et al., 2018). A administração de reserpina em ratos aumenta o tempo de imobilidade dos animais no nado forçado, um comportamento avaliado tipo depressivo, além de provocar alodínea mecânica (TAGUCHI et al. 2015; SHIBRYA et al., 2017). Embora tenhamos usado a diluição da reserpina em solução salina, nossos

resultados mimetizam os estudos que usam diluição em ácido acético, induzindo dor generalizada e comportamento tipo depressivo. Demonstramos que os animais que receberam reserpina desenvolveram alodínea mecânica, hiperalgesia ao frio, perda de força e comportamento tipo depressivo, corroborando com os resultados de outros estudos (TAGUCHI et al., 2015; SHIBRYA et al., 2017; FAVERO et al., 2017; KISO et al., 2018; NAGAKURA et al. 2019). Os animais que receberam reserpina tiveram aumento significativo na alodínea mecânica e na dor espontânea, avaliada por meio da EG, até o final dos experimentos (16 dias), demonstrando que nosso modelo de FM mimetizou uma condição crônica, da mesma forma como demonstrado por Nakamura et al. (2019).

Em nosso presente estudo, o tratamento por acupuntura no RANV-D se mostrou eficaz no controle da dor, força e na melhora do comportamento tipo depressivo, resultado este, que não foi alcançado com a acupuntura no RANV-E. Salientamos que uma série de estudos de acupuntura no RANV, em modelos de dor em ratos, já foram realizados, porém esses estudos usaram condições de nocicepção aguda, como o teste do ácido acético intraperitoneal ou carraginitina na pata (CHUNG et al., 2011). Além disso, é importante destacar que os resultados obtidos nesses estudos foram com tratamento bilateral ou através do ramo esquerdo dos animais (CHUNG et al., 2011; ŻUROWSKI et al., 2012).

A partir dos nossos primeiros resultados dentro do modelo de reserpina, nossos experimentos focaram em investigar somente a intervenção sobre o RANV-D. No primeiro deles, utilizando a análise comportamental do sono dos animais durante o ciclo claro, demonstramos que nosso modelo de reserpina não influenciou no tempo total que os animais permaneceram dormindo, na latência ou no número de despertares. No entanto a estimulação com acupuntura sobre o RANV-D foi capaz de reduzir o número de despertares, comparado aos dois demais grupos. Com exceção do estudo de Van Betteray et al. (1991), tivemos dificuldade para encontrar publicações que avaliassem a qualidade do sono de ratos por meio do comportamento, pois os estudos costumam utilizar análises por EEG e EMG (MCKENNA et al., 2008; RUNNOVA et al., 2021). Acreditamos que a análise da qualidade do sono de forma comportamental em ratos é uma metodologia possível, simples e barata, além de mimetizar aspectos que são

avaliados clinicamente em humanos. Contudo, incentivamos que essa metodologia seja melhor estudada.

Nosso modelo de indução de FM por reserpina aumentou a concentração das citocinas TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-10 no córtex pré-frontal dos animais. O aumento de citocinas pró-inflamatórias como TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6 já são bem descritos em estudos com fibromialgia e essas citocinas parecem estar bastante envolvidas na sinalização da dor e na depleção da atividade do eixo HPA, contribuindo para as condições de fadiga e depressão, influenciando diretamente o estado motivacional (GUR, 2008). Embora nosso tratamento não tenha revertido os aumentos das citocinas no córtex pré-frontal, em modelos de dor aguda a eletroestimulação transcutânea do RANV bilateral foi capaz de reverter o aumento da concentração de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6 no soro dos animais (ZHAO et al. 2012). No modelo de insuficiência cardíaca em ratos, para avaliar o efeito antiinflamatório do tratamento por eletroestimulação transcutânea no RANV, a análise por PCR das citocinas IL-6, IL1- $\beta$  e TNF- $\alpha$  no tronco encefálico e prosencéfalo, também mostrou que tratamento foi revertido o aumento de IL-6 no tronco encefálico e de IL1- $\beta$  no prosencéfalo (SUBRAMANIAN et al. 2020).

Em estudos com intervenção invasiva, os níveis aumentados de citocinas IL-6, IL-1 $\beta$  no hipocampo de ratos submetidos a um modelo de epilepsia foram reduzidos após a eletroestimulação invasiva do ramo cervical esquerdo do vago (QI et al. 2022). A eletroestimulação invasiva do nervo vago cervical direito também revertido o aumento das citocinas IL-6, IL-1 $\beta$  no hipocampo de ratos com dor generalizada e comportamento tipo depressivo, causados por estresse contínuo (NAMGUNG et al. 2022).

Analisamos a concentração da citocina antiinflamatória IL-10 e curiosamente nossos resultados demonstraram que os animais que receberam reserpina tiveram um aumento de IL-10 no córtex. Fizemos nossa coleta de estruturas no décimo sexto dia de experimento e esses dados podem indicar um possível processo de restauração após a fase M1 do processo inflamatório, sinalizando uma mudança para a fase M2, corroborando com demais achados que também trabalharam com a administração de reserpina em ratos e analisaram a coleta de estruturas após o vigésimo dia da indução (CUNHA et al. 2022).

Embora a nossa intervenção de estimulação do RANV-D por acupuntura não tenha aumentado significativamente a concentração de BDNF, podemos notar uma tendência de aumento no córtex pré-frontal, quando comparado aos demais grupos. O BDNF é uma neurotrofina chave para neuroplasticidade e que é encontrada em grandes concentrações no hipocampo e córtex, estudos com estimulação vagal demonstram aumento de fatores neurotróficos no córtex de ratos, entre eles o BDNF (FOLLESA et al., 2007). O nervo vago desempenha um papel importante nas neurotrofinas, a partir das conexões do NTS com o núcleo parabraquial e para diversas regiões encefálicas, com destaque para o hipocampo e córtex. Nesse sentido, a vagotomia produz importante redução das neurotrofinas, e a estimulação de um vago íntegro é capaz de aumentar a concentração de BDNF no córtex e diminuir no hipocampo (ROSSO et al. 2020).

#### 4. CONCLUSÃO

Nossos resultados demonstraram que a acupuntura realizada sobre o RANV-D, mas não sobre o RANV-E, foi capaz de reverter as respostas comportamentais impostas pelo modelo de FM induzido por reserpina em ratas, mas não influenciou na concentração de citocinas e BDNF no córtex e no hipocampo dos animais.

#### 5. REFERÊNCIAS

BREIT, S.; KUPFERBERG, A.; ROGLER, G. et al. Vagus nerve as modulator of the brain-gut axis in psychiatric and inflammatory disorders. **Front Psychiatry**. 13(9):44, 2018.

BRUM, E.S.; BECKER, G.; FIALHO, M.F.P. et al. Animal models of fibromyalgia: What is the best choice? **Pharmacol Ther**. 230:107959, 2022.

CABE, P.A.; TILSON, H.A.; MITCHELL, C.L. et al. A simple recording grip strength device. **Pharmacol Biochem Behav**. 8:101-102, 1978.

CHIMENTI, R.L.; FREY-LAW, L.A.; SLUKA, K.A. A Mechanism-Based Approach to Physical Therapist Management of Pain. **Phys Ther.** 98(5):302-14, 2018.

CHOI, Y.; YOON, Y.W.; NA, H.S. et al. Behavioral signs of ongoing pain and cold allodynia in a rat model of neuropathic pain. **Pain.** 59(3):369-376, 1994.

CHUNG, W.Y.; Zhang, H.Q.; Zhang, S.P. Peripheral muscarinic receptors mediate the anti-inflammatory effects of auricular acupuncture. **Chin Med.** 6(1): 1-8, 2011.

CONCEA. Brazilian guideline for the care and use of animals for scientific and educational purposes. **DBCA.** 2013.

CUNHA, D.M.G.; BECEGATO, M.; MEURER, Y.S.R. et al. Neuroinflammation in early, late and recovery stages in a progressive parkinsonism model in rats. **Front Neurosci.** 16:923957, 2022.

DEUIS, J.R.; DVORAKOVA, L.S.; VETTER, I. Methods Used to Evaluate Pain Behaviors in Rodents. **Front Mol Neurosci.** 10: 284, 2017.

DU SERT, N.P.; HURST, V.; AHLUWALIA, A. et al. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. **PLoS Biol.** 18(7):e3000410, 2020.

FAVERO, G.; TRAPLETTI, V.; BONOMIN, F. et al. Oral supplementation of melatonin protects against fibromyalgia-related skeletal muscle alterations in reserpine-induced myalgia rats. **Int J Mol Sci.** 18(7): 1389, 2017.

FERACO, P.; BACCI, A.; PEDRABISSI, F. et al. Metabolic abnormalities in pain-processing regions of patients with fibromyalgia: a 3T MR spectroscopy study. **AJNR Am J Neuroradiol.** 32:1585–90, 2011.

FOLAN-CURRAN, J.; HICKEY, K.; MONKHOUSE, W.S. Innervation of the rat external auditory meatus: a retrograde tracing study. **Somatosens Mot Res.** 11:65-68, 1994.

FOLLESA, P.; BIGGIO, F.; GORINI, G. Vagus nerve stimulation increases norepinephrine concentration and the gene expression of BDNF and bFGF in the rat brain. **Brain Res.** 1179:28-34, 2007.

FRØKJAER, J.B.; BERGMANN, S.; BROCK, C. et al. Modulation of vagal tone enhances gastroduodenal motility and reduces somatic pain sensitivity. **Neurogastroenterol Motil.** 28:592-598, 2016.

GALVEZ-SÁNCHEZ, C.M.; GUEVARA, C.M.L.; MONTORO, C.I. et al. Cognitive deficits in fibromyalgia syndrome are associated with pain responses to low intensity pressure stimulation. **PLoS One.** 13(8):e0201488, 2018.

GAO, X.Y.; ZHANG, S.P.; ZHU, B. et al. Investigation of specificity of auricular acupuncture points in regulation of autonomic function in anesthetized rats. **Auton Neurosci.** 138(1-2):50-6, 2008.

GUR, A.; OKTAYOGLU, P. Status of immune mediators in fibromyalgia. **Curr Pain Headache Rep.** 12(3):175-81, 2008.

HARRIS, R.E.; SUNDGREN, P.C.; CRAIG, A.D. et al. Elevated insular glutamate in fibromyalgia levels is associated with experimental pain. **Arthritis Rheum.** 60(10):3146-52, 2009.

HARRIS, R.E.; SUNDGREN, P.C.; PANG, Y. et al. Dynamic levels of glutamate within the insula are associated with improvements in multiple pain domains in fibromyalgia. **Arthritis Rheum.** 58(3):903-07, 2008.

HÄUSER, W.; BERNARDY, K.; UÇEYLER, N. et al. Treatment of fibromyalgia syndrome with antidepressants. A meta-analysis. **JAMA.** 301(2):198-209, 2009.

JOHNSON, R.L.; WILSON, C.G. A review of vagus nerve stimulation as a therapeutic intervention. **J Inflamm Res.** 11:203-213, 2018.

KINGERY, W.S.; AGASHE, G.S.; GUO, T.Z. et al. Isoflurane and nociception: spinal alpha<sub>2</sub>A adrenoceptors mediate antinociception while supraspinal alpha<sub>1</sub> adrenoceptors mediate pronociception. **Anesthesiology.** 96(2):367-74, 2002.

KISO, T.; MORIYAMA, A.; FURUTANI, M. et al. Effects of pregabalin and duloxetine on neurotransmitters in the dorsal horn of the spinal cord in a rat model of fibromyalgia. **Eur J Pharmacol.** 827:117-124, 2018.

LIM, L.W.; Temel, Y; Visser-Vandewalle, V. et al. Effect of buspirone on the behavioral regulation of rats in low versus high anxiety conditions. **Arzneimittelforschung.** 58: 269–76, 2008.

LU, X.; WANG, Y.; LIU, C. et al. Depressive disorder and gastrointestinal dysfunction after myocardial infarct are associated with abnormal tryptophan-5-hydroxytryptamine metabolism in rats. **PLoS One.** 12(2): e0172339, 2017.

LUEDTKE, K.; BOUCHARD, S.M.; WOLLER, S.A. et al. Assessment of depression in a rodent model of spinal cord injury. **J Neurotrauma,** 31(12):1107–21, 2014.

MATTSSON, J.L.; JOHNSON, K.A.; ALBEE, R.R. Lack of neuropathologic consequences of repeated dermal exposure to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in rats. **Fundam Appl Toxicol.** 6: 175-81, 1986.

MCKENNA, J.T.; CORDEIRA, J.W.; CHRISTIE, M.A. et al. Assessing sleepiness in the rat: a multiple sleep latencies test compared to polysomnographic measures of sleepiness. **J Sleep Res.** 17(4): 365–375, 2008.

MORÉ, A.O.O.; HARRIS, R.E.; NAPADOW, V. et al. Acupuncture Research in Animal Models: Rationale, Needling Methods and the Urgent Need for a Standards for Reporting Interventions in Clinical Trials of Acupuncture-Standards

for Reporting Interventions in Acupuncture Using Animal Models Adaptation. **J Altern Complement Med.** 27(3):193-197, 2021.

NAGAKURA, Y.; MIWA, M.; YOSHIDA, M. et al. Spontaneous pain-associated facial expression and efficacy of clinically used drugs in the reserpine-induced rat model of fibromyalgia. **Eur J Pharmacol.** 864:172716, 2019.

NAGAKURA, Y.; OE, T.; AOKI, T. et al. Biogenic amine depletion causes chronic muscular pain and tactile allodynia accompanied by depression: A putative animal model of fibromyalgia. **Pain.** 146(1-2):26-33, 2009.

NAMGUNG, U.; KIM, K.; JO, B.; et al. Vagus nerve stimulation modulates hippocampal inflammation caused by continuous stress in rats. **J Neuroinflamm.** 19: 33, 2022.

NEVES, M.L.; KARVAT, J.; SIMÕES, R.R.; et al. The antinociceptive effect of manual acupuncture in the auricular branch of the vagus nerve in visceral and somatic acute pain models and its laterality dependence. **Life Sci.** 15; 309:121000, 2022.

QI, R.; WANG, M.; ZHONG, Q. et al. Chronic vagus nerve stimulation (VNS) altered IL-6, IL-1 $\beta$ , CXCL-1 and IL-13 levels in the hippocampus of rats with LiCl-pilocarpine-induced epilepsy. **Brain Res.** 1780:147800, 2022.

RIAZ, M. S.; BOHLEN, M.O.; GUNTER, B.W. et al. Attenuation of social interaction-associated ultrasonic vocalizations and spatial working memory performance in rats exposed to chronic unpredictable stress. **Physiol Behav.** 152: 128–134, 2015.

ROOKS, D.S.; GAUTAM, S.; ROMELING, M. et al. Group exercise, education, and combination self-management in women with fibromyalgia a randomized trial. **Arch Intern Med.** 167(20): 2192-200, 2007.

ROSSO, P.; IANNITELLI, A.; PACITTI, F. et al. Vagus nerve stimulation and Neurotrophins: a biological psychiatric perspective. **Neurosci Biobehav. Rev.** 113: 338–53, 2020.

RUNNOVA, A.; ZHURAVLEV, M.; KISELEV, A. Automatic wavelet-based assessment of behavioral sleep using multichannel electrocorticography in rats. **Sleep Breath.** 25: 2251–58, 2021.

SARZI-PUTTINI, P.; GIORGI, V.; MAROTTO, D. et al. Fibromyalgia: an update on clinical characteristics, aetiopathogenesis and treatment. **Nat Rev Rheumatol.** 16(11): 645-660, 2020.

SHIBRYA, E.E.; RADWAN, R.R.; EL FATTAH, M.A.A. et al. Evidences for amelioration of reserpine-induced fibromyalgia in rat by low dose of gamma irradiation and duloxetine. **Int J Radiat Biol.** 93(5): 553-560, 2017.

SINGH, I. Reserpine in Hypertension. **Br Med J.** 1(4917):813-7, 1955.

SOTOCINAL, S.G.; SORGE, R.E.; ZALOUM, A. et al. The rat grimace scale: a partially automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expressions. **Mol Pain.** 7:55, 2011.

SUBRAMANIAN, M.; EDWARDS, L.; MELTON, A. et al. Non-invasive vagus nerve stimulation attenuates proinflammatory cytokines and augments antioxidant levels in the brainstem and forebrain regions of Dahl salt sensitive rats. **Scientific Reports.** 10:17576, 2020.

SUGERMAN, D.T. Fibromyalgia. **JAMA.** 311(15):1577, 2014.

TAGUCHI, T.; KATANOSAKA, K.; YASUI, M. et al. Peripheral and spinal mechanisms of nociception in a rat reserpine-induced pain model. **Pain.** 156(3):415-427, 2015.

TREEDE, R.D.; RIEF, W.; BARKE, A. et al. Chronic pain as a symptom or a disease: the IASP Classification of Chronic Pain for the International Classification of Diseases (ICD-11). **Pain**. 160(1):19-27, 2019.

TSILIONI, I.; RUSSELL, I.J.; STEWART, J.M. et al. Neuropeptides CRH, SP, HK-1, and inflammatory cytokines IL-6 and TNF are increased in serum of patients with fibromyalgia syndrome, implicating mast cells. **J Pharmacol Exp Ther**. 356: 664–72, 2016.

VAN BETTERAY, J.N.; VOSSSEN, J.M.; COENEN, A.M. Behavioural characteristics of sleep in rats under different light/dark conditions. **Physiol Behav**. 50(1):79-82, 1991.

WELLS, J.A.; SHIBATA, S.; FUJIKAWA, A. et al. Functional MRI of the reserpine-induced putative rat model of fibromyalgia reveals discriminatory patterns of functional augmentation to acute nociceptive stimuli. **Sci Rep**.7:38325, 2017.

YAMAMOTO, K.; TSUBOI, M.; KAMBE, T. et al. Oxaliplatin administration increases expression of the voltage-dependent calcium channel  $\alpha 2\delta$ -1 subunit in the rat spinal cord. **J Pharmacol Sci**. 130(2):117-22, 2016.

ZIMERMANN, M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. **Pain**. 16(2):109-10, 1983.

ZUROWSKI, D.; NOWAK, Ł.; WORDLICZEK, J. et al. Effects of vagus nerve stimulation in visceral pain model. **Folia Med Cracov**. 52(1-2): 57-69, 2012.

Capítulo 3 – protocolo clínico (submetido)

**Stimulation of the auricular branch of the vagus nerve by acupuncture in women with fibromyalgia: a randomized, controlled, double-blind, three-arm clinical trial protocol.**

Marcos Lisboa Neves (PT, MSc)<sup>a,c</sup>, Scheila Iria Kraus (BIO, MSc)<sup>a,c</sup>, Jeane Bachi Ferreira (PHARM GRAD)<sup>b,c</sup>, Guilherme Fleury Fina Speretta (PHED, PhD)<sup>a,b</sup>, Pedro Amaral (PT)<sup>a,c</sup>, Luiza Borges Gentil (MD)<sup>a,c</sup>, Igor Kunze Rodrigues (MD, PhD)<sup>d</sup>, Morgana Duarte da Silva (PT, PhD)<sup>a,b,c\*</sup>.

<sup>a</sup>Program of Post-graduation in Neuroscience, Federal University of Santa Catarina, University Campus, Trindade, Florianópolis, SC, 88040-900, Brazil.

<sup>b</sup>Department of Physiological Sciences, Center of Biological Sciences, Federal University of Santa Catarina, University Campus, Trindade, Florianópolis, SC, 88040-900, Brazil.

<sup>c</sup>Laboratory of Neurobiology of Pain and Inflammation (LANDI), Department of Physiological Sciences, Center of Biological Sciences, Federal University of Santa Catarina, University Campus, Trindade, Florianópolis, SC, 88040-900, Brazil.

<sup>d</sup>Hospital Regional de São José Dr. Homero de Miranda Gomes, HRSJ-HMG, Brazil.

\*Corresponding author: Marcos Lisboa Neves. Program of Post-graduation in Neuroscience, Federal University of Santa Catarina, University Campus, Trindade, Florianópolis, SC, 88040-900, Brazil.

E-mail: marcoslisboaneves@gmail.com; ORCID: 0000-0002-2487-236X.

## ABSTRACT

**Background:** Fibromyalgia (FM) affects 2–4% of the world's population and is characterized by complex polysymptomatology, including widespread chronic pain, fatigue, and unrefreshing sleep. There is currently evidence of auricular acupuncture being used for pain conditions, especially through stimulation of the auricular branch of the vagus nerve (ABVN). The purpose of this study is to evaluate the effect of ABVN stimulation by acupuncture in women with FM while observing pain indices and comparing the treatment performed on the left and right ears. In addition, we will analyze associated disorders such as depression, anxiety, catastrophic thinking, sleep quality, and functionality, as well as determine the blood concentration of inflammatory mediators and anti-inflammatory cytokines.

**Methods:** A randomized controlled trial will be conducted with assessors, statisticians, and participants – all blinded. The participants will be 51 adult women, aged between 18 - 65 years, and diagnosis of FM according to the American College of Rheumatology (ACR) criteria. Participants will be randomly allocated to: (1) ABVN-Right group; (2) ABVN-Left group; or (3) Sham group. The intervention will be carried out once a week, for four consecutive weeks. ABVN stimulation will be performed using two acupuncture needles in the superior and inferior regions of the concha of the right or left pavilion. After removing the needles, two vaccaria seed spheres will be fixed in the same place. The primary outcome will be the pain assessed by a numerical pain scale (NPRS). Other forms of assessing pain will be used as secondary outcome measures, such as algometry and generalized pain index questionnaires, fibromyalgia impact questionnaire, and catastrophic thoughts about pain scale. Other assessments will be conducted as: Beck Depression Inventory (BDI); Beck Anxiety Inventory (BAI); Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI); Specific Functional Scale; Heart rate variability (HRV); Pressure pain threshold (algometer); strength of the upper limbs (digital dynamometer); Blood pressure; blood oxygen saturation; blood glucose level; and cytokines analyses.

**Conclusions:** The findings will help provide evidence on ABVN stimulation. In addition, this study would also clarify data on symptoms and biological markers found in individuals with FM.

**Keywords:** pain, vagus nerve, fibromyalgia, acupuncture.

## INTRODUCTION

Approximately 2–4% of the world population has Fibromyalgia syndrome. Therefore this problem is the third most common musculoskeletal condition in terms of prevalence, just behind low back pain and osteoarthritis.<sup>1,2</sup> Fibromyalgia (FM) is characterized by a complex polysymptomatology including widespread chronic pain, fatigue, and unrefreshing sleep, as well as other symptoms not explained by structural or pathologically defined causes (functional symptoms), autonomic disturbances, cognitive dysfunction, somatic symptoms, and psychiatric disorders. The diagnosis of FM is strictly clinical due to the subjectivity of symptoms and the lack of biomarkers.<sup>3,4</sup>

FM pathogenesis is not fully understood. The main hypotheses state that there is a genetic predisposition, stressful life events, peripheral (inflammatory) and central (cognitive-emotional) mechanisms that interact to create pain perception due to neuromorphological modifications (“nociplastic pain”).<sup>4,5</sup> Currently, the detection of pro-inflammatory substances and organ-specific and non-specific autoantibodies in the serum of patients with FM has highlighted the role of neuroinflammation in this process. There is evidence of significant differences in peripheral blood cytokine profiles of patients with FM compared to healthy controls, including both pro-inflammatory (such as Tumor necrosis factor [TNF]- $\alpha$ , interleukin [IL]-6, IL-8) and anti-inflammatory (IL-10, IL-4, IL-5) cytokines, as well as chemokine and other substances.<sup>6,7,8</sup>

The involvement of many substances, and psychological, behavioral, and social factors make the treatment of FM difficult. The treatment of individuals with FM needs to be multimodal and involves aspects of the patient's education, physical exercises, pharmacotherapy, and psychotherapy. The combination of the use of complementary therapies in this multimodal approach has been suggested, and an increasing number of studies support the use of acupuncture for the treatment of FM.<sup>9,10</sup> Acupuncture involves stimulating points (acupoints) through the skin, especially with the use of needles. Acupuncture points can be identified on certain parts of the body, including the head, ear, or hand (i.e., scalp, auricular, and hand acupuncture, respectively).<sup>9,10</sup>

There is currently evidence of the use of auricular acupuncture in pain conditions, especially due to the availability of vagal stimulation in the auditory

pavilion.<sup>11</sup> The vagus nerve originates in the brainstem, runs down both sides of the neck and spreads through the organs of the chest and abdomen, but it also has a branch to the pinna, called the auricular branch of the vagus nerve (ABVN), reaching the center of the ear, where the auricular concha and the auditory canal are located.<sup>12</sup> Preclinical studies have shown that vagal stimulation effectively modulates pain, and the use of stimulation devices has been investigated in humans. However, there is a need for further studies that separately investigate the effects of ABVN stimulation and other therapies in FM, with longer follow-up and a larger number of patients.<sup>13,14</sup>

The primary purpose of this study is to evaluate the effect of ABVN stimulation by acupuncture in individuals with fibromyalgia while observing pain indices and comparing the treatment performed on the left and right ears. Furthermore, we will analyze associated problems such as depression, anxiety, catastrophic thinking, sleep quality and functionality. Additionally, we will conduct a pre-planned secondary analysis to determine the blood concentration of inflammatory mediators, as well as anti-inflammatory cytokines, in women with fibromyalgia. Finally, we will correlate the primary outcome, pain, with the secondary outcomes of depression, anxiety, catastrophic thinking, sleep quality, functionality, and the concentration of inflammatory and anti-inflammatory mediators.

## **METHODS**

### **Trial Design**

The study is a double-blind, randomized controlled clinical trial (patient and evaluator) and was designed following the SPIRIT guideline for randomized trials and will evaluate the effects of acupuncture ABVN stimulation in individuals with fibromyalgia and compare treatment performed in left and right ear. Figure 1 outlines the trial phases.

## Participants and Eligibility criteria

In this study, 51 adult women (randomized into three groups) will be recruited. The study eligibility criteria are women aged between 18 - 65 years; with the diagnosis of fibromyalgia (FM), according to the American College of Rheumatology (ACR) criteria. The participant will be evaluated and screened for eligibility under the supervision of the first researcher, a neurologist doctor, via telephone contact (**Figure 1**). Researcher 1 will take the initial data, verify the participant's eligibility and will apply the consent term. Participants will be ineligible (exclusion criteria) for participation if they have cancer; suspected or confirmed pregnancy; cognitive problems that compromise assessments or treatment, such as misunderstanding of questionnaires; unstable heart conditions; lesions in the ear pinna or absence thereof.

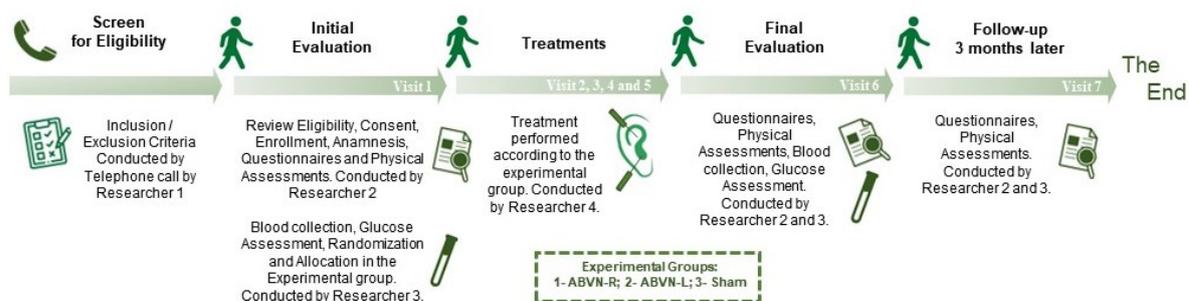
## Recruitment, Randomization, and Allocation

This research will be carried out in the Ambulatory rooms of the Department of Physiological Sciences, under the care of the Pain and Inflammation Neurobiology Laboratory (LANDI), located at the Biological Sciences Center (CCB) of the Federal University of Santa Catarina (UFSC), in Florianópolis, Santa Catarina, Brazil. Recruitment will be carried out in the city of Florianópolis (Santa Catarina, Brazil), through advertisements in the community and social networks. An anamnesis, questionnaires, physical assessments (Researcher 2), blood collection, and glucose assessment (Researcher 3) will be performed during the first visit.

The randomization process will be previously generated using Excel 2010 software (Microsoft), and the allocation in the experimental group will be performed after the procedure by the same researcher 3 (**Figure 1**). Each experimental group will receive a corresponding color (e.g., blue - ABVN-R stimulation; yellow - ABVN-L stimulation; green - Sham treatment) and papers with this description will be placed inside an opaque sealed envelope. Researcher 3 will draw the envelope, keeping it in the participant's folder. The envelope will

be opened only on the first treatment session by researcher 4, who is responsible for the treatments of the individuals. The envelope will be stored in a place accessed only by the team participating in the treatments.

**Figure 1.** Experimental design. Experimental treatments groups.



(1) auricular branch of the vagus nerve (ABVN)-Right (ABVN-R) stimulation; (2) ABVN-Left (ABVN-L) stimulation; and (3) Sham - simulated treatment will be performed.

### The research team and Blinding

The entire research team was previously trained, with the completion of a training course to qualify the team in the techniques and to standardize the assessments and treatments of this study. The course was conducted by researchers MLN and MDS, Physical therapists (PT), and acupuncturists with years of experience in the topics covered. The team comprises undergraduate and graduate students from the Federal University of Santa Catarina (UFSC), as well as volunteers (health professionals interested in scientific research).

Relevant information: (1) first, make contact with participants and perform the initial eligibility assessment; (2) each researcher is part of only one group, being an evaluator or a therapist; (3) all evaluators (researchers 2 and 3) are blinded to which experimental group the participant belongs to; (4) the therapies were under the responsibility of a physical therapist and a physician, they were called researcher 4 – the therapists are not part of the assessment team; (5) data tabulation and statistical analysis will be performed respectively by two individuals blinded to the experimental groups, where only they will have access to this data.

## Intervention

Patients screened and examined will be allocated to experimental groups: 1 - ABVN-R group; 2 - ABVN-L group; or 3 - Sham group. The therapists will treat the participants according to the proposed groups, and the intervention will be carried out once a week for four consecutive weeks. All participants will be directed to the treatment room (two rooms without mirrors or reflective objects were reserved), instructed to sit comfortably in a chair, next to a stretcher, and close to the needle disposal site. Participants are advised not to use their cell phones during treatment, and the appointment schedule is programmed so that participants do not meet in the corridors of the building, avoiding conversations between them.

ABVN-R group: ABVN stimulation will be performed using two Qi Zhou acupuncture needles (0.20 mm X 15 mm). The needles will be inserted using an applicator to a depth of 2-3 mm from the surface of the auricular skin in the superior (center of the conch crest) and inferior (center of the conch cava) regions of the concha of the right pavilion (ABVN). -R). They will be stimulated with manual half-turns in both directions - once per second, first to the right, then to the left, and so on for 30 seconds. At the end of the stimulation, the needles will be maintained for 10 minutes and then removed and discarded in front of the participant, prompting him to view the discard. Next, on the same two stimulated points, two vaccaria seed spheres will be placed, and fixed with microporous tape (Micropore – 3M). Patients will be instructed to stimulate each point for 10 seconds, three times daily (once per day shift). On the fourth day, the seeds must be removed by the patient. If they fall off spontaneously, the patient will be advised not to replace the auricular points. On the following week (day seventh after ABVN stimulation), participants should return for the next session, when the same procedure will be repeated.

ABVN-L group: the entire treatment procedure will be similar to the one described in the ABVN-R group; however, the stimulated auricular points will be in the left ear pavilion (L).

Sham group: simulated treatment will be performed. For this, the therapist will use the applicator in the upper (center of the conch crest) and inferior (center of the conch cava) regions of the shell of the left pavilion (ABVN-L), but without

the application of needles. Instead, a metal rod with a blunt tip and 1mm in diameter will be used.<sup>15,16</sup> The manual half-turns of the needles will be simulated, in the same way described above, for 30 seconds. At the end of the stimulation, the patient remains still for 10 minutes, and then the needle removal will be simulated. The therapist discreetly places a needle in her hand, places it close to the participant's ear, and then discards the object in the appropriate location, requesting the patient to visualize the discard. This sham acupuncture method has already been validated by Sherman (2002).<sup>16</sup> Next, on the same two stimulated points, two vaccaria seed husks will be fixed with microporous tape (Micropore – 3M). Patients will be instructed to keep the patches on until the next session. On the following week (day seventh after ABVN stimulation or placebo stimulation), participants should return for the next session, when the same procedure is repeated.

## **OUTCOME MEASURES**

### Primary Outcomes

Individuals with FM have widespread pain and increased sensitivity to mechanical pressure and cold temperatures. Therefore, the primary outcome will be the pain assessed by a numerical pain scale (NPRS).<sup>17,18</sup>

### Secondary Outcomes

Other forms of assessing pain will be used as secondary outcome measures, such as algometry and generalized pain index questionnaires, fibromyalgia impact questionnaire, and catastrophic thoughts about pain scale. In addition, FM is also characterized by the presence of several other symptoms, especially fatigue, and unrefreshing sleep, so measures to assess sleep, quality of life, fatigue, and function will be used, such as symptoms severity with patient specific functional scale and dynamometry. Moreover, autonomic system assessments and general health measures will be performed, such as checking blood pressure, heart rate variability, oxygen saturation, and glucose.

Importantly, the presence of psychiatric disorders will be verified with scales to assess depression and anxiety. Stimulation of the ABVN-R, but not the left branch, is linked to dopaminergic neurons in the brainstem, an essential neural circuit for motivation and reward,<sup>19</sup> so there may be a difference in the stimulation of the ABVN-R and ABVN-L. In this way, the observation of the effect and the difference between the data of these experimental groups (ABVN-R versus ABVN-L stimulation) will also be verified in the present research. Although there are no specific biochemical markers for the disease, measures of inflammatory and anti-inflammatory mediators, such as cytokines, will be analyzed. Data related to research outcomes will be collected by blinded evaluators at baseline, in four weeks, and three months after the first session, for all outcomes except blood analysis, which will be evaluated only at baseline and after four weeks of treatment. The importance of full follow-up will be emphasized and accompanied by the main researcher, and if any patient interrupts the treatment, she will be contacted by telephone to find out the reason. In case of withdrawal, her data will later be analyzed as an intention to treat.

#### Assessment of Pain

The Numerical Pain Scale (NPRS) is a unidirectional pain assessment instrument used in adults. It is a numerical version of the Visual Analogue Scale, in which an individual chooses the number (minimum of 0 and maximum of 10 points) that best describes the intensity of their pain (0 - no pain and 10 - worst pain ever).<sup>20</sup>

The Generalized Pain Index (GDI) is calculated as the sum of 19 body areas referred to as painful by patients, with one point for each area.

Meanwhile, the Symptom Intensity Scale (EIS) is composed of an assessment of symptoms such as fatigue, non-restorative sleep, cognitive disorders, and somatic disorders on a severity scale.<sup>21</sup>

Fibromyalgia Impact Questionnaire (FIQ) is the instrument that specifically assesses the quality of life in patients with FM, involving issues related to functional capacity, professional status, psychological disorders, and physical symptoms, including pain. The higher score represents a greater impact of fibromyalgia on quality of life, with the maximum score being 100.<sup>22</sup>

Finally, the Pain Catastrophizing Scale (PCS) is composed of two scales (coping and catastrophizing strategies) associated with the words almost never and almost always at their ends. Its internal correlation coefficient (Cronbach  $\alpha$ ) is 0.89, which suggests that the internal consistency of this scale is adequate.<sup>23</sup>

#### Other Evaluation Related to Fibromyalgia

The Beck Depression Inventory (BDI) is a self-rated measure of depression that consists of 21 items, including symptoms and attitudes. The items refer to sadness, pessimism, feelings of failure, lack of satisfaction, feelings of guilt, feelings of punishment, self-depreciation, self-accusations, suicidal thoughts, crying spells, irritability, social withdrawal, indecision, distortion of body image, work inhibition, sleep disturbance, fatigue, loss of appetite, weight loss, somatic worry, decreased libido. The internal consistency of the scale is 0.81 for females.<sup>24</sup>

The Beck Anxiety Inventory (BAI) consists of twenty-one questions about how the individual has been feeling in the last week, expressed in common anxiety symptoms such as sweating and feelings of distress. Each item has four possible answers, respectively: no, slightly, moderately, and severely. The Brazilian version showed good psychometric characteristics, with a Cronbach's  $\alpha$  of 0.88.<sup>25</sup>

The Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI) is a questionnaire that assesses sleep quality and its disturbances over a period of 1 month prior to its application. It was developed by Buysse and collaborators<sup>26</sup> and validated for Portuguese in 2011 by Bertolazi<sup>27</sup>. The global score ranges from 0 to 21, and the higher the score, the worse the sleep quality.<sup>26</sup>

The Specific Function Scale is an instrument where the patient reports the three items she considers herself most unable to perform in her activities of daily living. In addition to reporting the activities, the patient gives a score from 0 to 10 regarding her level of capacity for this activity, where 0 is totally incapable and 10 is totally capable.<sup>28</sup>

Heart rate variability (HRV) is considered the gold standard for quantitative autonomic balance, providing an indirect view of autonomic tone. It may also be an important marker of psychological well-being.<sup>29</sup> High HRV is related to good

adaptive capacity in different situations, or stimuli, just as low HRV can be associated with greater health risk.<sup>30</sup> Anxiety disorders are associated with reduced HRV, just as low HRV is associated with low parasympathetic activity.<sup>31</sup> The HRV assessment will be performed during the first and fourth consultations, with the patient sitting, using the Polar H10 equipment and the Elite HRV application, doing continuous recording for 20 minutes, 5 minutes at baseline before acupuncture, and 5 minutes after placing the needles or vaccaria seeds. The extracted data will be analyzed by the Kubios program.

Pressure pain threshold will be assessed using an algometer (JTECH Commander, Salt Lake City, USA). The pressure applied to the skin of the individuals will be performed three times at each point. These points feel the belly of the superior trapezius and tibialis anterior muscles. Pressure will be measured in pounds; peak pressure will be recorded automatically, and the average of three repetitions will be used for statistical analysis.<sup>32</sup>

The evaluation of the strength of the upper limbs, through handgrip, will be performed using a digital dynamometer (Instrutherm model DM-90) with a unit of measurement of a kilogram (Kg) and a maximum capacity of 90 kg and accuracy of +/-0.5kg. The patient will be sitting with the upper limb at 90 degrees and without assistance in supporting the instrument. The test will be performed three times on each limb, in a non-alternating manner, with a verbal encouragement command by the evaluator, holding for 3 seconds in maximum grip and an interval of 30 seconds between each test. The largest measure will be taken as a reference value on each side.<sup>33</sup>

Blood pressure will be checked using an automatic digital arm sphygmomanometer (Omron HEM-7122), while blood oxygen saturation will require using a finger oximeter (G-Tech Portable Oled Graph), and the blood glucose level will be verified through a capillary blood glucose test (ACCU CHEK ACTIVE – ROCHE).

Biomarker selection and measurement: Venous blood samples will be collected in test tubes containing a separation gel and centrifuged at 7000 rpm for 10 min (4 °C). The supernatant will be collected and stored in a -80°C freezer until analysis. Cytokines kits will be used to measure the serum levels of cytokines by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA, kits from R&D

Systems). 100  $\mu$ L of sample aliquots for each measurement of the following cytokines will be used in the present work: IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- $\alpha$ , and IFN- $\gamma$ . Sample processing will be performed according to the manufacturer's specifications. The absorbance for all cytokines studied will be performed using a plate reader of 450 and 570 nm (Multi-reader infinite m200 TECAN – LAMEB/UFSC). The investigators performing the assays will be blinded to the patient group.

## **DATA ANALYSIS**

The sample size was calculated using the MGH Biostatistics Center (Boston, MA) online program. The calculation will be performed by estimating a minimum detectable difference of 2 points on the numerical pain scale (NPRS) at the 12-week follow-up, with a significance level of 0.05 and a test power of 90%. This calculation generated a sample of 14 individuals per group, totaling 42 subjects. Assuming a conservative estimate of study dropout of 20%, the recruitment of 17 individuals per group was planned, totaling 51 participants<sup>34</sup>.

Descriptive data and scores for the primary outcome (NPRS) and secondary outcomes (questionnaires, physical assessments, and cytokines) before and after the interventions, as well as at follow-up, will be tabulated in Microsoft Excel 2016, maintaining the randomization numbering and the color of the groups, thus guaranteeing the confidentiality of the data. Shapiro's-Willkstest will be applied to test the normality distribution of the data; according to the distribution, one-way ANOVA will be applied for parametric data or the Kruskal-Walli's test for non-parametric data. Data will be represented by the mean and standard deviation of the mean. An analysis of covariance (ANCOVA) will be conducted to assess the effect of treatment on its outcomes: scores obtained from the questionnaires and the NPRS, using post-treatment means as dependent variables, pre-treatment means as covariates, and the group as a factor fixed.

## **MONITORING**

In this study, data will be managed by a blinded data entry and management team. The training course was carried out prior to the recruitment of participants, but the research team will hold periodic meetings every month, to review the safety, verify experiences and modify where appropriate. No formal audit is scheduled for this trial. Human subject approval will be maintained using a central system at the institution, and all needed amendments will be documented in the manual of procedures with corresponding updates to relevant parties.

## **RESEARCH ETHICS APPROVAL & CLINICAL TRIAL REGISTRATION**

The study was registered in the Brazilian Registry of Clinical Trials (RBR-10d3crct) after its approval by the Research Ethics Committee of the Federal University of Santa Catarina (CAAE 36783520.9.0000.0121). We have fewer than 50% of participants enrolled, and all of them will provide informed consent prior to participation in the trial, signing the Free and Informed Consent Form (ICF) before participating in the study. The checklist protocols were sent for review by the journal: (1) Standard Protocol Items: Recommendations for Interventional Trials (SPIRIT) statement; (2) CONSolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT) guidelines; and (3) Template for Intervention Description and Replication (TIDieR) checklist.

## **TRIAL RESULTS**

Data collection is expected to be completed by early 2023. Data analysis and manuscript preparation are expected to be completed in mid-2023. The research team intends to perform data analysis to publish the results in a peer-reviewed journal and present findings at professional conferences. Possible harm and adverse effects reported by patients will also be described in the results.

## **DISCUSSION**

This is the first large-scale study designed to assess the effect of ABVN stimulation by acupuncture in individuals with fibromyalgia. This study has the potential to provide information on auricular treatment and can substantially impact the field of rehabilitation, especially in patients with chronic pain, such as individuals with fibromyalgia. Importantly, especially for countries with a broad health system such as Brazil, the data from the present research may provide evidence for early intervention programs, which may include complementary therapies such as ABVN stimulation in the treatment of chronic diseases.

Unfortunately, a limitation of the study is the impossibility of blinding the therapists. Furthermore, this study is not going to be conducted multicentrically and will have only women in the sample, which may narrow our results down to just one population. In addition to the data on the therapy studied, the data from the present research can also provide evidence of biological markers found in individuals with fibromyalgia, serving as input for the diagnosis of the disease or its intensity. The results can directly impact health and rehabilitation professionals, policymakers, patients and their families.

## **AUTHOR CONTRIBUTIONS**

Concept / idea / research design: Marcos L. Neves, Morgana D. da Silva.

Writing: Marcos L. Neves, Jeane B. Ferreira, Scheila I. Kraus, Luiza B. Gentil, Igor K. Rodrigues, Morgana D. da Silva.

Data collection: Marcos L. Neves, Jeane B. Ferreira, Scheila I. Kraus.

Data analysis: Marcos L. Neves, Jeane B. Ferreira, Scheila I. Kraus, Guilherme F. F. Speretta, Morgana D. da Silva.

Project management: Marcos L. Neves.

Fund procurement: Marcos L. Neves, Guilherme F. F. Speretta, Morgana D. da Silva.

Providing facilities / equipment: Marcos L. Neves, Guilherme F. F. Speretta, Morgana D. da Silva.

Providing institutional liaisons: Morgana D. da Silva.

## **ROLE OF THE FUNDING SOURCE**

The funding agency has no role or responsibility in this study. The authors of this paper are the study's key personnel and were responsible for developing the study protocol. The neurologist had no role in developing the protocol's primary outcomes or intervention. However, he did require the addition of safety outcomes that are not included in this protocol paper.

## **ACKNOWLEDGMENT**

We are immensely grateful to Prof. Dr. Adair R. S. dos Santos, a great friend, and instructor, who contributed intensely to our work (Concept/idea / research design and Providing facilities) and recently passed away, being deeply missed. We also thank Neuroscience Post-Graduate Program at the Federal University of Santa Catarina (UFSC) and Multiuser Laboratory of Biology Studies (LAMEB/UFSC), as well as Programa INCT-INOVAMED (465430/2014-7) grant. The project was funded by the Foundation for Research Support and Innovation of the State of Santa Catarina (FAPESC), through the Public Call Notice Fapesc nº16/2020 – Research Program for SUS: shared management in health.

## **CONFLICTS OF INTEREST**

The authors declare no conflicts of interest.

## **REFERENCES**

1. Spaeth, M. Epidemiology, costs, and the economic burden of fibromyalgia. *Arthritis Res. Ther.* 2009; 11: 2–3.
2. Queiroz, L. P. Worldwide epidemiology of fibromyalgia. *Curr. Pain. Headache Rep.* 2013; 17: 356.

3. Talotta R, Bazzichi L, Di Franco M, et al. One year in review 2017: fibromyalgia. *Clin Exp Rheumatol*. 2017; 35: 6-12.
4. Sarzi-Puttini P, Giorgi V, Marotto D, Atzeni F. Fibromyalgia: an update on clinical characteristics, aetiopathogenesis and treatment. *Nat Rev Rheumatol*. 2020; 645-660.
5. Häuser W, Sarzi-Puttini P, Fitzcharles M.A. Fibromyalgia syndrome: under-, over- and misdiagnosis. *Clin. Exp. Rheumatol*. 2019; 37: 90–97.
6. Bazzichi L, Rossi A, Giuliano T, et al. Association between thyroid autoimmunity and fibromyalgic disease severity. *Clin. Rheumatol*. 2007; 26: 2115–2120.
7. Ren K, Dubner R. Interactions between the immune and nervous systems in pain. *Nat. Med*. 2010; 16: 1267–1276.
8. O'Mahony LF, Srivastava A, Mehta P, Ciurtin C. Is fibromyalgia associated with a unique cytokine profile? A systematic review and meta-analysis. *Rheumatology (Oxford)*. 2021; 60: 2602-2614.
9. Deare J, Zheng Z, Xue C, et al. Acupuncture for treating fibromyalgia. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013; 5:1-90.
10. Berger AA, Liu Y, Nguyen J. Efficacy of acupuncture in the treatment of fibromyalgia. *Orthop Rev (Pavia)*. 2021; 13:25085.
11. Frøkjær JB, Bergmann S, Brock C, et al. Modulation of vagal tone enhances gastroduodenal motility and reduces somatic pain sensitivity. *Neurogastroenterol Motil*. 2016; 28: 592-598.
12. Borovikova LV, Ivanova S, Zhang M, et al. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature*. 2000; 405: 458-462.
13. Busch V, Zeman F, Heckel A, Menne F, Ellrich J, Eichhammer P. "The effect of transcutaneous vagus nerve stimulation on pain perception - An experimental study," *Brain Stimulation*. 2013; 6: 202–209.
14. Kutlu N, Özden AV, Alptekin HK, Alptekin JÖ. The Impact of Auricular Vagus Nerve Stimulation on Pain and Life Quality in Patients with Fibromyalgia Syndrome. *Biomed Res Int*. 2020; 8656218
15. Vas J, Modesto M, Aguilar I, Santos-Rey K, Benítez-Parejo N, Rivas-Ruiz F. Effects of acupuncture on patients with fibromyalgia: study protocol of a multicentre randomized controlled trial. *Trials*. 2011; 12:59.

16. Sherman KJ, Hogeboom CJ, Cherkin DC, Deyo RA. Description and validation of a noninvasive placebo acupuncture procedure. *J Altern Complement Med.* 2002; 8(1):11-9.
17. Galvez-Sánchez, C.M.; Muñoz, L.G.; Montoro, C.I. et al. Cognitive deficits in fibromyalgia syndrome are associated with pain responses to low intensity pressure stimulation. *PLoS One.* 2018; 13(8): e0201488.
18. Goebel A, Krock E, Gentry C, et al. Passive transfer of fibromyalgia symptoms from patients to mice. *J Clin Invest.* 2021; 131: 144201.
19. Han W, Tellez LA, Perkins MH, Shammah-Lagnado SJ, Lartigue G, Araujo IE. A Neural Circuit for Gut-Induced Reward. *Cell.* 2018; 175:665-78.
20. Misailidou V, Malliou P, Beneka A, Karagiannidis A, Godoliasf G. Assessment of patients with neck pain: a review of definitions, selection criteria, and measurement tools. *J Chiropr Med.* 2010; 9:49-59.
21. Wolfe F, Clauw DJ, Fitzcharles M, et al. The American College of Rheumatology Preliminary Diagnostic Criteria for Fibromyalgia and Measurement of Symptom Severity. *Arthritis Care & Research.* 2010; 2: 600–610.
22. Marques AP, Santos AMB, Assumpção A, Matsutani LA, Lage LV, Pereira CAB. Validation of the Brazilian Version of the Fibromyalgia Impact Questionnaire (FIQ). *Braz Journ of Rheumatol.* 2006; 46: 24-31.
23. Junior JS, Nicholas MK, Pereira IA, et al. Validation of the Pain-Related Catastrophizing Thoughts Scale. *Acta Fisiatr.* 2008; 15: 31–36.
24. Andrade L, Gorenstein C, Vieira Filho AH, Tung TC, Artes R. Psychometric properties of the Portuguese version of the State-Trait Anxiety Inventory applied to college students: factor analysis and relation to the Beck Depression Inventory. *Braz J Med Biol Res.* 2001; 34:367-74.
25. Quintão S, Delgado AR, Prieto G. Validity study of the Beck Anxiety Inventory (Portuguese version) by the Rasch Rating Scale model. *Psicol. Reflex. Crit.* 2013; 26: 2.
26. Buysse DJ, Reynolds CF, Monk TH, Berman SR, Kupfer DJ. The Pittsburgh Sleep Quality Index: a new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Res.* 1989; 28(2):193-213.
27. Bertolazi AN, Fagondes SC, Hoff LS. Validation of the Brazilian Portuguese version of the Pittsburgh Sleep Quality Index. *Sleep Med.* 2011; 12:70-5.

28. Costa LO, Maher CG, Latimer J, Ferreira PH, Ferreira ML, Pozzi GC, Freitas LM. Clinimetric testing of three self-report outcome measures for low back pain patients in Brazil: which one is the best? *Spine*. 2008; 33(22): 2459-63.
29. Vanderlei LCM, Pastre CM, Hoshi RA, Carvalho TD, Godoy MF. Basic notions of heart rate variability and its clinical applicability. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 2009; 2: 205-17.
30. Ernst, G. Heart-Rate Variability-More than Heart Beats? *Front Public Health*. 2017; 5: 240.
31. Chalmers JA, Quintana DS, Abbott MJA, Kemp AH. Anxiety Disorders are Associated with Reduced Heart Rate Variability: A Meta-Analysis. *Front Psychiatry*. 2014; 5: 80.
32. Fischer AA. Pressure algometry over normal muscles. Standard values, validity, and reproducibility of pressure threshold. *Pain*. 1987; 30:115-26.
33. Reis MM, Arantes PMM. Assessment of hand grip strength - validity and reliability of the saehan dynamometer. *Fisioterapia e Pesquisa, São Paulo*. 2011; 18: 176-81.
34. Salaffi F, Stancati, A, Silvestri CA. et al. Minimal clinically important changes in chronic musculoskeletal pain intensity measured on a numerical rating scale. *Eur J Pain*. 2004; 8(4):283-9.

**EFEITOS DA ACUPUNTURA SOBRE O RAMO AURICULAR DO NERVO  
VAGO NO MANEJO DA FIBROMIALGIA: UM ESTUDO PILOTO  
RANDOMIZADO E CONTROLADO POR SIMULAÇÃO**

Marcos Lisboa Neves<sup>1\*</sup>, Bernardo Diniz Coutinho<sup>2</sup>, Scheila Iria Kraus<sup>1</sup>, Guilherme Fleury Fina Speretta<sup>1</sup>, Vinícius Alexandre Wippel<sup>1</sup>, Jeane Bachi Ferreira<sup>1</sup>, Pedro André Hermes Amaral<sup>1</sup>, Juliana Elizabete dos Santos Bud<sup>1</sup>, João Antônio Dallagnol Valentini<sup>1</sup>, Mara Gabriela Novy Quadri<sup>1</sup>, Igor Kunze Rodrigues<sup>3</sup>, Morgana Duarte da Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Neurociências, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

<sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação Profissional em Saúde da Família, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil.

<sup>3</sup>Hospital Regional de São José Dr. Homero de Miranda Gomes, HRSJ-HMG, Brazil.

\*Autor correspondente: Marcos Lisboa Neves, Programa de Pós-Graduação em Neurociências, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Universitário, Trindade, Florianópolis, 88049-900, SC, Brasil. Fax: +55 (48) 3721-9672; Tel: +55 (48) 3721-9352 (Extension 206). e-mail: [marcoslisboaneves@gmail.com](mailto:marcoslisboaneves@gmail.com).

**Contribuição dos autores**

Conceituação e desenho de pesquisa: MLN, BDC, GFF e MDS. Redação: MLN, BDC, SIK, MDS. Curadoria de dados / investigação / metodologia: MLN, BDC, SIK, JBF, PAHA, JESB, JADV e MGNQ. Recursos/aquisição de financiamento/supervisão: GFF e MDS

## RESUMO

### EFEITOS DA ACUPUNTURA SOBRE O RAMO AURICULAR DO NERVO VAGO NO MANEJO DA FIBROMIALGIA: UM ESTUDO PILOTO RANDOMIZADO E CONTROLADO POR SIMULAÇÃO

**Introdução:** a fibromialgia é uma síndrome caracterizada por dores articulares e musculares generalizadas, acompanhada de fadiga, alterações cognitivas, do humor e do sono. De etiologia ainda não definida, algumas evidências recaem sobre a sensibilização do sistema nervoso central, o que leva ao quadro de hiperalgesia e distúrbios autonômicos. Nesse sentido, o nervo vago é uma importante rota aferente ao sistema nervoso central e tratamentos com a estimulação transcutânea do ramo auricular do nervo vago apresentam crescente evidências no manejo de condições como epilepsia, depressão e dor.

**Objetivos:** este estudo visa avaliar a eficácia da acupuntura no ramo auricular do nervo vago na redução da intensidade da dor e da gravidade dos sintomas gerais relacionados a fibromialgia. **Metodologia:** uma amostra de 51 mulheres diagnosticadas com fibromialgia foi randomizada em três grupos. Um grupo recebeu uma intervenção por acupuntura auricular sobre o ramo auricular do nervo vago esquerdo; um segundo grupo recebeu a mesma intervenção, porém, na aurícula direita; e um terceiro grupo recebeu acupuntura simulada na aurícula esquerda. Foram feitas avaliações comportamentais tendo como desfecho primário a dor e como desfechos secundários a depressão, ansiedade, sono, catastrofização, funcionalidade, qualidade de vida e variabilidade da frequência cardíaca. **Resultados:** a acupuntura sobre o ramo auricular do nervo vago não foi eficaz na redução da dor, mas reduziu a gravidade dos sintomas gerais de mulheres com fibromialgia. **Conclusão:** esses achados fornecem dados para viabilizar novos estudos clínicos randomizados controlados com maior população amostral, a fim melhorar as evidências para o uso da acupuntura auricular sobre o nervo vago no tratamento da fibromialgia e suas comorbidades.

**Palavras-chave:** ramo auricular do nervo vago; acupuntura auricular; fibromialgia; dor crônica; depressão

## INTRODUÇÃO

A fibromialgia (FM) é uma condição crônica caracterizada principalmente por dores somáticas generalizadas, fadiga, alterações do sono e da cognição, atingindo em média 3% da população mundial e acometendo principalmente mulheres (SARZI-PUTTINI et al., 2020). A etiologia da FM ainda é incerta, mas as principais evidências recaem sobre a sensibilização do sistema nervoso central (SNC), alterações imunológicas e fatores psicossociais, levando ao quadro crônico de hiperalgesia e distúrbios autonômicos (GALVEZ-SÁNCHEZ et al., 2018; MARTINS et al., 2021).

Existe crescente evidência para o uso da acupuntura auricular e para participação do nervo vago na modulação do SNC em condições como epilepsia, transtorno depressivo maior, insônia e dor (WANG et al., 2022). Acupuntura é um recurso não farmacológico que está entre as recomendações da *European League Against Rheumatism (EULAR)* para o tratamento da fibromialgia (MACFARLANE et al., 2017). Pesquisas sugerem que o uso da acupuntura auricular pode ser vista como uma intervenção promissora na redução da intensidade da dor, da incapacidade física e do uso de medicamentos, além de melhorar a qualidade de vida de adultos com dor lombar crônica (MOURA et al., 2019). Nesse sentido, em condições de dor, o uso da neuromodulação vagal também possui potencial antinociceptivo e influência na redução da percepção de dor (FRØKJAER et al., 2016). Contudo, existem poucos estudos que avaliam a eficácia da estimulação do nervo vago em pacientes com fibromialgia (MARTINS et al., 2021).

O nervo vago origina-se no tronco encefálico, descende bilateralmente pela região cervical e se ramifica por órgão da cavidade torácica e abdominal, com diferenças anatômicas na sua distribuição (BREIT et al., 2018). No sistema nervoso central, o nervo vago possui conexões com estruturas encefálicas envolvidas na percepção da dor (NAPADOW et al., 2012). Seu único ramo somático abrange a pele das conchas auriculares com fibras predominantemente do tipo A $\delta$  (delta) e é denominado ramo auricular do nervo vago (RANV) (PEUKER et al., 2002; DABIRI et al., 2020). Acupuntura e eletroestimulação transcutânea do RANV são amplamente utilizadas no manejo da dor e depressão, mas poucos estudos abordam a influência da lateralidade

da estimulação nos resultados terapêuticos (JOHNSON, 2018; MARTINS et al. 2021; NEVES et al. 2022).

No Brasil, a acupuntura está presente dentro das Práticas Integrativas e Complementares em Saúde (PICS) inseridas no Sistema Único de Saúde (SUS). A implementação dessas práticas está em consonância com as diretrizes da Organização Mundial de Saúde (OMS) e visam estimular mecanismos naturais de prevenção de agravos e recuperação da saúde. Levando em consideração dados de 2017, já são 8.200 Unidades de Atenção Básica de Saúde (UBS) que ofertam alguma das PICS, como é o caso da acupuntura e da auriculoterapia, como também é chamada a acupuntura auricular (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018). Entre 2016 e 2017, mais de 4.200 profissionais de saúde de atenção básica concluíram a formação de auriculoterapia por meio de curso de capacitação promovido pela parceria entre o Ministério da Saúde do Brasil e a Universidade Federal de Santa Catarina (TESSER, 2019).

Sendo assim, acreditamos que a estimulação do RANV por acupuntura pode ser um método terapêutico promissor no manejo de pacientes com fibromialgia. Ela representa um procedimento simples, de fácil execução, baixo custo e que carece de maior investigação. Portanto, este estudo tem como objetivo investigar a eficácia da acupuntura sobre o RANV no manejo da dor e de demais sintomas relacionados com a fibromialgia, assim como verificar se a lateralidade do tratamento influencia nos resultados.

## **MÉTODOS**

### **DESENHO DO ESTUDO**

Este estudo piloto, randomizado e controlado por simulação, com três braços, foi realizado com mulheres diagnosticadas com fibromialgia, seguindo os critérios do American College of Rheumatology (ACR). O estudo foi realizado entre janeiro de 2022 e março de 2023, no ambulatório do Departamento de Ciências Fisiológicas, sob os cuidados do Laboratório de Neurobiologia da Dor e Inflamação (LANDI), localizado no Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), em Florianópolis, Brasil. Todos

os procedimentos realizados neste estudo estão de acordo com as normas éticas de pesquisa com seres humanos, registradas no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (RBR-10d3crf) e aprovadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Catarina (CAAE 36783520.9.0000.0121) . Além disso, um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi assinado pelos pacientes e o estudo seguiu a Declaração de Recomendações para Ensaios Intervencionistas (SPIRIT); Diretrizes dos Padrões de Relatórios de Testes Consolidados (CONSORT); Padrões para Relatar Intervenções em Ensaios Clínicos de Acupuntura (STRICTA) e Lista de Verificação do Modelo para Descrição e Replicação da Intervenção (TIDier).

## PARTICIPANTES

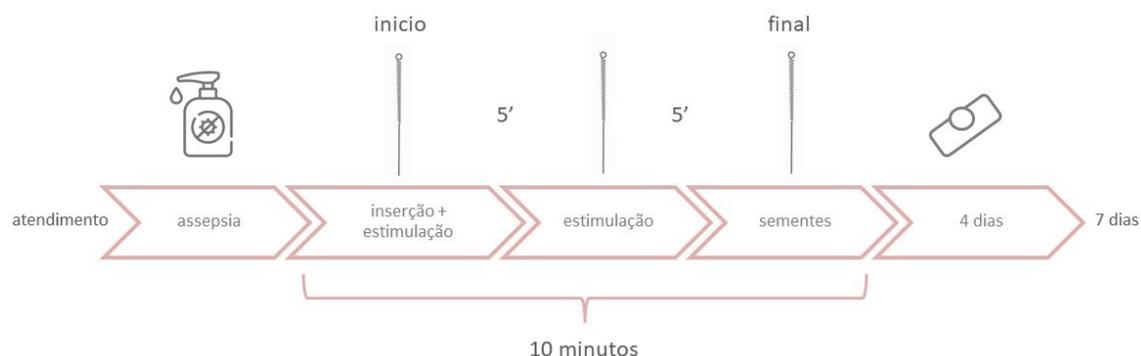
A amostra foi recrutada por redes sociais e teve como critérios de inclusão serem indivíduos do sexo feminino, com idade entre 18 e 65 anos, diagnosticadas de fibromialgia conforme os critérios do *American College of Rheumatology* (ACR), com dor igual ou maior que 3 pontos na escala numérica de dor (END) e sob condições de poder caminhar de forma independente, compreender o idioma português brasileiro suficientemente bem para preenchimento dos questionários. O diagnóstico de fibromialgia foi confirmado por um médico especializado e integrante da equipe de pesquisa. Foram excluídos indivíduos que apresentavam bandeiras vermelhas como fratura, malignidade/câncer; gravidez suspeita ou confirmada; alterações cognitivas; condições cardíacas instáveis; lesões no pavilhão auricular ou ausência do mesmo. Todos os indivíduos foram esclarecidos sobre os objetivos e procedimentos realizados na pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) aprovado pelos Comitê de Ética da Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC.

## INTERVENÇÃO

Os participantes dos grupos intervenção receberam quatro atendimentos (1x/ semana) realizados por um fisioterapeuta com 25 anos de experiência em acupuntura. Dois grupos receberam esse tratamento, sendo um no RANV-D e

outro no RANV-E. A intervenção de acupuntura sobre o RANV foi realizada com duas agulhas filiformes (0,20mm X 15mm, Dong Bang), inseridas de forma oblíqua a uma profundidade de 2-3 mm na superfície da pele auricular, na parte superior (centro da cimba da concha) e inferior (centro da cava da concha). Cada agulha foi estimulada por 30 segundos com semivoltas manuais de um movimento por segundo em ambas as direções (direita e esquerda). As agulhas foram mantidas na orelha por um tempo total de 10 minutos, onde foi realizada uma segunda estimulação (descrita anteriormente) passados 5 minutos. Após, as agulhas foram retiradas suavemente e substituídas por dois micropores contendo uma semente de vaccaria com diâmetro de 1,5 mm, onde foram pressionadas manualmente por 1 minuto. As sementes permaneceram no pavilhão auricular por 4 dias, seguido por 3 dias de descanso (**Figura 1**). Os pacientes foram orientados a estimular os dois ponto auriculares por 1 minuto e 3 vezes ao dia, procurando deixar a orelha com uma sensação de calor. Este procedimento foi repetido por 4 semanas consecutivas.

**Figura 1:** Intervenção.

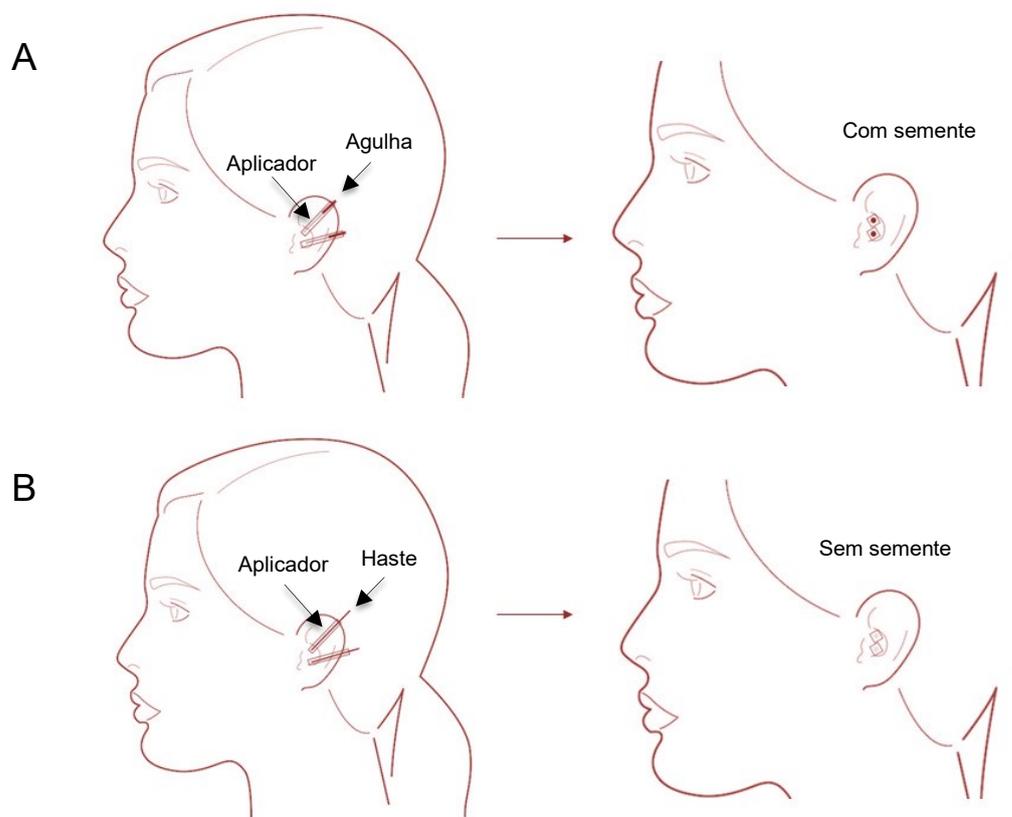


As agulhas foram inseridas e estimuladas, imediatamente e após 5 minutos. Após 10 minutos, elas foram removidas e substituídas por dois adesivos contendo uma semente. As sementes permaneceram por 4 dias no RANV e no sétimo dia o paciente retornou para a próxima sessão. Fonte: autor.

Um grupo controle recebeu 4 sessões (1x/ semana) de intervenção simulada pelo mesmo profissional. Foi usado o mesmo dispositivo (tubo plástico) para inserção das agulhas verdadeiras (**Figura 2A e 2B**), porém as agulhas foram substituídas por uma haste de aço com 1 mm de diâmetro e com a ponta romba, já validado por Sherman (2002) e descrito no protocolo de Vas (2011). O mesmo rito da acupuntura verdadeira foi mantido durante a intervenção. As

agulhas tiveram as suas embalagens abertas na frente do paciente, porém, a verdadeira agulha foi substituída pela falsa no momento da inserção e guardada para posteriormente serem descartada. Foram simuladas as manipulações com semigiros manuais das agulhas, por 30 segundo, e ao final da estimulação o paciente permaneceu imóvel por 10 minutos. Só então foi simulada a retirada da agulha. O terapeuta colocou discretamente as agulhas verdadeira na sua mão, aproxima-a da orelha da participante e, logo após a simulação de retirada, descartou as agulhas verdadeiras no lixo perfuro-cortante, solicitando a visualização do descarte pelo paciente. Finalizando o procedimento, foram colocados dois adesivos de micropore sem sementes, mas contendo um pequeno disco de papelão escuro, com 300 de gramatura e com diâmetro de 2 mm.

**Figura 2:** Localização dos dois pontos auriculares sobre o RANV.



(A) inserção da agulha de acupuntura, seguida da colocação de dois adesivos; (B) simulação com agulha falsa, seguido da colocação de dois adesivos sem sementes. Fonte: autor.

## DESFECHOS

A intensidade da dor foi avaliada como desfecho primário, por meio da Escala Numérica de Dor (END). Esse desfecho também pode ser avaliado pelo Índice de Dor Generalizada (IDG) e pela Escala de Gravidade dos Sintomas (EGS). Como desfecho secundário foi avaliado a depressão por meio do Inventário de Depressão de Beck (IDB); a ansiedade pelo Inventário de Ansiedade de Beck (IAB); a catastrofização pela Escala de Pensamentos Catastróficos Sobre Dor (EPCD); a funcionalidade e qualidade de vida pelo Questionário Sobre o Impacto da Fibromialgia (QIF); o sono pelo Índice de Qualidade do Sono de Pittsburgh (IQSP); o limiar de dor a pressão (PPT) por algometria; a força dos membros superiores por dinamometria; e a variabilidade da frequência cardíaca (VFC). Esses dados foram coletados antes do tratamento (basal), após 4 semanas (reavaliação) e no final de 12 semanas após o primeiro atendimento (follow-up).

### Avaliação da dor

A END é um instrumento unidirecional de avaliação de dor usada em adultos. É uma versão numérica da Escala Visual Analógica, na qual um indivíduo escolhe um número (mínimo de 0 e máximo de 10 pontos) que melhor descreve a intensidade da dor do indivíduo (0 representa “sem dor” e 10 representa “pior dor de todos os tempos”). Seu coeficiente de correlação intraclasse é de 0,96 e considerado alto (MISAILIDOU et al., 2010).

O Índice de Dor Generalizada (IDG) é um instrumento que descreve 19 áreas do corpo, perfazendo as regiões superior e inferior, assim como os lados direito e esquerdo, onde cada área vale um ponto e a soma das 19 áreas, referidas como dolorosas pelo paciente, atinge o máximo de 19 pontos. Já a Escala de Intensidade dos Sintomas (EIS) é composta por 4 itens que avaliam em quatro graus (0-3) os sintomas de fadiga, sono não restaurador, distúrbios cognitivos e dor somática, somando o máximo de 12 pontos. Conforme os critérios do American College of Rheumatology (ACR), na fibromialgia o IDG deve ter pontuação acima de 7, como EIS acima de 5 ou IDG entre 4-6, com escore da EIS maior que 9 (WOLFE et al., 2016).

### Avaliação da depressão

O IDB é um questionário que tem como objetivo avaliar a depressão, originariamente desenvolvido por Beck, Ward, Mendelson, Mock e Erbaugh (1961). É uma escala de auto-percepção composta por 21 itens com quatro opções de resposta. A soma final da pontuação representa de 0 a 13, nenhuma depressão; de 14 a 19, depressão leve; 20 a 28, depressão moderada; e de 29 a 63, depressão grave. No Brasil, sua validação fatorial foi realizada por Gorenstein e Andrade (1998), demonstrando que os fatores de dimensão de autodepreciação, cognição-afeto e dimensão somática possuíam coeficientes de fidedignidade (alfa de Cronbach) 0,76; 0,77 e 0,66; respectivamente (Gandini et al., 2007).

### Avaliação da ansiedade

O IAB é um dos instrumentos composto por 21 itens com quatro opções de resposta, onde a soma de todos o itens resulta na pontuação de 0-10 para grau mínimo de ansiedade; de 11-19, ansiedade leve; 20-30, ansiedade moderada; e 31-63, ansiedade severa. Ele foi desenvolvido por Beck, Epstein, Brown e Steer (1988) e validado na sua versão em português para o Brasil por Quintão (2013). A versão brasileira apresentou boas características psicométricas, com  $\alpha$  de Cronbach de 0,88 (Quintão et al., 2013).

### Avaliação do pensamento catastrófico sobre dor

A EPCD é composta de duas escalas (estratégias de enfrentamento e catastrofização) composta de 9 itens escalonados em uma escala Likert que varia de 0 a 5 pontos associados às palavras quase nunca e quase sempre, nas suas extremidades. O escore total é a soma dos itens divididos pelo número de itens respondidos, sendo que o escore mínimo pode ser 0 e o máximo 5, não existindo pontos de corte. Sendo assim, escores mais elevados indicam maior presença de pensamentos catastróficos. Seu coeficiente de correlação interna (Cronbach  $\alpha$ ) é de 0.89, o que sugere que a consistência interna desta escala é adequada (JUNIOR et al. 2008).

### Avaliação da funcionalidade e qualidade de vida

O QIF foi proposto inicialmente em 1991, por Burckhardt e colaboradores, e validado para o português em 2006 (MARQUES et.al.), do original Fibromyalgia Impact Questionnaire (FIQ). O instrumento avalia a qualidade de vida especificamente em pacientes com FM, envolvendo questões relacionadas à capacidade funcional, situação profissional, distúrbios psicológicos e sintomas físicos. É composto por 19 questões, organizadas em 10 itens. Quanto maior o escore, maior é o impacto da fibromialgia na qualidade de vida, sendo que a pontuação máxima é 100 (MARQUES et al., 2006).

### Avaliação da qualidade do sono

O IQSP é um questionário que avalia a qualidade do sono e seus distúrbios ao longo de um período de 1 mês, antes da sua aplicação. Foi desenvolvido por Buysse e colaboradores em 1989 e validado para o português em 2011 por Bertolazi e colaboradores. Consiste em 19 questões autoadministradas e 5 respondidas pelo companheiro de quarto, sendo essas usadas somente em condições clínicas. As 19 questões são agrupadas em sete componentes em uma escala de 0 a 3. A pontuação global varia de 0 a 21 e quanto maior a pontuação, pior a qualidade do sono (BERTOLAZI et al., 2011).

### Limiar de dor a pressão

Para a avaliação do PPT (do inglês, Pressure pain threshold) foi utilizado um algômetro digital (JTECH Commander, Salt Lake City, EUA). O PPT é definido como a pressão mínima necessária para provocar dor. A pressão aplicada na pele dos indivíduos foi realizada três vezes em cada ponto, utilizando um ponteira de 1 cm<sup>2</sup>. Esses pontos foram localizados no ventre dos músculos trapézio superior e tibial anterior, em ambos os lados. A pressão foi medida em libras; a pressão de pico foi registrada automaticamente assim que o paciente alertasse o avaliador, onde foi levado em consideração a média de três repetições para análise estatística (Fisher, 1987).

## Força dos membros superiores

A avaliação da força de membros superiores foi realizado por meio de preensão manual, utilizando um dinamômetro digital (Instrutherm modelo DM-90) com unidade de medida de quilograma (Kg) e capacidade máxima de 90 kg e de +/-0,5kg. O paciente ficou sentado com o membro superior a 90 graus e sem auxílio na sustentação do instrumento. O teste foi realizado três vezes em cada membro, de forma não alternada, com comando de incentivo verbal do avaliador, segurando por 3 segundos em pegada máxima e intervalo de 30 segundos entre cada teste. A maior medida foi tomada como valor de referência de cada lado (REIS et al., 2011).

## Variabilidade da frequência cardíaca

A medição da VFC é considerada uma medida quantitativa para avaliar o equilíbrio autonômico, fornecendo uma visão indireta sobre o tônus autonômico. A flutuação da frequência cardíaca durante um período de tempo, comumente medida por eletrocardiograma (ECG), pode ser também um importante marcador de bem-estar psicológico, saúde cardiovascular geral e um preditor de mortalidade (VANDERLEI, 2009). A alta VFC está relacionada à boa capacidade adaptativa em diferentes situações, ou estímulos, enquanto a baixa VFC pode estar associada a um maior risco à saúde (ERNST, 2017). Além disso, a baixa VFC pode comprometer as funções homeostáticas, reduzindo a capacidade do corpo de lidar com estressores internos e externos (KIM, 2018). Para tanto, o exame da VFC foi feito com o equipamento da marca Polar, modelo H10 e analisado pelo programa Kubios HRVStandard, versão 3.5.0

## TAMANHO DA AMOSTRA

O tamanho da amostra foi calculado utilizando o programa online [http://estatistica.bauru.usp.br/calculoamostral/ta\\_comparacao\\_multipla\\_independentes.php](http://estatistica.bauru.usp.br/calculoamostral/ta_comparacao_multipla_independentes.php). O cálculo foi realizado estimando um número mínimo necessário para fins de um estudo piloto, assim como uma diferença mínima detectável de 2 pontos na escala numérica de dor no follow-up de 12 semanas, um desvio

padrão estimado de 1,6 e com nível de significância de 0.05 e um poder de teste de 80% (JULIOUS, 2005; SALAFFI et al., 2004). Este cálculo gerou uma amostra de 14 indivíduos por grupo, totalizando 42 sujeitos. Admitindo-se uma estimativa conservadora de desistência do estudo em 20% planejou-se o recrutamento de 17 indivíduos por grupo, totalizando 51 sujeitos.

## RANDOMIZAÇÃO

O processo de randomização dos grupos foi previamente gerado no software Excel 2010 (Microsoft) por um pesquisador independente e os números sorteados foram colocados em envelopes opacos lacrados, numerados e sequenciados, somente aberto após a inclusão, pelo pesquisador responsável pelo tratamento e na frente de cada paciente.

A amostra foi randomizada em 3 grupos. O grupo 1 (controle) recebeu a intervenção simulada na aurícula esquerda; o grupo 2 (RANV-D) recebeu acupuntura verdadeira na aurícula direita; e o grupo 3 (RANV-E) recebeu acupuntura verdadeira na aurícula esquerda.

## CEGAMENTO

Os avaliadores e pacientes permaneceram cegos durante todo o estudo, somente o terapeuta tinha conhecimento dos grupos. As consultas foram agendadas com um intervalo de tempo evitando que pacientes de diferentes grupos se encontrassem ou trocassem informações, garantindo a ocultação. Um mesmo ritual de atendimento foi mantido para todos os grupos, respeitando o mínimo de interação com o terapeuta. Os pacientes também foram orientados a não falar sobre o seu tratamento com os avaliadores.

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados descritivos e as pontuações para o desfecho primário e secundários foram tabulados no Microsoft Excel 2010. Nas análises dos dados foi usado o pacote estatístico para as ciências sociais, do inglês *SPSS - Statistical Package for the Social Sciences*, versão 15.0, (IBM Corp, Armonk,

NY). Com exceção da análise da VFC, onde foi usado programa *GraphPad Prism*, versão 8.0 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA). O nível de significância de 0,05 foi adotado para todas as análises.

Os dados com as características da amostra foram expressos como frequências absolutas e relativas, utilizando média e desvio padrão (DP) para variáveis quantitativas e com distribuição normal no teste de Shapiro-Wilk, caso contrário, foram apresentados utilizando mediana e intervalo interquartio (IQ). Na apresentação das variáveis categóricas, foi utilizado o testes qui-quadrado.

Para a comparação das variáveis quantitativas dos grupos, todos os dados passaram por teste de normalidade de Shapiro-wilk, teste de esfericidade de Mauchly's e teste de homogeneidade de Levene's. Os dados relacionados a força do membro superior esquerdo (MSE) e de limiar de dor a pressão (PPT) do músculo trapézio superior direito, não possuíam variâncias homogêneas ou distribuição normal, portanto não cumpriram os pressupostos da ANOVA e foram analisados com teste não-paramétricos de Mann-whitney U. A ANOVA fatorial mista, seguido pelo *post-hoc* de Bonferroni, foi utilizada na análise dos demais dados como dor (END), variáveis específicas da fibromialgia (QIF, IDG e EGS), depressão (IDB), ansiedade (IAB), pensamento catastrófico relacionado a dor (EPCD) e sono (IQSP). Para a análise da VFC foi utilizado ANOVA de duas vias, seguida pelo *post-hoc* de Tukey.

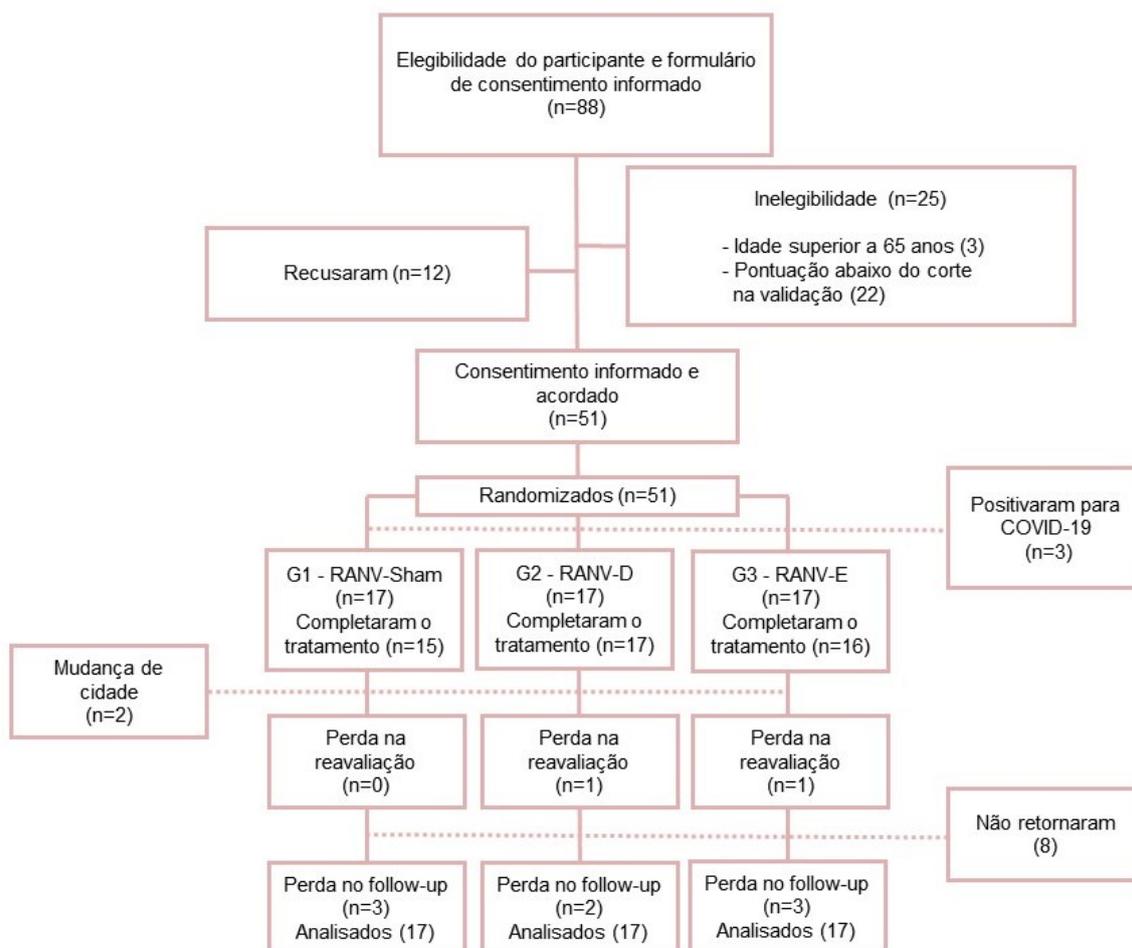
## RESULTADOS

### APRESENTAÇÃO E ANÁLISE DOS DADOS

Oitenta e oito mulheres atenderam ao recrutamento para participar da pesquisa. Destas, 63 foram consideradas elegíveis durante a primeira triagem, sendo que 12 se recusaram a assinar o termo de consentimento. Portanto, 51 mulheres com idade entre 18 e 65 anos foram incluídas no estudo. Elas foram randomizadas em 3 grupos, com um total de 17 participantes por grupo. O grupo 1 (G1) recebeu um tratamento simulado (Sham) no pavilhão auricular esquerdo; o grupo 2 (G2) recebeu um tratamento no pavilhão direito (RANV-D); e o grupo 3 (G3) no pavilhão esquerdo (RANV-E). Três (3) participantes não completaram o tratamento por positivarem para Covid-19, duas (2) não compareceram na

reavaliação (T1) por terem mudado de cidade, e oito (8) não compareceram ao follow-up (T2) por não responderem ao contato de retorno (**Figura 3**).

**Figura 3.** Fluxograma descrevendo as fases do estudo.



A amostra foi composta inteiramente por indivíduos do sexo feminino (100%), com idade média de 46,82 (36-58) anos, tempo médio dos sintomas de 11,29 (5-20) anos, nível de dor na escala numérica (END) de 6,98 (6-8), pontuação no Índice de dor Generalizada (IDG) de 14,52 (12-17), pontuação na Escala de Gravidade dos Sintomas (EGS) de 9,83 (8-12), média de frequência cardíaca de 76,35 (11,18) e índice de massa corporal de 28,01 (5,86) kg/m. Além disso, 18 (35,3) pacientes relataram uso de antidepressivos, 33 (64,7) uso de

analgésicos não opioides e 12 (23,5) de anticonvulsivantes. Conforme a **Tabela 1**, os grupos foram homogêneos para os parâmetros avaliados.

**Tabela 1.** Dados demográficos basais e características clínicas.

CARACTERÍSTICAS	CONTROLE (N=17)	RANV-D (N=17)	RANV-E (N=17)	TOTAL (N=51)	VALOR p
IDADE, MEDIANA (Q1-Q3)	51,12 (40-61)	44,41 (33-58,5)	44,94 (34,5-56,5)	46,82 (36-58)	0.184 <sup>K</sup>
TS, MEDIANA (Q1-Q3)	11.65 (5-20)	12,12 (7,5-20)	10,12 (5-17,5)	11,29 (5-20)	0.654 <sup>K</sup>
END, MEDIANA (Q1-Q3)	6.87 (5,25-8.75)	6.68 (6-8)	7.25 (6-8,7)	6,98 (6-8)	0.469 <sup>K</sup>
IDG, MEDIANA (Q1-Q3)	15.81 (14-18)	14.37 (11,25-17)	13.5 (10,25-16)	14,52 (12-17)	0.158 <sup>K</sup>
EGS, MEDIANA (Q1-Q3)	10,12 (7,25-12)	9.68 (8-11)	9.68 (8-12)	9,83 (8-12)	0.548 <sup>K</sup>
FC, MÉDIA (DP)	74.11 (11.84)	79.76 (11.92)	75.17 (9.45)	76,35 (11,18)	0.300 <sup>A</sup>
IMC, MEAN (DP)	28.81 (7.96)	25.71 (4.44)	29.50 (3.97)	28,01 (5,86)	0.133 <sup>A</sup>
AD, N (%)	7 (41,2)	6 (35,3)	5 (29,4)	18 (35,3)	0.773 <sup>Q</sup>
ANH, N (%)	11 (64,7)	12 (70,6)	10 (58,8)	33 (64,7)	0.773 <sup>Q</sup>
AC, N (%)	4 (23,5)	5 (29,4)	3 (17,6)	12 (23,5)	0.721 <sup>Q</sup>

TS = tempo dos sintomas; END = escala numérica de dor; IDG = índice de dor generalizada; EGS = escala de gravidade dos sintomas; FC = frequência cardíaca; IMC = índice de massa corporal; AD = uso de antidepressivos; ANH = uso de analgésicos não hormonais; AC = uso de anticonvulsivantes; (Q1-Q3) = percentis; (DP) = desvio padrão; N = número. <sup>K</sup>teste Kruskal-Wallis, <sup>A</sup>ANOVA uma via, <sup>Q</sup>teste qui-quadrado de Person.

## EFEITO SOBRE A INTENSIDADE DA DOR

A análise intragrupo mostrou uma redução significativa na intensidade da dor no grupo que recebeu tratamento no RANV-E (G3) após 4 semanas (T1),  $p=0,001$  (DM 2,81; 95% IC 1,02 a 4,60) e no follow-up de 12 semanas,  $p=0,009$  (DM 2,31; 95% IC 0,48 a 4,13). Mas a análise intergrupo não mostrou diferença significativa (**Tabela 2**).

**Tabela 2.** Comparação intragrupo e intergrupo no desfecho primário dor (END) no basal, pós-intervenção e no follow-up (N=71).

END						
	Sham (G1)	RANV-D (G2)	RANV-E (G3)	Grupos	p	Intergrupo Diferença das medias (95% IC)
Basal	6,87(2,70)	6,68(,81)	7,25(1,94)	G1-G2 G1-G3 G2-G3	1,000 1,000 1,000	,188 (-1,740; 2,115) -,375 (-2,302; 1,552) -,563 (-2,490; 1,365)
4 semanas	5,50(3,52)	5,56(2,63)	4,43(2,85)	G1-G2 G1-G3 G2-G3	1,000 ,978 ,896	-,063 (-1,087; 3,587) 1,063 (-1,597; 3,722) 1,125 (-1,535; 3,785)
12 semanas	6,75(2,74)	5,50(2,55)	4,93(2,67)	G1-G2 G1-G3 G2-G3	,571 ,180 1,000	1,250 (-1,087; 3,587) 1,813 (-,524; 4,149) ,563 (-1,774; 2,899)
Intragrupo						
Basal - 4 semanas	1,375 (-,412; 3,162)	1,125 (-,662; 2,912)	<b>2,813 (1,025; 4,600)</b>			
p	,186	,374	<b>,001*</b>			
Basal - 12 semanas	,125 (-1,700; 1,950)	1,188 (-,637; 3,012)	<b>2,313 (488; 4,137)</b>			
p	1,000	,338	<b>,009*</b>			
4 semanas - 12 semanas	,125 (-2,580; ,080)	,063 (-1,267; 1,392)	-,500 (-1,830; ,830)			
p	,072	1,000	1,000			

Todos os valores são apresentados como média. ANOVA fatorial mista seguida pelo *post-hoc* de Bonferroni. Comparações significativas são destacadas em negrito e o nível de significância com asterisco.

## EFEITO SOBRE OS PARÂMETROS ESPECÍFICOS DA FIBROMIALGIA

### Índice de Dor Generalizada (IDG)

A análise intragrupo mostrou uma redução significativa na pontuação do questionário IDG no grupo controle (G1) após 4 semanas (T1),  $p=0,009$  (DM 3,50; 95% IC 0,71 a 6,28); no grupo que recebeu o tratamento no RANV-D (G2) após 4 semanas (T1),  $p=0,017$  (DM 3,25; 95% IC 0,46 a 6,03), e no follow-up de 12 semanas (T2),  $p=0,028$  (DM 3,00; 95% IC 0,25 a 5,74); e no grupo que recebeu o tratamento no RANV-E (G3) apenas após 4 semanas (T1),  $p=0,023$  (DM 3,12; 95% IC 0,34 a 5,90). Contudo, a análise intergrupo não mostrou diferença significativa (**Tabela 3**).

### Escala de Gravidade dos Sintomas

A análise intragrupo mostrou uma redução significativa na pontuação do questionário IDG apenas no grupo que recebeu o tratamento no RANV-E (G3) após 4 semanas (T1),  $p=0,009$  (DM 2,18; 95% IC 0,44 a 3,92), e no follow-up de 12 semanas (T2),  $p=0,000$  (DM 2,93; 95% IC 1,38 a 4,93). Essa redução foi significativa na análise intergrupo no follow-up (T2), quando comparada ao grupo controle (G1),  $p=0,033$  (**Tabela 3**).

### Questionário de Impacto da Fibromialgia (QIF)

A análise intragrupo mostrou uma redução significativa na pontuação do questionário QIF no grupo controle (G1) após 4 semanas (T1),  $p=0,023$  (DM 9,89; 95% IC 1,10 a 18,67); no grupo que recebeu o tratamento no RANV-D (G2) no follow-up de 12 semanas (T2),  $p=0,035$  (DM 11,23; 95% IC 0,62 a 21,83); e no grupo que recebeu o tratamento no RANV-E (G3) após 4 semanas (T1),  $p=0,012$  (DM 10,76; 95% IC 1,98 a 19,55), e no follow-up de 12 semanas (T2),  $p=0,003$  (DM 14,99; 95% IC 4,39 a 25,60). Contudo, a análise intergrupo não mostrou diferença significativa (**Tabela 3**).

**Tabela 3.** Comparação intragrupo dos desfechos secundários que avaliaram a fibromialgia no basal, pós-intervenção e no follow-up (N=71).

IDG	Sham (G1)	RANV-D (G2)	RANV-E (G3)	Grupos	Intergrupo	
					p	Diferença das medias (95% IC)
Basal	15,81(2,50)	14,37(3,38)	13,50 (3,26)	G1-G2 G1-G3 G2-G3	,579 ,117 1,000	1,438 (-1,268; 4,143) 2,312 (-,393; 5,018) ,875 (-3,581; 1,831)
4 semanas	12,31(5,18)	11,12(4,75)	10,37(4,42)	G1-G2 G1-G3 G2-G3	1,000 ,779 1,000	1,188 (-3,033; 5,408) 1,938 (-2,283; 6,158) ,750 (-3,470; 4,970)
12 semanas	13,81(3,93)	11,37(3,81)	11,87(4,24)	G1-G2 G1-G3 G2-G3	,275 ,532 1,000	2,437 (-1,079; 5,954) 1,938 (-1,579; 5,454) -,500 (-4,017; 3,017)
Intragrupo						
Basal - 4 semanas	<b>3,500 (,719; 6,281)</b>	<b>3,250 (,469; 6,03)</b>	<b>3,125 (,344; 5,960)</b>			
p	<b>,009*</b>	<b>,017*</b>	<b>,023*</b>			
Basal - 12 semanas	2,000 (-,746; 4,746)	<b>3,000 (,254; 5,74)</b>	1,625 (-1,121; 4,371)			
p	,230	<b>,028*</b>	,444			
4 semanas - 12 semanas	-1,500 (-3,25; ,251)	-,250 (-2,001; 1,501)	-1,500 (-3,251; ,251)			
p	,116	1,000	,116			

Continua →

EGS						
	Sham (G1)	RANV-D (G2)	RANV-E (G3)	Grupos	p	Intergrupo Diferença das medias (95% IC)
Basal	10,12(2,27)	9,68 (1,77)	9,68(2,12)	G1-G2 G1-G3 G2-G3	1,000 1,000 1,000	,438 (-1,382; 2,257) ,438 (-1,382; 2,257) 3,50 (-1,819; 1,819)
4 semanas	8,62(2,94)	8,50(2,70)	7,50(3,26)	G1-G2 G1-G3 G2-G3	1,000 ,874 1,000	,125 (-2,495; 2,745) 1,125 (-1,495; 3,745) 1,000 (-1,620; 3,620)
12 semanas	9,50(2,58)	8,43(2,70)	6,75(3,43)	G1-G2 G1-G3 G2-G3	,933 <b>,033*</b> ,332	1,063 (-1,516; 3,641) <b>2,750 (1,172; 5,328)</b> 1,688 (-,891; 4,266)
Intragrupo						
Basal - 4 semanas	1,500 (-,241; 3,241)	1,188 (-,553; 2,928)	<b>2,188 (,447; 3,928)</b>			
p	,113	,290	<b>,009*</b>			
Basal - 12 semanas	,625 (-,930; 2,180)	1,250 (-,305; 2,805)	<b>2,937 (1,382; 4,493)</b>			
p	,969	,155	<b>,000*</b>			
4 semanas - 12 semanas	-,875 (-2,158; ,408)	,063 (-1,221; 1,346)	,750 (-,533; 2,033)			
p	,290	1,000	,459			

Continua →

QIF						
	Sham (G1)	RANV-D (G2)	RANV-E (G3)	Grupos	p	Intergroupo Diferença das medias (95% IC)
Basal	70,73(10,05)	66,56 (11,95)	68,30(10,53)	G1-G2 G1-G3 G2-G3	,850 1,000 1,000	4,176 (-5,387; 13,739) 2,427 (-7,136; 11,991) -1,749 (-11,312; 7,815)
4 semanas	60,84(16,97)	60,31(14,50)	57,54(16,18)	G1-G2 G1-G3 G2-G3	1,000 1,000 1,000	,525 (-13,473; 14,523) 3,304 (-10,694; 17,302) 2,779 (-11,219; 16,777)
12 semanas	64,95(11,37)	55,32(24,26)	53,31(16,82)	G1-G2 G1-G3 G2-G3	,429 ,234 1,000	9,632 (-6,429; 25,693) 11,647 (-4,414; 27,708) 2,016 (-14,045; 18,077)
Intragrupo						
Basal - 4 semanas	<b>9,892 (1,105; 18,678)</b>	6,241 (-2,546; 15,027)	<b>10,768 (1,982; 19,555)</b>			
p	<b>,023*</b>	,252	<b>,012*</b>			
Basal - 12 semanas	5,778 (-4,827; 16,383)	<b>11,234 (,629; 21,838)</b>	<b>14,998 (4,393; 25,603)</b>			
p	,547	<b>,035*</b>	<b>,003</b>			
4 semanas - 12 semanas	-4,114 (-14,057; 5,830)	4,993 (-4,951; 14,937)	4,230 (-5,714; 14,174)			
p	,927	,655	,887			

Todos os valores são apresentados como média. ANOVA fatorial mista seguida pelo post-hoc de Bonferroni. Comparações significativas são destacadas em negrito e o nível de significância com asterisco. IDG = índice de dor generalizada; EGS = escala de gravidade dos sintomas; QIF = questionário de impacto da fibromialgia.

## EFEITOS SOBRE A DEPRESSÃO, ANSIEDADE, PENSAMENTO CATASTRÓFICO SOBRE DOR E SONO

### Inventário de Depressão de Beck (IDB)

A análise intragrupo mostrou uma redução significativa na pontuação do questionário IDB no grupo que recebeu o tratamento no RANV-D (G2) no follow-up de 12 semanas (T2),  $p=0,015$  (DM 5,81; 95% IC 0,93 a 10,69); e no grupo que recebeu o tratamento no RANV-E (G3) após 4 semanas (T1),  $p=0,001$  (DM 7,87; 95% IC 3,09 a 12,65) e no follow-up de 12 semanas (T2),  $p=0,000$  (DM 9,43; 95% IC 4,55 a 14,31). Contudo, a análise intergrupo não mostrou diferença significativa (**Tabela 4**).

### Inventário de Ansiedade de Beck (IAB)

A análise intragrupo mostrou uma redução significativa na pontuação do questionário IAB no grupo que recebeu o tratamento no RANV-D (G2) após 4 semanas (T1),  $p=0,000$  (DM 10,93; 95% IC 4,49 a 17,37), e no follow-up de 12 semanas (T2),  $p=0,000$  (DM 11,68; 95% IC 6,32 a 17,04); e no grupo que recebeu o tratamento no RANV-E após 4 semanas (T1),  $p=0,010$  (DM 8,06; 95% IC 1,62 a 14,50), e no follow-up de 12 semanas (T2),  $p=0,000$  (DM 9,75; 95% IC 4,39 a 15,10). Contudo, a análise intergrupo não mostrou diferença significativa (**Tabela 4**).

### Escala de Pensamento Catastrófico Sobre Dor (EPCD)

A análise intragrupo mostrou uma redução significativa na pontuação do questionário EPCD no grupo que realizou o tratamento no RANV-D (G2) após 4 semanas (T1),  $p=0,007$  (DM 0,537; 95% IC 0,12 a 0,95), e no follow-up de 12 semanas (T2),  $p=0,004$  (DM 0,67; 95% IC 0,18 a 1,16); e no grupo que realizou o tratamento no RANV-E (G3) após 4 semanas (T1),  $p=0,001$  (DM 0,66; 95% IC 0,25 a 1,08), e no follow-up de 12 semanas (T2),  $p=0,000$  (DM 0,79; 95% IC 0,31

a 1,28). Contudo, a análise intergrupo não mostrou diferença significativa (**Tabela 4**).

#### Índice de Qualidade do Sono de Pittsburgh (IQSP)

A análise intragrupo mostrou uma redução significativa na pontuação do questionário IQSP, o grupo que realizou o tratamento no RANV-D (G2) apresentou uma redução significativa na pontuação após 4 semanas (T1),  $p=0,026$  (DM 2,37; 95% IC 0,21 a 4,53), e no follow-up de 12 semanas (T2),  $p=0,012$  (DM 2,31; 95% IC 0,41 a 4,21); e o grupo que realizou o tratamento no RANV-E (G3) no follow-up de 12 semanas (T2),  $p=0,024$  (DM 2,12; 95% IC 0,22 a 4,02). Contudo, a análise intergrupo não mostrou diferença significativa (**Tabela 4**).

**Tabela 4.** Comparação intragrupo dos desfechos secundários depressão (IBD), ansiedade (IAB), pensamento catastrófico sobre dor (EPCD) e sono (IQSP 1 e 2) no basal, pós-intervenção e no follow-up (N=71).

IDB	Sham (G1)	RANV-D (G2)	RANV-E (G3)	Grupos	Intergrupo	
					p	Diferença das medias (95% IC)
Basal	25,18(14,40)	25,43(10,11)	28,68(9,00)	G1-G2 G1-G3 G2-G3	1,000 1,000 1,000	-,250 (-10,283; 9,783) -3,500 (-13,533; 6,533) -3,250 (-13,283; 6,783)
4 semanas	21,75(14,04)	21,62 (10,92)	20,81(11,37)	G1-G2 G1-G3 G2-G3	1,000 1,000 1,000	,125 (-10,599; 10,849) ,938 (-9,787; 11,662) ,813 (-9,912; 11,537)
12 semanas	21,43(14,32)	19,62(10,48)	19,25(12,28)	G1-G2 G1-G3 G2-G3	1,000 1,000 1,000	1,813 (-9,146; 12,771) 2,188 (-8,771; 13,146) ,375 (-10,583; 11,333)
Intragrupo						
Basal - 4 semanas	3,437 (-1,344; 8,219)	3,812 (-,969; 8,594)	<b>7,875 (3,093; 12,657)</b>			
p	,242	,161	<b>,001*</b>			
Basal - 12 semanas	3,750 (-1,131; 8,631)	<b>5,813 (,932; 10,693)</b>	<b>9,438 (4,557; 14,318)</b>			
p	,187	<b>,015*</b>	<b>,000*</b>			
4 semanas - 12 semanas	,313 (-2,404; 3,029)	2,000 (-,717; 4,717)	1,563 (-1,154; 4,279)			
p	1,000	,221	,479			

Continua →

IAB						
	Sham (G1)	RANV-D (G2)	RANV-E (G3)	Grupos	Intergrupo	
					p	Diferença das medias (95% IC)
Basal	25,00(14,21)	28,75(12,91)	31,68(15,51)	G1-G2 G1-G3 G2-G3	1,000 ,574 1,000	-3,750 (-16,282; 8,782) -6,687 (-19,219; 5,844) -2,937 (-15,469; 9,594)
4 semanas	22,68(13,32)	17,81(10,02)	23,62(15,90)	G1-G2 G1-G3 G2-G3	,917 1,000 ,669	4,875 (-6,823; 16,573) -,937 (-12,635; 10,760) -5,812 (-17,510; 5,885)
12 semanas	21,93(11,01)	17,06(11,85)	21,93(16,10)	G1-G2 G1-G3 G2-G3	,903 1,000 1,000	4,875 (-6,711; 16,461) 4,44 (-11,586; 11,586) -4,875 (-16,461; 6,711)
Intragrupo						
Basal - 4 semanas	2,313 (-4,127; 8,752)	<b>10,938 (4,498; 17,377)</b>	<b>8,062 (1,623; 14,502)</b>			
p	1,000	<b>,000*</b>	<b>,010*</b>			
Basal - 12 semanas	3,063 (-2,296; 8,421)	<b>11,688 (6,329; 17,046)</b>	<b>9,750 (4,391; 15,109)</b>			
p	,486	<b>,000*</b>	<b>,000*</b>			
4 semanas - 12 semanas	,750 (-4,541; 6,041)	,750 (-4,541; 6,041)	1,688 (-3,604; 6,979)			
p	1,000	1,000	1,000			

Continua →

EPCD						
	Sham (G1)	RANV-D (G2)	RANV-E (G3)	Grupos	p	Intergrupo Diferença das medias (95% IC)
Basal	3,21(1,18)	3,30(,94)	3,50(,95)	G1-G2 G1-G3 G2-G3	1,000 1,000 1,000	-,238 (-1,138; ,662) -,299 (-1,200; -,601) -,061 (-,961; ,839)
4 semanas	3,06(1,21)	2,73(1,12)	2,78(,99)	G1-G2 G1-G3 G2-G3	1,000 1,000 1,000	,217 (-,772; 1,205) ,285 (-,704; 1,273) ,068 (-,920; 1,056)
12 semanas	3,16(1,23)	2,60(1,09)	2,68(1,05)	G1-G2 G1-G3 G2-G3	1,000 ,823 1,000	,376 (-,607; 1,359) ,437 (-,545; 1,420) ,061 (-,922; 1,044)
Intragrupo						
Basal - 4 semanas	,083 (-,332; ,487)	<b>,537 (,123; ,953)</b>	<b>,667 (,252; 1,081)</b>			
p	1,000	<b>,007*</b>	<b>,001*</b>			
Basal - 12 semanas	,062 (-,426; ,549)	<b>,676 (,189; 1,164)</b>	<b>,799 (,311; 1,286)</b>			
p	1,000	<b>,004*</b>	<b>,001*</b>			
4 semanas - 12 semanas	-,021 (-,408; ,367)	,139 (-,249; ,527)	,132 (-,256; ,520)			
p	1,000	1,000	1,000			

Continua →

IQSP						
	Sham (G1)	RANV-D (G2)	RANV-E (G3)	Grupos	Intergrupo	
					p	Diferença das medias (95% IC)
Basal	13,62(3,86)	15,18(3,16)	14,56(3,63)	G1-G2 G1-G3 G2-G3	,665 1,000 1,000	-1,563 (-4,697; 1,572) -,937 (-4,072; 2,197) ,625 (-2,510; 3,760)
4 semanas	13,62(2,72)	12,81(3,98)	12,43(4,06)	G1-G2 G1-G3 G2-G3	1,000 1,000 1,000	,813 (-2,393; 4,018) 1,188 (-2,018; 4,393) ,375 (-2,830; 3,580)
12 semanas	13,18(2,99)	12,87(3,48)	12,43(3,36)	G1-G2 G1-G3 G2-G3	1,000 1,000 ,522	,313 (-2,577; 3,202) ,750 (-2,140; 3,640) ,438 (-2,452; 3,327)
Intragrupo						
Basal - 4 semanas	,000 (-2,157; 2,157)	<b>2,375 (,218; 4,532)</b>	2,125 (-,032; 4,282)			
p	1,000	<b>,026*</b>	,055			
Basal - 12 semanas	,438 (-1,464; 2,339)	<b>2,313 (,411; 4,214)</b>	<b>2,125 (,223; 4,027)</b>			
p	1,000	<b>,012*</b>	<b>,024*</b>			
4 semanas - 12 semanas	,438 (-1,543; 2,418)	-,063 (-2,043; 1,918)	,000 (-1,981; 1,981)			
p	1,000	1,000	1,000			

Todos os valores são apresentados como média. ANOVA fatorial mista seguida pelo post-hoc de Bonferroni. Comparações significativas são destacadas em negrito e o nível de significância com asterisco. IDB = índice de depressão de Beck; IAB = índice de ansiedade de Beck; EPCD = escala de pensamento catastrófico da dor; IQSP = índice de qualidade de sono de Pittsburgh.

## EFEITOS SOBRE A FORÇA E O LIMIAR DE DOR A PRESSÃO

A análise intragrupo (domínio de tempo) e intergrupo dos dados paramétricos, nos desfechos que avaliaram a força e o limiar de dor a pressão (PPT) não demonstrou diferença estatística (**Tabela 5**).

A análise intragrupo dos dados não paramétricos, mostrou uma redução significativa do limiar de dor a pressão no trapézio superior direito (PPT-TD) no grupo controle (G1) no follow-up de 12 semanas (T2),  $p=0,004$  ( $Z = -2,85$ ); e no grupo que recebeu o tratamento no RANV-E após 4 semanas (T1),  $p=0,024$  ( $Z = -2,26$ ); e no follow-up de 12 semanas (T2),  $p=0,017$  ( $Z = -2,26$ ). Contudo, a análise intergrupo não mostrou diferença significativa (**Tabela 6**).

**Tabela 5.** Comparação intragrupo dos desfechos secundários força e limiar de dor a pressão (PPT) no basal, pós-intervenção e no follow-up (N=71).

FORÇA (DINAMOMETRIA) DO MEMBRO SUPERIOR DIREITO						
	Sham (G1)	RANV-D (G2)	RANV-E (G3)	Grupos	Intergrupo	
					p	Diferença das medias (95% IC)
Basal	24,73(6,00)	22,73(6,26)	20,43(7,71)	G1-G2 G1-G3 G2-G3	1,000 ,229 1,000	2,000 (-3,894; 7,894) 4,300 (-1,594; 10,194) 2,300 (-3,594; 8,194)
4 semanas	24,96(8,30)	21,84(5,66)	19,11(8,27)	G1-G2 G1-G3 G2-G3	,741 ,099 ,933	3,119 (-3,493; 9,730) 5,844 (-,768; 12,455) 2,725 (-3,887; 9,337)
12 semanas	24,68(6,22)	22,34(6,24)	19,86(8,42)	G1-G2 G1-G3 G2-G3	1,000 ,178 ,973	2,338 (-3,853; 8,528) 4,819 (-1,372; 11,009) 2,481 (-3,709; 8,672)
Intragrupo						
Basal - 4 semanas	-,231 (-3,078; 2,615)	,887 (-1,959; 3,734)	1,313 (-1,534; 4,159)			
p	1,000	1,000	,773			
Basal - 12 semanas	,050 (-2,748; 2,848)	,387 (-2,410; 3,185)	,569 (-2,229; 3,366)			
p	1,000	1,000	1,000			
4 semanas - 12 semanas	,281 (-2,250; 2,813)	-,500 (-3,031; 2,031)	-,744 (-3,275; 1,788)			
p	1,000	1,000	1,000			

Continua →

## LIMIAR DE DOR A PRESSÃO (ALGOMETRIA) DO TRAPÉZIO ESQUERDO

	Sham (G1)	RANV-D (G2)	RANV-E (G3)	Grupos	Intergrupo	
					p	Diferença das medias (95% IC)
Basal	5,35(2,66)	6,76(10,67)	4,10(2,80)	G1-G2	1,000	-1,412 (-7,177; 4,352)
				G1-G3	1,000	1,244 (-4,521; 7,009)
				G2-G3	,774	2,656 (-3,109; 8,421)
4 semanas	4,63(3,61)	6,54(11,21)	3,40(2,00)	G1-G2	1,000	-1,906 (-7,974; 4,162)
				G1-G3	1,000	1,231 (-4,837; 7,299)
				G2-G3	,615	3,138 (-2,931; 9,206)
12 semanas	3,85(2,62)	4,36(3,88)	3,65(2,53)	G1-G2	1,000	-,513 (-3,219; 2,194)
				G1-G3	1,000	,206 (-2,500; 2,913)
				G2-G3	1,000	,719 (-1,988; 3,425)
Intragrupo						
Basal - 4 semanas	,713 (-,665; 2,090)	,219 (-1,596; 1,159)	,700 (-,678; 2,078)			
p	,615	1,000	,639			
Basal - 12 semanas	1,494 (-1,294; 4,282)	2,394 (-,394; 5,182)	,456 (-2,332; 3,244)			
p	,568	,115	1,000			
4 semanas - 12 semanas	,781 (-2,110; 3,672)	2,175 (-,716; 5,066)	-,244 (-3,135; 2,647)			
p	1,000	,204	1,000			

Continua →

## LIMIAR DE DOR A PRESSÃO (ALGOMETRIA) DO TIBIAL ANTERIOR DIREITO

	Sham (G1)	RANV-D (G2)	RANV-E (G3)	Grupos	Intergrupo	
					p	Diferença das médias (95% IC)
Basal	9,21(4,45)	12,30(25,54)	7,30 (5,41)	G1-G2	1,000	-3,094 (-16,541; 10,353)
				G1-G3	1,000	1,912 (-11,534; 15,359)
				G2-G3	1,000	5,006 (-8,441; 18,453)
4 semanas	9,30(6,36)	11,26(19,08)	7,32(5,57)	G1-G2	1,000	-1,962 (-12,561; 8,636)
				G1-G3	1,000	1,975 (-8,623; 12,573)
				G2-G3	1,000	3,937 (-6,661; 14,536)
12 semanas	6,95(5,00)	9,00(12,77)	7,03(4,83)	G1-G2	1,000	-2,044 (-9,428; 5,340)
				G1-G3	1,000	-,081 (-7,465; 7,303)
				G2-G3	1,000	1,962 (-5,421; 9,346)
Intragrupo						
Basal - 4 semanas	-,088 (-4,232; 4,057)	1,044 (-3,101; 5,188)	-,025 (-4,170; 4,120)			
p	1,000	1,000	1,000			
Basal - 12 semanas	2,256 (-3,224; 7,736)	3,306 (-2,174; 8,786)	,263 (-5,218; 5,743)			
p	,934	,422	1,000			
4 semanas - 12 semanas	2,344 (-,955; 5,642)	2,262 (-1,036; 5,561)	,288 (-3,011; 3,586)			
p	,252	,285	1,000			

Continua →

## LIMIAR DE DOR A PRESSÃO (ALGOMETRIA) DO TIBIAL ANTERIOR ESQUERDO

	Sham (G1)	RANV-D (G2)	RANV-E (G3)	Grupos	Intergrupo	
					p	Diferença das médias (95% IC)
Basal	8,60(4,13)	11,54(20,96)	8,05(5,67)	G1-G2	1,000	-2,937 (-14,163; 8,288)
				G1-G3	1,000	,550 (-10,675; 11,775)
				G2-G3	1,000	3,487 (-7,738; 14,713)
4 semanas	7,35(5,23)	11,66(21,83)	7,20(5,67)	G1-G2	1,000	-4,312 (-16,069; 7,444)
				G1-G3	1,000	,150 (-11,607; 11,907)
				G2-G3	1,000	4,462 (-7,294; 16,219)
12 semanas	7,19(5,41)	8,40(10,63)	6,77(4,88)	G1-G2	1,000	-1,206 (-7,754; 5,341)
				G1-G3	1,000	,419 (-6,129; 6,966)
				G2-G3	1,000	1,625 (-4,923; 8,173)
Intragrupo						
Basal - 4 semanas	1,250 (-1,513; 4,013)	-,125 (-2,888; 2,638)	,850 (-1,913; 3,613)			
p	,799	1,000	1,000			
Basal - 12 semanas	1,412 (-3,268; 6,093)	3,144 (-1,537; 7,824)	1,281 (-3,399; 5,962)			
p	1,000	,305	1,000			
4 semanas - 12 semanas	,163 (-4,181; 4,506)	3,269 (-1,075; 7,612)	,431 (-3,912; 4,775)			
p	1,000	,203	1,000			

Todos os valores são apresentados como média. ANOVA fatorial mista seguida pelo *post-hoc* de Bonferroni.

**Tabela 6.** Comparação intragrupo dos desfechos secundários força e limiar de dor a pressão (PPT) no basal, pós-intervenção e no follow-up (N=71).

FORÇA (DINAMOMETRIA) DO MEMBRO SUPERIOR ESQUERDO								
	Sham (G1)	RANV-D (G2)	RANV-E (G3)	Grupos	Asymp. Sig. (2-tailed)	Intergrupo Z	Wilcoxon W	Whitney U
Basal	21,38(6,64)	19,98(6,65)	18,51(7,39)	G1-G2	,370	-,896	271,500	118,500
				G1-G3	,293	-1,051	267,000	114,000
				G2-G3	,679	-,413	285,500	132,500
4 semanas	23,45(7,91)	20,96(5,01)	19,04(8,01)	G1-G2	,270	-1,102	265,500	112,500
				G1-G3	,060	-1,878	243,000	90,000
				G2-G3	,380	-,878	272,000	119,000
12 semanas	20,51(9,38)	21,45(4,60)	20,01(8,35)	G1-G2	,770	-,293	289,000	136,000
				G1-G3	,717	-,362	287,000	134,000
				G2-G3	,449	-,758	275,500	122,500
Intragrupo								
Z / Basal - 4 semanas	-1,915(b)	-,994(b)	-,455(b)					
Asymp. Sig. (2-tailed)	,056	,320	,649					
Z / Basal - 12 semanas	-,220(a)	-1,776(b)	-,534(b)					
Asymp. Sig. (2-tailed)	,826	,0,76	,594					
Z / 4 semanas - 12 semanas	<b>-2,197(a)</b>	-1,294(b)	-1,020(b)					
Asymp. Sig. (2-tailed)	<b>,028*</b>	,196	,308					

Continua →

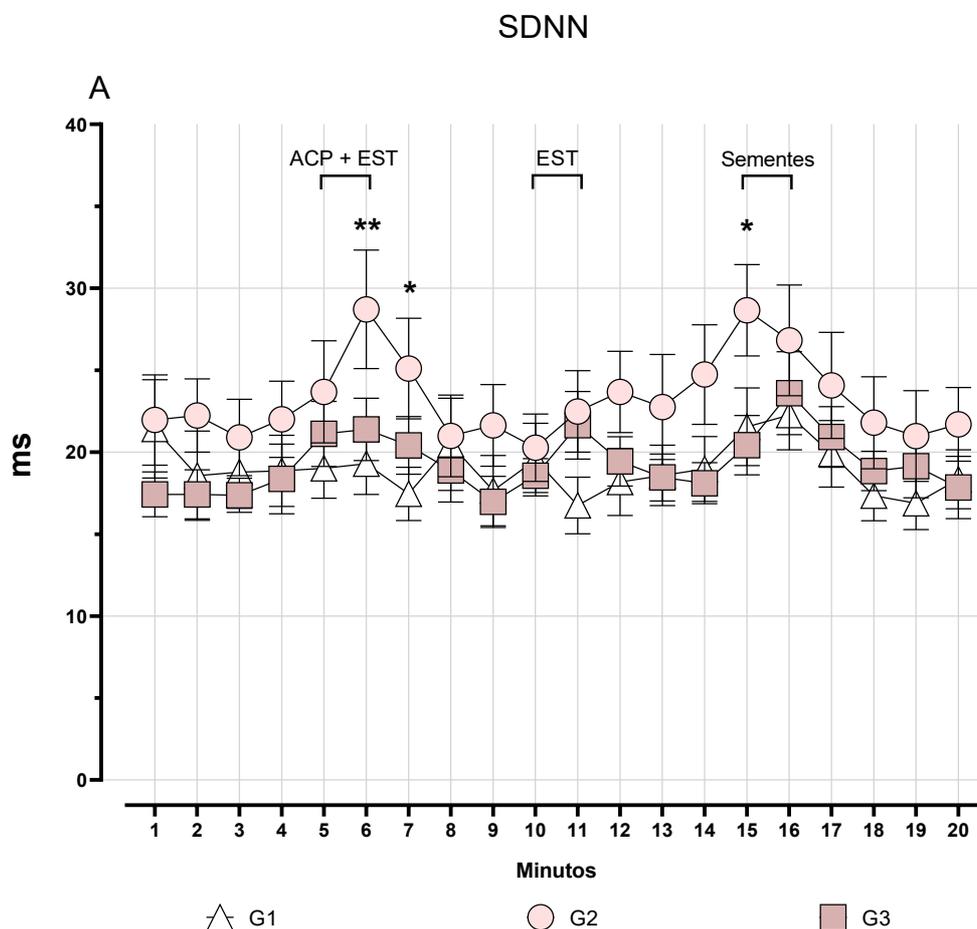
LIMIAR DE DOR A PRESSÃO (ALGOMETRIA) DO TRAPÉZIO DIREITO								
	Sham (G1)	RANV-D (G2)	RANV-E (G3)	Grupos	Intergrupo			
					Asymp. Sig. (2-tailed)	Z	Wilcoxon W	Whitney U
Basal	6,57(2,95)	6,68(10,59)	4,58(2,89)	G1-G2	<b>,035*</b>	<b>-2,103</b>	<b>236,500</b>	<b>83,500</b>
				G1-G3	<b>,036*</b>	<b>-2,102</b>	<b>236,500</b>	<b>83,500</b>
				G2-G3	,850	-,190	292,000	139,000
4 semanas	5,36(3,31)	4,28(2,41)	3,32(1,37)	G1-G2	,202	-1,276	260,500	107,500
				G1-G3	,070	-1,810	245,000	92,000
				G2-G3	,352	-,931	270,500	117,500
12 semanas	3,77(2,29)	4,71(4,56)	3,25(1,86)	G1-G2	,705	-,379	286,500	133,500
				G1-G3	,666	-,431	285,000	132,000
				G2-G3	,270	-1,103	265,500	112,500
Intragrupo								
Z / Basal - 4 semanas	-1,434(a)	-,655(a)	<b>-2,261(a)</b>					
Asymp. Sig. (2-tailed)	,152	,513	<b>,024*</b>					
Z / Basal - 12 semanas	<b>-2,857(a)</b>	-1,610(a)	<b>-2,386(a)</b>					
Asymp. Sig. (2-tailed)	<b>,004*</b>	,107	<b>,017*</b>					
Z / 4 semanas - 12 semanas	<b>-2,936(a)</b>	-,839(a)	-,949(a)					
Asymp. Sig. (2-tailed)	<b>,003*</b>	,401	,343					

Todos os valores são apresentados como média. Teste de Friedman seguido pelo *post-hoc* de Wilcoxon para os dados intragrupo e teste de Kruskal-Wallis seguido do *post-hoc de* Mann-Whitney U para os dados intergrupos. Comparações significativas são destacadas em negrito e o nível de significância com asterisco. (a) baseado em classificação positiva; (b) baseado em classificação negativa.

## EFEITOS AGUDO SOBRE A VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA

A análise do domínio de tempo mostrou que a acupuntura sobre o RANVD (G2) aumentou significativamente a VFC (SDNN),  $p < 0,0001$  ( $F(2, 592) = 27,32$ ), durante a inserção e manipulação da agulha,  $p = 0,0033$  (95% IC 2,643 a 16,20); e após a sua retirada, com a estimulação por sementes,  $p = 0,0372$  (95% IC 0,3321 a 13,89), todos em comparação ao grupo controle (**Figura 4**).

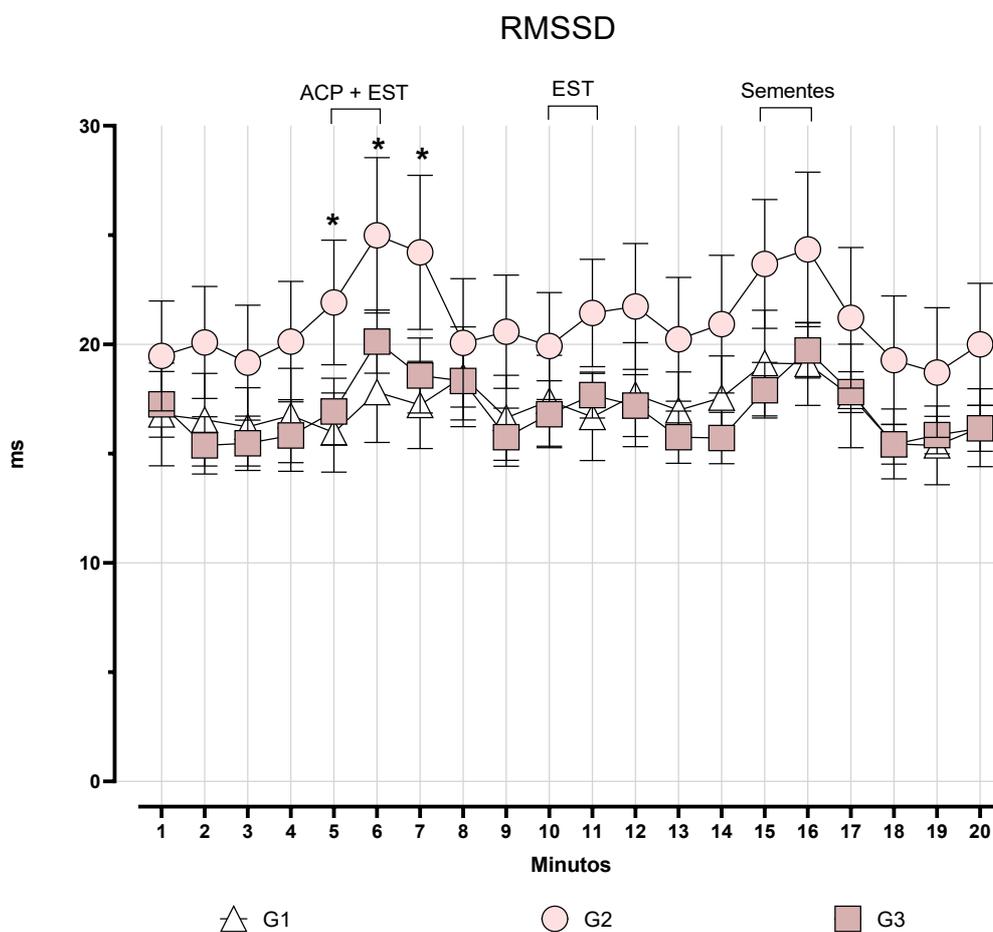
**Figura 4** - Efeito agudo da estimulação do RANV sobre a variabilidade da frequência cardíaca (SDNN).



Os resultados representam a média de 17 mulheres por grupo e as linhas verticais indicam o erro padrão da média (SEM). Os asteriscos indicam o nível de significância estatística em relação ao grupo controle (ANOVA de duas vias, seguido pelo post-hoc de Tukey), \* $p < 0,05$  e \*\* $p < 0,01$ . SDNN, desvio padrão dos intervalos NN; ACP, acupuntura; EST, estimulação.

A acupuntura sobre o RANVD (G2) também aumentou significativamente a atividade parassimpática (RMSSD),  $p < 0,0001$  ( $F(2, 537) = 36,12$ ), durante a inserção e manipulação da agulha  $p = 0,0131$  (95% IC 1,339 a 14,26), comparado ao grupo controle (**Figura 5**).

**Figura 5** - Efeito agudo da estimulação do RANV sobre a atividade parassimpática (RMSSD).



Os resultados representam a média de 17 mulheres por grupo e as linhas verticais indicam o erro padrão da média (SEM). Os asteriscos indicam o nível de significância estatística em relação ao grupo controle (ANOVA de duas vias, seguido pelo post-hoc de Tukey),  $*p < 0,05$ . RMSSD, raiz quadrada média de diferenças sucessivas de intervalos RR; ACP, acupuntura; EST, estimulação.

## EFEITOS ADVERSOS

Apenas dois efeitos adversos temporários foram relatados. Uma paciente do grupo controle (simulação) referiu náusea e tontura no momento da intervenção e uma paciente do grupo intervenção (RANV-D) referiu piora do sintoma de dor generalizada depois da primeira sessão. As duas pacientes finalizaram os 4 atendimentos e não relataram mais nenhum efeito adverso nas demais sessões.

## AValiação DO CEGAMENTO

Perguntado aos participantes que realizaram o follow-up de 12 semanas se tinham feito um tratamento verdadeiro ou falso, todos (100%) responderam ter recebido o tratamento verdadeiro, logo, sem diferença entre os grupos avaliados.

## DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou a eficácia da estimulação manual do RANV por acupuntura na redução da dor, do comportamento ansioso e depressivo, assim como na melhora da qualidade do sono, do pensamento catastrófico sobre dor e da força muscular, em mulheres diagnosticadas com FM.

A fibromialgia é uma condição bastante complexa, as evidências atuais indicam que esse quadro de hiperalgesia generalizada e distúrbios autonômicos recaem sobre a fisiopatologia da sensibilização do SNC, envolvendo também alterações inflamatórias e fatores psicossociais (GALVEZ-SÁNCHEZ et al., 2018; SARZI-PUTTINI et al., 2020; MARTINS et al., 2021).

Nesse sentido, investigamos se a acupuntura manual sobre o RANV era capaz de intervir na modulação simpática e parassimpática e se a lateralidade da estimulação interfere nesses resultados. Já foi demonstrado que pacientes diagnosticados com FM apresentam baixa VFC (STAUD, 2008; MEEUS, 2013; SARZI-PUTTINI, 2020). Esses achados de predominância simpática na VFC em pacientes com FM podem estar relacionados com a dor e depressão (LERMA, 2011).

Em um organismo saudável, há prevalência da modulação parassimpática em relação à modulação simpática, porém, em diferentes condições patológicas, a modulação simpática torna-se predominante, demonstrando uma disfunção autonômica (FARAH, 2020). A maioria dos estudos demonstra menor VFC em pacientes com FM em comparação com pessoas saudáveis, bem como aumento da atividade simpática (MEEUS, 2013; MARTINS et al., 2021).

Intervenções não farmacológicas como exercícios físicos, terapia manual, *Biofeedback*, realidade virtual, acupuntura e estimulação vagal aumentam a VFC em pacientes com fibromialgia (HASSETT, 2007; REIS, 2014; LIN, 2017; VILLAFAINA, 2020). Há evidências crescentes para o uso da acupuntura auricular e para a participação do nervo vago em seus mecanismos de ação, envolvendo a modulação do sistema nervoso autônomo (FRØKJAER et al., 2016). Nosso estudo demonstrou o efeito agudo da acupuntura sobre o RANV no aumento da VFC total e da modulação parassimpática para o coração, apenas quando a estimulação foi realizada no RANV-D e não no lado esquerdo. Estudos de anatomia mostram diferenças no trajeto nervoso dos ramos cervicais do vago direito e esquerdo. Nesse sentido, o nó sinoatrial do coração é inervado exclusivamente pelo ramo vagal direito, o que pode interferir na resposta autonômica do músculo cardíaco (BREIT, 2018; JOHNSON, 2018).

Nosso achado corrobora com o estudo de Machtetanz et al. (2021), onde foi demonstrado em humanos saudáveis um aumento significativo na VFC (SDNN) e na modulação parassimpática (RMSSD) durante a eletroestimulação de baixa frequência do RANV-D, quando comparada à eletroestimulação do RANV-E. Nesse sentido, demonstramos em mulheres com FM, que apenas a acupuntura no RANV-D aumentou significativamente de forma aguda os índices SDNN e RMSSD. Esses dados também corroboram com o estudo de Dieu-Thuong et al. (2022), onde demonstraram em indivíduos saudáveis que a estimulação com RANV-E não foi capaz de alterar significativamente a VFC.

Contamos com uma amostra homogênea em relação a idade, tempo dos sintomas da FM, IMC, uso de fármacos e na pontuação dos instrumentos específicos que avaliam a FM, como o IDG, a EGS e o QIF. Avaliamos a intensidade da dor como desfecho primário por meio da END e os participantes apresentaram na linha de base uma média de 6,98 (2,12) na END, o que representa uma dor moderada e está dentro

dos valores encontrados em demais estudos clínicos que avaliam tratamentos com estimulação vagal ou acupuntura em pacientes com fibromialgia (LANGE et al., 2011; UĞURLU et al., 2017; KARATAY et al., 2018; KUTLU et al., 2020).

Na análise intragrupo, apenas as pacientes que receberam o tratamento sobre o RANV-E tiveram uma redução significativa na intensidade da dor, atingindo uma diferença de 2,81 pontos na END, ou seja, acima da diferença mínima clinicamente importante (DMCI) de 2 pontos (SALAFFI et al., 2004; CLAUW et al., 2008). Porém, na análise intergrupo essa diferença não foi significativa (**Tabela 7**).

Nos desfechos secundários, o grupo que recebeu o tratamento sobre o RANV-E teve uma melhora significativa intragrupo na análise da gravidade dos sintomas (EGS), da funcionalidade e qualidade de vida (QIF), da depressão (IDB), da ansiedade (IAB) e do pensamento catastrófico sobre dor (EPCD), após 4 meses de tratamento e no follow-up de 12 semanas. Contudo, na análise intergrupos o único desfecho que apresentou um efeito significativo foi na avaliação da gravidade dos sintomas da fibromialgia (EGS), que ocorreu no follow-up de 12 semanas, quando comparado ao grupo controle (**Tabela 7**).

O tratamento sobre o RANV não produziu nenhum outro resultado significativo na análise intergrupos. Porém, na análise intragrupo mostrou que as pacientes que receberam tratamento sobre o RANV-D, tiveram uma redução do número de regiões com dor (IDG), melhora da ansiedade (IAB) e do pensamento catastrófico sobre dor (EPCD), após 4 semanas de tratamento e no follow-up de 12 semanas de acompanhamento. Ainda na análise intragrupo, esse foi o único grupo que apresentou uma melhora significativa na qualidade do sono (IQSP), tanto após 4 semanas de tratamento, como no follow-up de 12 semanas (**Tabela 7**).

O grupo que recebeu o tratamento no RANV-E teve uma melhora na qualidade do sono (IQSP) apenas no follow-up de 12 semanas, e uma redução no número de regiões com dor no corpo (IDG) após 4 semanas, mas esse efeito não foi mantido no acompanhamento de 12 semanas. No grupo que recebeu o tratamento sobre o RANV-D a melhora no escore de depressão (IDB), qualidade de vida e funcionalidade (QIF), ocorreu apenas no follow-up de 12 semanas (**Tabela 7**).

**Tabela 7.** Mapa de desempenho dos grupos.

Desfecho primário	FIBROMIALGIA*									
	END	EGS	IDG	QIF	IDB	IAB	EPCD	IQSP	FM	PPT
CONTROLE (G1)	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
RANV-D (G2)	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
RANV-E (G3)	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●

●	●	●	●
Sem efeito	Efeito intragrupo T1 ou T2	Efeito intragrupo T1 e T2	Efeito intra e intergrupos

END = escala numérica de dor; EGS = escala de gravidade dos sintomas; IDG = índice de dor generalizada; QIF = questionário de impacto da fibromialgia; IDB = inventário de depressão de Beck; IAB = inventário de ansiedade de Beck; EPCD = escala de pensamentos catastróficos sobre dor; IQSP = índice de qualidade de sono de Pittsburgh; FM = força muscular; PPT = limiar de dor a pressão, T1 = após 4 semanas; T2 = follow-up de 12 semanas. O asterisco separa os instrumentos específicos para a avaliação da fibromialgia.

Utilizamos no grupo controle a acupuntura simulada proposta pelo protocolo de VAS (2011), um modelo de simulação que já tinha sido validado por SHERMAN (2002). Nossos resultados demonstraram um bom desempenho da acupuntura simulada. O grupo controle só apresentou efeito significativo na análise intragrupo das avaliações da dor generalizada (IDG) e no questionário de fibromialgia (QIF), todas após 4 semanas e sem efeito no follow-up de 12 semanas (**Tabela 7**). Além disso, todos pacientes do grupo controle, e que finalizaram o estudo, responderam no questionário de randomização que acreditavam ter recebido o tratamento verdadeiro.

Estudos com estimulação vagal e fibromialgia são bastante escassos. Nossa busca da literatura encontrou apenas duas publicações, corroborando com a revisão de Martins (2021). A primeira publicação foi um estudo de segurança e eficácia da estimulação invasiva do nervo vago em 14 mulheres com diagnóstico de fibromialgia, mas que também avaliou a eficácia da intervenção em relação a dor (LANGE et al., 2011). Esse estudo de um único braço, avaliou a estimulação invasiva do ramo cervical esquerdo e registrou uma redução significativa na intensidade e no número de pontos dolorosos em relação aos dados basais, ou seja, em uma análise

intragrupo. O segundo é um estudo controlado randomizado que avaliou a eletroestimulação transcutânea do RANV-E associada com exercícios e comparada a um grupo controle que só realizou os exercícios (KUTLU et al., 2020). Esse estudo mostrou efeito do tratamento em ambos os grupos, mas sem diferença significativa na análise intergrupos.

Em contrapartida, estudos com estimulação vagal são bastante promissores em outras condições, porém, todos são mediados por eletroestimulação transcutânea (MARTINS et al, 2021). Nosso estudo parece ser o primeiro ensaio randomizado controlado que investigou a estimulação do RANV em pacientes com fibromialgia e que usou como controle um grupo simulado por intervenção placebo.

Como limitação, não foi possível cegar o terapeuta em relação à alocação do tratamento. Por outro lado, pacientes e avaliadores foram cegados. Tivemos uma alta taxa de abandono (25,5%), acima da nossa estimativa de perda (20%), o que reduziu nosso número de participantes abaixo do estipulado no cálculo amostral. Esse fator pode ter contribuído para a falta de significância nos resultados intergrupos, caracterizando um erro estatístico do tipo II. Também não sabemos se um tratamento acima da nossa proposta de 4 sessões poderia ter produzido um melhor desempenho.

Por fim, não existe um tratamento padrão ouro na FM, sua abordagem terapêutica deve ser individualizada, considerando uma provável existência de subgrupos de pacientes. Além disso, estudos com antidepressivos, anticonvulsivantes, analgésicos e relaxantes musculares, fármacos que fazem parte das atuais diretrizes clínicas, possuem efeitos limitados e eventos adversos frequentes. O exercício físico, apesar de ter recomendação forte na fibromialgia, possui baixa aderência no início, tanto pelo perfil psicológico dos pacientes, como pela falta de condicionamento e sensibilização do quadro (SARZI-PUTTINI et al. 2020).

## **CONCLUSÃO**

Este foi o primeiro estudo randomizado controlado por simulação que avaliou a eficácia da acupuntura manual sobre o RANV em pacientes com fibromialgia. A acupuntura sobre o RANV não foi eficaz para reduzir a intensidade da dor em

pacientes com fibromialgia. Contudo, tendo em vista nossos achados intragrupo, nossas limitações em relação ao tamanho da amostra e o tempo de intervenção, acreditamos que nossos dados fornecem subsídios para viabilizar novos estudos clínicos randomizados controlados, com maior população amostral e maior tempo de intervenção, a fim melhorar as evidências para o uso da acupuntura sobre o ramo auricular do nervo vago no tratamento da fibromialgia.

## **APROVAÇÃO ÉTICA E CONSENTIMENTO PARA PARTICIPAR**

Este estudo foi realizado de acordo com o Código de Ética da Associação Médica Mundial (Declaração de Helsinki), venceu o edital de financiamento da Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC), por meio do Edital Fapesc nº 16/2020 – Programa de Pesquisa para o SUS: gestão compartilhada em saúde, e teve previsão de finalização em 2023. Foi registrado no Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos (RBR-10d3crf) após sua aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Catarina (CAAE 36783520.9.0000.0121). O consentimento informado por escrito foi obtido de todos os participantes.

## **CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES**

Concepção/ideia/desenho de investigação: ML, MDS; escrita: MLN, BDC, MDS; coleta de dados: MLN, JBF, SIK, PA, LBG; análise de dados: MLN, BDC, SIK, MDS; gestão de projetos: MLN; aquisição de fundos: MLN, GFFS, MDS; disponibilização de instalações/equipamentos: MLN, GFFS, MDS; ligação institucional: MDS.

## **CONFLITO DE INTERESSES**

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

## RECONHECIMENTO

Agradecemos imensamente ao Prof. Dr. Adair R. S. dos Santos, grande amigo e orientador, que contribuiu intensamente para o nosso trabalho (Conceito/ideia/desenho de pesquisa e Fornecimento de instalações) e faleceu recentemente, deixando muitas saudades. Agradecemos também ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), bolsa do Programa INCT-INOVAMED (465430/2014-7) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001. O projeto foi contemplado com financiamento da Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC), por meio do Edital Fapesc nº 16/2020 – Programa de Pesquisa para o SUS: gestão compartilhada em saúde. A agência financiadora não tem nenhum papel ou responsabilidade neste estudo. Os autores deste manuscrito são as pessoas chave do estudo e foram responsáveis pelo seu desenvolvimento. O neurologista (IKR) não teve nenhum papel no desenvolvimento dos resultados primários ou na intervenção. No entanto, ele exigiu a adição de resultados de segurança que não estão incluídos neste estudo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERTOLAZI, A.N.; FAGONDES, S.C.; HOFF, L.S. et al. Validation of the Brazilian Portuguese version of the Pittsburgh Sleep Quality Index. **Sleep Med.** 12(1): 70-75, 2011.

BREIT, S.; KUPFERBERG, A.; ROGLER, G. et al. Vagus Nerve as Modulator of the Brain-Gut Axis in Psychiatric and Inflammatory Disorders. **Front Psychiatry.** 9: 44, 2018.

BUYSSE, D.J.; REYNOLDS, C.F.; MONK, T.H. et al. The Pittsburgh Sleep Quality Index: a new instrument for psychiatric practice and research. **Psychiatry Res.** 28(2):193-213, 1989.

CLAUW, D.J.; MEASE, P.; PALMER, R.H. et al. Milnacipran for the treatment of fibromyalgia in adults: a 15-week, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, multiple-dose clinical trial. **Clin Ther.** 30:1988-2004, 2008.

DABIRI, B.; KAMPUSCH, S.; GEYER, S.F. et al. High-Resolution Episcopic Imaging for Visualization of Dermal Arteries and Nerves of the Auricular Cymba Conchae in Humans. **Front Neuroanat.** 14:22, 2020.

DIEU-THUONG, T.T.; QUE-CHI, T.N.; MINH-MAN, P.B. et al. Heart Rate Variability during Auricular Acupressure at Heart Point in Healthy Volunteers: A Pilot Study. **Evid Based Complement Alternat Med.** 2022:1019029, 2022.

ERNST, G. Heart-rate variability-more than heart beats? **Front Public Health;** 11; 5: 240, 2017.

FARAH, B.Q. Heart Rate Variability as an Indicator of Cardiovascular Risk in Young Individuals. **Arq Bras Cardiol.** 115(1): 59–60, 2020.

FISCHER, A.A. Pressure algometry over normal muscles. Standard values, validity, and reproducibility of pressure threshold. **Pain.** 30:115-126, 1987.

FRØKJAER, J.B.; BERGMANN, S.; BROCK, C. et al. Modulation of vagal tone enhances gastroduodenal motility and reduces somatic pain sensitivity. **Neurogastroenterol Motil.** 28: 592-598, 2016.

GALVEZ-SÁNCHEZ, C.M.; MUÑOZ, L.G.; MONTORO, C.I. et al. Cognitive deficits in fibromyalgia syndrome are associated with pain responses to low intensity pressure stimulation. **PLoS One.** 13(8): e0201488, 2018.

GANDINI, R.C.; MARTINS, M.C.F.; RIBEIRO, M.P. et al. Beck Depression Inventory - BDI: factorial analysis for women with cancer. **Psico-USF.** 12 (1): 23-31, 2007.

HARRIS, R.E.; SUNDGREN, P.C.; CRAIG, A.D. et al. Elevated insular glutamate in fibromyalgia levels is associated with experimental pain. **Arthritis Rheum.** 60 (10): 3146–3152, 2009.

HASSETT, A.L.; RADVANSKI, D.C.; VASCHILLO, E.G. et al. A pilot study of the efficacy of heart rate variability (HRV) biofeedback in patients with fibromyalgia. **Appl Psychophysiol Biofeedback.** 32(1):1-10, 2007.

JULIOUS, S.A. Sample size of 12 per group rule of thumb for a pilot study. **Pharm Stat.** 4(4):287-291, 2005.

KIM, H.; CHEON, E.; BAI, D. et al. Stress and heart rate variability: a meta-analysis and review of the literature. **Psychiatry Investig;** 15(3):235-245, 2018.

JOHNSON, R.L.; WILSON, C.G. A review of vagus nerve stimulation as a therapeutic intervention. **J Inflamm Res.** 11: 203-213, 2018.

JUNIOR, J.S.; NICHOLAS, M.K.; PEREIRA, I.A. et al. Validation of the Pain-Related Catastrophizing Thoughts Scale. **Physiatric Acta.** 15(1): 31-36, 2008.

KARATAY, S.; OKUR, S.C.; UZKESER, H. Effects of Acupuncture Treatment on Fibromyalgia Symptoms, Serotonin, and Substance P Levels: A Randomized Sham and Placebo-Controlled Clinical Trial. **Pain Med.** 19(3):615-628, 2018.

KUTLU, N.; ÖZDEN, A.V.; ALPTEKIN, H.K. et al. The Impact of Auricular Vagus Nerve Stimulation on Pain and Life Quality in Patients with Fibromyalgia Syndrome. **Biomed Res Int.** 2020: 8656218, 2020.

LANGE, G.; JANAL, M.N.; MANIKER, A. et al. Safety and efficacy of vagus nerve stimulation in fibromyalgia: a phase I/II proof of concept trial. **Pain Med.** 12(9): 1406-13, 2011.

LERMA, C.; MARTINEZ, A.; RUIZ, N. et al. Nocturnal heart rate variability parameters as potential fibromyalgia biomarker: correlation with symptoms severity. **Arthritis Res Ther.** 13(6): R185, 2011.

LIN, S.; WICHAI, E.; AMONRAT, J. et al. Effect of acupuncture on heart rate variability during prolonged high-intensity training in soccer players. **J Tradit Chin Med.** 37(5):636-642, 2017.

MACFARLANE, G.J.; KRONISCH, C.; DEAN, L.E. et al. EULAR revised recommendations for the management of fibromyalgia. **Ann Rheum Dis.** 76(2):318-328, 2017.

MACHETANZ, K; BERELIDZE, L; GUGGENBERGER, R. et al. Transcutaneous auricular vagus nerve stimulation and heart rate variability: Analysis of parameters and targets. **Auton Neurosci.** 236:102894, 2021.

MARQUES, A.P.; SANTOS, A.MB.; ASSUMPÇÃO, A. Validation of the Brazilian Version of the Fibromyalgia Impact Questionnaire (FIQ). **Rev. Bras. Reumatol.** 46(1): 24-31, 2006.

MARTINS, D.F.; VISEUX, F.J.F.; SALM, D.C. et al. The role of the vagus nerve in fibromyalgia syndrome. **Neurosci Biobehav Rev.** 131:1136-49, 2021.

MEEUS, M.; GOUBERT D.; DE BACKER F. et al. Heart rate variability in patients with fibromyalgia and patients with chronic fatigue syndrome: a systematic review. **Semin Arthritis Rheum.** 43(2):279-87, 2013.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Manual de implementação de serviços de práticas integrativas e complementares no SUS. **Basic Care Department.** 2018.

MISAILIDOU, V.; MALLIOU, P.; BENEKA, A. et al. Assessment of patients with neck pain: a review of definitions, selection criteria, and measurement tools. **J Chiropr Med.** 9(2): 49-59, 2010.

MOURA, C.C.; CHAVES, E.C.L.; ANA CARDOSO, A.C.L.R. et al. Auricular acupuncture for chronic back pain in adults: a systematic review and metanalysis. **Rev Esc Enferm USP.** 53:e03461, 2019.

NAPADOW, V.; EDWARDS, R.R.; CAHALAN, C.M. et al. Evoked Pain Analgesia in Chronic Pelvic Pain Patients using Respiratory-gated Auricular Vagal Afferent Nerve Stimulation. **Pain Med.** 13(6): 777-789, 2012.

NEVES, M.L.; KARVAT, J.; SIMÕES, R.R.; et al. The antinociceptive effect of manual acupuncture in the auricular branch of the vagus nerve in visceral and somatic acute pain models and its laterality dependence. **Life Sci.** 15; 309:121000, 2022.

PEUKER, E.T.; FILLER, T.J. The nerve supply of the human auricle. **Clin Anat.** 15:35-7, 2002.

QUINTÃO, S.; DELGADO, A.R.; PRIETO, G. Validity study of the Beck Anxiety Inventory (Portuguese version) by the Rasch Rating Scale model. **Psicol Reflex Crit.** 26: 2, 2013.

REIS, M.M.; ARANTES, P.M.M. Assessment of hand grip strength - validity and reliability of the saehan dynamometer. **Fisioter Pesqui.** 2011; 18: 176-81.

REIS, M.S; DURIGAN, J.L.Q.; ARENA, R. et al. Effects of posteroanterior thoracic mobilization on heart rate variability and pain in women with fibromyalgia. **Rehabil Res Pract.** 2014:898763, 2014.

SALAFFI, F.; STANCATI, A.; SILVESTRI, C.A. et al. Minimal clinically important changes in chronic musculoskeletal pain intensity measured on a numerical rating scale. **Eur J Pain**. 8(4):283-9, 2004.

SARZI-PUTTINI, P.; GIORGI, V.; MAROTTO, D. Fibromyalgia: an update on clinical characteristics, aetiopathogenesis and treatment. **Nat Rev Rheumatol**. 16(11):645-60, 2020.

SHERMAN, K.J.; HOGEBOOM, C.J.; CHERKIN, D.C.; et al. Description and validation of a noninvasive placebo acupuncture procedure. **J Altern Complement Med**. 8(1):11-9, 2002.

STAUD, R. Heart rate variability as a biomarker of fibromyalgia syndrome. **Fut Rheumatol**. 3(5): 475-83, 2008.

TESSER, C.D.; MORÉ, A.O.O.; SANTOS, M.C. et al. Auriculotherapy in primary health care: A large-scale educational experience in Brazil. **J Integr Med**. 17(4):302-309, 2019.

TSILIONI, I.; RUSSELL, I.J.; STEWART, J.M. et al. Neuropeptides CRH, SP, HK-1, and Inflammatory Cytokines IL-6 and TNF Are Increased in Serum of Patients with Fibromyalgia Syndrome, Implicating Mast Cells. **J Pharmacol Exp Ther**. 356: 664-672, 2016.

UĞURLU, F.G.; SEZER, N.; AKTEKIN, L. The effects of acupuncture versus sham acupuncture in the treatment of fibromyalgia: a randomized controlled clinical trial. **Acta Reumatol Port**. 42(1):32-7, 2017.

VANDERLEI, L.C.M.; PASTRE, C.M.; HOSHI, R.A. et al. Basic notions of heart rate variability and its clinical applicability. **Rev Bras Cir Cardiovasc**; 24; 2: 205-217, 2009.

VAS, J.; MODESTO, M.; AGUILAR, I. et al. Effects of acupuncture on patients with fibromyalgia: study protocol of a multicentre randomized controlled trial. **Trials**. 2011; 12:59.

VILLAFAINA, S.; COLLADO-MATEO, D.; J DOMÍNGUEZ-MUÑOZ, F.J. et al. Effects of exergames on heart rate variability of women with fibromyalgia: A randomized controlled trial. **Sci Rep**. 10(1):5168, 2020.

WANG, L.; WANG, Y.; WANG, Y. et al. Transcutaneous auricular vagus nerve stimulators: a review of past, present, and future devices. **Expert Rev Med Devices**. 19(1):43-61, 2022.

WOLFE, F.; CLAUW, D. J.; FITZCHARLES, M. et al. 2016 Revisions to the 2010/2011 fibromyalgia diagnostic criteria. **Semin Arthritis Rheum**. 46(3): 319-329, 2016.

## 5 CONSIDERAÇÕES E PERSPECTIVAS

A presente tese vem ao encontro da necessidade da investigação de novas abordagens terapêuticas não farmacológicas que possam contribuir para a terapia multimodal indicada para o manejo de pacientes diagnosticados com FM. Até o momento, não existe nenhuma intervenção padrão ouro para o tratamento da FM e as evidências recaem na combinação de várias modalidades terapêuticas e na individualização do tratamento, sendo este centrado no paciente.

Esta tese atende as necessidades de uma maior investigação de uma síndrome dolorosa que atinge grande parte da população mundial, acometendo principalmente a população feminina, ao mesmo tempo que investiga uma modalidade terapêutica inserida nas Práticas Integrativas e Complementares (PICs) já empregadas no Sistema Único de Saúde (SUS) no Brasil.

Desenvolvemos, dentro do Programa de Pós-graduação em Neurociências (PPGNeuro), pertencente ao Departamento de Fisiologia do Centro de Ciências Biológicas (CCB), na Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), um estudo translacional que contou com uma revisão narrativa, um estudo não clínico, um protocolo de estudo clínico e um ensaio clínico duplo cego com três braços.

Embora nosso tratamento tenha mostrado uma resposta diferente quanto a lateralidade da intervenção, quando comparamos os resultados do estudo não clínico com o estudo clínico, precisamos salientar que: (i) os estudos foram realizados com espécies diferentes; (ii) os experimentos com ratos são realizados em um ambiente controlado, diferente do que ocorre com estudos em humanos; (iii) enquanto em humanos trabalhamos com uma condição clínica que ainda não tem sua fisiopatologia completamente elucidada, o modelo de FM desenvolvida nos ratos é o resultado da depleção de monoaminas; (iv) as avaliações realizadas em ratos são feitas por testes que analisam apenas um aspecto/comportamento dentro de um determinado problema/distúrbio, enquanto em humanos são aplicados questionários de autopercepção que avaliam diversos aspectos dentro de um mesmo problema.

Não obstante, cabe ressaltar que esse tipo de estudo translacional é pioneiro na área, e fornece evidências importantes sobre o uso de modelos animais como ferramenta para o estudo de intervenções clínicas. Como mencionado anteriormente,

as diferenças encontradas podem ocorrer devido a uma ampla gama de condições, no entanto, as semelhanças na efetividade do tratamento reforçam o significativo impacto de estudos não clínicos. Deste modo, o presente estudo lançou luz sobre a aplicabilidade da ciência básica em um contexto humano, abrindo caminho para novas pesquisas que elucidem tais fatos.

Com a necessidade de atender as demandas geradas pelo estudo clínico, criamos um projeto de extensão no formato de curso, com objetivo de treinar, qualificar e capacitar os profissionais da saúde que participaram da pesquisa. Esse curso foi divulgado nas redes sociais da internet e realizado de forma semipresencial (online síncrona e presencial), como aulas práticas para aplicação dos questionários e da intervenção com acupuntura auricular. Após o treinamento, esses profissionais atuaram por meio de estágio voluntário de iniciação científica, sendo que um deles já ingressou no programa de pós-graduação em neurociências (PPGNeuro). Portanto, nosso projeto de extensão foi uma forma de divulgação científica que atraiu novos estudantes.

Nosso ensaio clínico também proporcionou uma aproximação do PPGNeuro com a comunidade, tivemos mais de 80 mulheres da Grande Florianópolis para o estudo e incluímos 51 voluntárias na pesquisa. No final da pesquisa, e após a análise dos dados, convidamos todas as voluntárias, incluídas ou não, para uma palestra de apresentação dos nossos resultados e das principais diretrizes clínicas para o manejo da fibromialgia. Este evento foi realizado no auditório do Centro de Ciências Biológicas (CCB/UFSC) no bairro Córrego Grande (Florianópolis). Nós contamos com a presença de mais de 30 participantes e vários familiares, que tiraram suas dúvidas sobre a doença, sobre os tratamentos disponibilizados, falaram sobre seus problemas e sobre os benefícios da terapêutica proposta percebidos por elas, assim como da importância do cuidado e amparo oferecidos no projeto, tanto pela UFSC como pelos profissionais envolvidos.

Por fim, esperamos que os nossos resultados possam servir como subsídio para diferentes publicações, além de abrir caminho para novas pesquisas voltadas ao tema, visando a melhora significativa da qualidade de vida de pacientes acometidas com FM.

## 6 CONCLUSÃO

Este trabalho teve por objetivo investigar os efeitos da estimulação do RANV utilizando acupuntura, em roedores e humanos com fibromialgia. Considerando os resultados da presente pesquisa concluímos que:

- Conforme nossa revisão de escopo sobre acupuntura auricular e estimulação do RANV, essas intervenções possuem potencial terapêutico para desencadear efeitos benéficos comportamentais, modular a resposta inflamatória, melhorar a função cardíaca e reduzir os sintomas depressivos, as crises convulsivas e a dor.
- A estimulação do RANV-D por acupuntura, mas não sobre o RANV-E, foi capaz de reverter as respostas comportamentais impostas pelo modelo de FM induzido por reserpina em ratas: (i) A estimulação do RANV-D por acupuntura apresentou efeito sob a alodinia mecânica, a dor espontânea e a hiperalgesia térmica ao frio (ii) a estimulação do RANV-D reduziu o comportamento tipo-depressivo quando analisadas nos testes de preferência a sacarose e nado forçado; (iii) a estimulação do RANV-D aumentou a concentração de BDNF no córtex pré-frontal; (iv) a estimulação do RANV-D impediu o aumento de citocinas pró inflamatórias TNF- $\alpha$  e IL1- $\beta$  no córtex pré-frontal.
- Em mulheres diagnosticadas com FM, conforme a análise intragrupo, a estimulação do RANV-E e do RANV-D foi capaz de: (i) reduzir a dor generalizada; (ii) reduzir o impacto da fibromialgia; (iii) reduzir a ansiedade; (iv) reduzir os indicadores de depressão; (v) melhorar a qualidade do sono.
- Em mulheres diagnosticadas com FM, conforme a análise intergrupo, a estimulação do RANV-E foi capaz de reduzir a gravidade dos sintomas.
- Por fim, tanto no modelo de FM em ratos, quanto em mulheres diagnosticadas com FM, existe diferença na resposta terapêutica quanto a lateralidade da intervenção: (i) a estimulação do RANV-D mostrou ser mais eficaz no modelo de FM induzida por reserpina em ratas; (ii) a estimulação do RANV-E demonstrou ser mais eficaz na redução da gravidade dos sintomas em mulheres diagnosticada com FM.

## 7 PUBLICAÇÕES

VIER, C.; BRACHT, M.A.; **NEVES, M.L.** et al. Effects of spinal manipulation and pain education on pain in patients with chronic low back pain: a protocol of randomized sham-controlled trial. **Integr Med Res.** 7(3):271-278, 2018.

VIER, C.; ALMEIDA, M.B.; **NEVES, M.L.** et al. The effectiveness of dry needling for patients with orofacial pain associated with temporomandibular dysfunction: a systematic review and meta-analysis. **Braz J Phys Ther.** 23(1):3-11, 2019.

**NEVES, M.L.**; DA SILVA, M.D. Ear acupuncture and neuromodulation. **Longhua Chin Med.** 4:20-20, 2021.

AVILA, L.; **NEVES, M.L.**; ABREU, A.R. et al. Cognitive functional therapy (CFT) compared with core training exercise (CTE) in patients with failed back surgery syndrome (FBSS): A study protocol for a randomized controlled trial. **J Bodyw Mov Ther.** 26: 428-34, 2021.

**NEVES, M. L.**; COUTINHO, B.D.; DA SILVA, E.D.C.; GENTIL, L.B.; SANTOS, A.R.S.; SILVA, M.D. Ear acupuncture and neuromodulation: narrative review. **Longhua Chin Med.** 01:21-42, 2022.

**NEVES, M.L.**; JHENIFER, K.; SIMÕES, R.R. et al. The antinociceptive effect of manual acupuncture in the auricular branch of the vagus nerve in visceral and somatic acute pain models and its laterality dependence. **Life Sci.** 309:121000, 2022.

## 8 REFERÊNCIAS

ALIMI, D.; CHELLY, J.E. New Universal Nomenclature in Auriculotherapy. **J Altern Complement Med.** 24:7-14, 2018.

ALIMI, D.; GEISSMANN, A.; GARDEUR, D. Auricular Acupuncture Stimulation Measured On Functional Magnetic Resonance Imaging. **Med Acupunct.**13:18-21, 2002.

ANDRADE, L.; GORENSTEIN, C.; FILHO, A.H.V. et al. Psychometric properties of the Portuguese version of the State-Trait Anxiety Inventory applied to college students: factor analysis and relation to the Beck Depression Inventory. **Braz J Med Biol Res.** 34:367-74, 2001.

ASHER, G.N.; JONAS, D.E.; COEYTAUX, R.R. et al. Auriculotherapy for pain management: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **J Altern Complement Med.** 16:1097-108, 2010.

BADRAN, B.W.; DOWDLE, L.T.; MITHOEFER, O.J. et al. Neurophysiologic effects of transcutaneous auricular vagus nerve stimulation (taVNS) via electrical stimulation of the tragus: A concurrent taVNS/Fmri study and review. **Brain Stimul.** 11:492-500, 2018.

BAZZICHI L, ROSSI A, GIULIANO T, et al. Association between thyroid autoimmunity and fibromyalgic disease severity. **Clin Rheumatol.** 26: 2115–2120, 2007.

BERGER AA, LIU Y, NGUYEN J. Efficacy of acupuncture in the treatment of fibromyalgia. **Orthop Rev.** 13:25085, 2021.

BERTOLAZI, A.N.; FAGONDES, S.C.; HOFF, L.S. et al. Validation of the Brazilian Portuguese version of the Pittsburgh Sleep Quality Index. **Sleep Med.** 12(1): 70-75, 2011.

BOROVIKOVA LV, IVANOVA S, ZHANG M, et al. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. **Nature.** 405: 458-462, 2000.

BRAZIL. Ministry of Health. Department of Health Care. Department of Primary Care. National Policy on Integrative and Complementary Practices in the SUS – PNPIC-SUS. Brasília: Ministry of Health, 2006. Available online: [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica\\_nacional\\_praticas\\_integrativas\\_complementares\\_2ed.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_nacional_praticas_integrativas_complementares_2ed.pdf)

BODENLOS, J.S.; KOSE, S.; BORCKARDT, J.J. et al. Vagus nerve stimulation acutely alters food craving in adults with depression. **Appetite.** 48:145-53, 2007.

BREIT, S.; KUPFERBERG, A.; ROGLER, G. et al. Vagus nerve as modulator of the brain-gut axis in psychiatric and inflammatory disorders. **Front Psychiatry.** 13(9):44, 2018.

BRUM, E.S.; BECKER, G.; FIALHO, M.F.P. et al. Animal models of fibromyalgia: What is the best choice? **Pharmacol Ther.** 230:107959, 2022.

BUSCH, V.; ZEMAN, F.; HECKEL, A. et al. “The effect of transcutaneous vagus nerve stimulation on pain perception - An experimental study”. **Brain Stimulation.** 6: 202–209, 2013.

BUYSSE, D.J.; REYNOLDS, C.F.; MONK, T.H. et al. The Pittsburgh Sleep Quality Index: a new instrument for psychiatric practice and research. **Psychiatry Res.** 28(2):193-213, 1989.

CABE, P.A.; TILSON, H.A.; MITCHELL, C.L. et al. A simple recording grip strength device. **Pharmacol Biochem Behav.** 8:101-102, 1978.

CHALMERS, J.A.; QUINTANA, D.S.; ABBOTT, M.J.A. et al. Anxiety Disorders are Associated with Reduced Heart Rate Variability: A Meta-Analysis. **Front Psychiatry.** 5: 80, 2014.

CHAPLEAU, M.W.; ROTELLA, D.L.; REHO, J.J. et al. Chronic vagal nerve stimulation prevents high-salt diet-induced endothelial dysfunction and aortic stiffening in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. **Am J Physiol Heart Circ Physiol.** 311:H276-85, 2016.

CHEING, G.L.; WAN, S.; LO, S.K. The use of auricular examination for screening hepatic disorders. **J Acupunct Meridian Stud.** 2:34-9, 2009.

CHIMENTI, R.L.; FREY-LAW, L.A.; SLUKA, K.A. A Mechanism-Based Approach to Physical Therapist Management of Pain. **Phys Ther.** 98(5):302-14, 2018.

CHOI, Y.; YOON, Y.W.; NA, H.S. et al. Behavioral signs of ongoing pain and cold allodynia in a rat model of neuropathic pain. **Pain.** 59(3):369-376, 1994.

CHUNG, W.Y.; Zhang, H.Q.; Zhang, S.P. Peripheral muscarinic receptors mediate the anti-inflammatory effects of auricular acupuncture. **Chin Med.** 6(1): 1-8, 2011.

CLAUW, D.J.; MEASE, P.; PALMER, R.H. et al. Milnacipran for the treatment of fibromyalgia in adults: a 15-week, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, multiple-dose clinical trial. **Clin. Ther.** 30:1988-2004, 2008.

COLVIN, L.; ATHERTON, R.; BANNISTER, J. et al. Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN). Management of chronic pain. Edinburgh: **SIGN**, 2019.

CONCEA. Brazilian guideline for the care and use of animals for scientific and educational purposes. **DBCA.** 2013.

COSTA, L.O.; MAHER, C.G.; LATIMER, J. Et al. Clinimetric testing of three self-report outcome measures for low back pain patients in Brazil: which one is the best? **Spine**. 2008; 33(22): 2459-63.

CUNHA, D.M.G.; BECEGATO, M.; MEURER, Y.S.R. et al. Neuroinflammation in early, late and recovery stages in a progressive parkinsonism model in rats. **Front Neurosci**. 16:923957, 2022.

DABIRI, B.; KAMPUSCH, S.; GEYER, S.F. et al. High-Resolution Episcopic Imaging for Visualization of Dermal Arteries and Nerves of the Auricular Cymba Conchae in Humans. **Front Neuroanat**. 14:22, 2020.

DEARE J, ZHENG Z, XUE C, et al. Acupuncture for treating fibromyalgia. **Cochrane Database Syst Rev**. 5:1-90, 2013.

DEUIS, J.R.; DVORAKOVA, L.S.; VETTER, I. Methods Used to Evaluate Pain Behaviors in Rodents. **Front Mol Neurosci**. 10: 284, 2017.

DIEU-THUONG, T.T.; QUE-CHI, T.N.; MINH-MAN, P.B. et al. Heart Rate Variability during Auricular Acupressure at Heart Point in Healthy Volunteers: A Pilot Study. **Evid Based Complement Alternat Med**. 2022:1019029, 2022.

DU SERT, N.P.; HURST, V.; AHLUWALIA, A. et al. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. **PLoS Biol**. 18(7):e3000410, 2020.

ERNST, G. Heart-rate variability-more than heart beats? **Front Public Health**; 11; 5: 240, 2017.

FARAH, B.Q. Heart Rate Variability as an Indicator of Cardiovascular Risk in Young Individuals. **Arq Bras Cardiol**. 115(1): 59–60, 2020.

FAVERO, G.; TRAPLETTI, V.; BONOMIN, F. et al. Oral supplementation of melatonin protects against fibromyalgia-related skeletal muscle alterations in reserpine-induced myalgia rats. **Int J Mol Sci.** 18(7): 1389, 2017.

FERACO, P.; BACCI, A.; PEDRABISSI, F. et al. Metabolic abnormalities in pain-processing regions of patients with fibromyalgia: a 3T MR spectroscopy study. **AJNR Am J Neuroradiol.** 32:1585–90, 2011.

FISCHER, A.A. Pressure algometry over normal muscles. Standard values, validity, and reproducibility of pressure threshold. **Pain.** 30:115-126, 1987.

FOLAN-CURRAN, J.; HICKEY, K.; MONKHOUSE, W.S. Innervation of the rat external auditory meatus: a retrograde tracing study. **Somatosens Mot Res.** 11:65-68, 1994.

FOLLESA, P.; BIGGIO, F.; GORINI, G. Vagus nerve stimulation increases norepinephrine concentration and the gene expression of BDNF and bFGF in the rat brain. **Brain Res.** 1179:28-34, 2007.

FRANGOS, E.; ELLRICH, J.; KOMISARUK, B.R. Non-invasive Access to the Vagus Nerve Central Projections via Electrical Stimulation of the External Ear: Fmri Evidence in Humans. **Brain Stimul.** 8:624-36, 2015.

FRØKJAER, J.B.; BERGMANN, S.; BROCK, C. et al. Modulation of vagal tone enhances gastroduodenal motility and reduces somatic pain sensitivity. **Neurogastroenterol Motil.** 28:592-598, 2016.

GALVEZ-SÁNCHEZ, C.M.; GUEVARA, C.M.L.; MONTORO, C.I. et al. Cognitive deficits in fibromyalgia syndrome are associated with pain responses to low intensity pressure stimulation. **PLoS One.** 13(8):e0201488, 2018.

GANDINI, R.C.; MARTINS, M.C.F.; RIBEIRO, M.P. et al. Beck Depression Inventory - BDI: factorial analysis for women with cancer. **Psico-USF** 12. (1): 23-31, 2007.

GAO, X.Y.; ZHANG, S.P.; ZHU, B. et al. Investigation of specificity of auricular acupuncture points in regulation of autonomic function in anesthetized rats. **Auton Neurosci.** 138(1-2):50-6, 2008.

GAO, X.Y.; WANG, L.; GAISCHEK, I. et al. Brain-modulated effects of auricular acupressure on the regulation of autonomic function in healthy volunteers. **Evid Based Complement Alternat Med.** 2012: 714391, 2012.

GOEBEL A, KROCK E, GENTRY C, et al. Passive transfer of fibromyalgia symptoms from patients to mice. **J Clin Invest.** 131: 144201, 2021.

GORI L, FIRENZUOLI F. Ear acupuncture in European traditional medicine. **Evid Based Complement Alternat Med.** 4:13-6, 2007.

GUO, X.; ZHAO, Y.; HUANG, F. et al. Effects of Transcutaneous Auricular Vagus Nerve Stimulation on Peripheral and Central Tumor Necrosis Factor Alpha in Rats with Depression-Chronic Somatic Pain Comorbidity. **Neural Plast.** 2020:8885729, 2020.

GUR, A.; OKTAYOGLU, P. Status of immune mediators in fibromyalgia. **Curr Pain Headache Rep.** 12(3):175-81, 2008.

HAN, W.; TELLEZ, L.A.; PERKINS, M.H. A Neural Circuit for Gut-Induced Reward. **Cell.** 175:665-78, 2018.

HARRIS, R.E.; SUNDGREN, P.C.; CRAIG, A.D. et al. Elevated insular glutamate in fibromyalgia levels is associated with experimental pain. **Arthritis Rheum.** 60(10):3146–52, 2009.

HARRIS, R.E.; SUNDGREN, P.C.; PANG, Y. et al. Dynamic levels of glutamate within the insula are associated with improvements in multiple pain domains in fibromyalgia. **Arthritis Rheum.** 58(3):903-07, 2008.

HASSETT, A.L.; RADVANSKI, D.C.; VASCHILLO, E.G. et al. A pilot study of the efficacy of heart rate variability (HRV) biofeedback in patients with fibromyalgia. **Appl Psychophysiol Biofeedback**. 32(1):1-10, 2007.

HÄUSER, W.; BERNARDY, K.; UÇEYLER, N. et al. Treatment of fibromyalgia syndrome with antidepressants. A meta-analysis. **JAMA**. 301(2):198-209, 2009.

HÄUSER W, SARZI-PUTTINI P, FITZCHARLES M.A. Fibromyalgia syndrome: under-, over- and misdiagnosis. **Clin Exp Rheumatol**. 37: 90–97, 2019.

HE, Y.; GUO, X.; MAY, B.H. et al. Clinical Evidence for Association of Acupuncture and Acupressure With Improved Cancer Pain: A Systematic Review and Meta-Analysis. **JAMA Oncol**. 6:271-8, 2020.

HOU, P.W.; HSU, H.C.; LIN, Y.W. et al. The History, Mechanism, and Clinical Application of Auricular Therapy in Traditional Chinese Medicine. **Evid Based Complement Alternat Med**. 2015:495684, 2015.

HUANG, H. Ear Acupuncture. Emmaus, PA, USA: **Rodale Press**, 1974.

JOHNSON, R.L.; WILSON, C.G. A review of vagus nerve stimulation as a therapeutic intervention. **J Inflamm Res**. 11:203-213, 2018.

JULIOUS, S.A. Sample size of 12 per group rule of thumb for a pilot study. **Pharm Stat**. 4(4):287-291, 2005.

JUNIOR, J.S.; NICHOLAS, M.K.; PEREIRA, I.A. et al. Validation of the Pain-Related Catastrophizing Thoughts Scale. **Physiatric Acta**. 15(1): 31-36, 2008.

KADETOFF, D.; LAMPA, J.; WESTMAN, M. et al. Evidence of central inflammation in fibromyalgia — Increased cerebrospinal fluid interleukin-8 levels. **J Neuroimmunol**. 242:33-38, 2012.

KARATAY, S.; OKUR, S.C.; UZKESER, H. Effects of Acupuncture Treatment on Fibromyalgia Symptoms, Serotonin, and Substance P Levels: A Randomized Sham and Placebo-Controlled Clinical Trial. **Pain Med.** 19(3):615-628, 2018.

KIM, H.; CHEON, E.; BAI, D. et al. Stress and heart rate variability: a meta-analysis and review of the literature. **Psychiatry Investig.** 15(3):235-245, 2018.

KINGERY, W.S.; AGASHE, G.S.; GUO, T.Z. et al. Isoflurane and nociception: spinal alpha2A adrenoceptors mediate antinociception while supraspinal alpha1 adrenoceptors mediate pronociception. **Anesthesiology.** 96(2):367-74, 2002.

KISO, T.; MORIYAMA, A.; FURUTANI, M. et al. Effects of pregabalin and duloxetine on neurotransmitters in the dorsal horn of the spinal cord in a rat model of fibromyalgia. **Eur J Pharmacol.** 827:117-124, 2018.

KONG, J.; FANG, J.; PARK, J. et al. Treating Depression with Transcutaneous Auricular Vagus Nerve Stimulation: State of the Art and Future Perspectives. **Front Psychiatry.** 9:20, 2018.

KUTLU, N.; ÖZDEN, A.V.; ALPTEKIN, H.K. et al. The Impact of Auricular Vagus Nerve Stimulation on Pain and Life Quality in Patients with Fibromyalgia Syndrome. **Biomed Res Int.** 2020: 8656218, 2020.

LANDGREN, K. Ear Acupuncture: A Practical Guide. London: **Churchill Livingstone**, 2008.

LANGE, G.; JANAL, M.N.; MANIKER, A. et al. Safety and efficacy of vagus nerve stimulation in fibromyalgia: a phase I/II proof of concept trial. **Pain Med.** 12(9): 1406-13, 2011.

LERMA, C.; MARTINEZ, A.; RUIZ, N. et al. Nocturnal heart rate variability parameters as potential fibromyalgia biomarker: correlation with symptoms severity. **Arthritis Res Ther.** 13(6): R185, 2011.

LIN, S.; WICHAI, E.; AMONRAT, J. et al. Effect of acupuncture on heart rate variability during prolonged high-intensity training in soccer players. **J Tradit Chin Med.** 37(5):636-642, 2017.

LOBAY, D. Rauwolfia in the Treatment of Hypertension. **Integr Med.** v.14, n.13, p. 40-46. 2015.

LU, X.; WANG, Y.; LIU, C. et al. Depressive disorder and gastrointestinal dysfunction after myocardial infarct are associated with abnormal tryptophan-5-hydroxytryptamine metabolism in rats. **PLoS One.** 2017; 12(2): e0172339.

LUEDTKE, K.; BOUCHARD, S.M.; WOLLER, S.A. et al. Assessment of depression in a rodent model of spinal cord injury. **J Neurotrauma,** 31(12):1107–21, 2014.

MACFARLANE, G.J.; KRONISCH, C.; DEAN, L.E. et al. EULAR revised recommendations for the management of fibromyalgia. **Ann Rheum Dis.** 76(2):318-328, 2017.

MACHETANZ, K; BERELIDZE, L; GUGGENBERGER, R. et al. Transcutaneous auricular vagus nerve stimulation and heart rate variability: Analysis of parameters and targets. **Auton Neurosci.** 236:102894, 2021.

MARQUES, A.P.; SANTOS, A.MB.; ASSUMPÇÃO, A. Validation of the Brazilian Version of the Fibromyalgia Impact Questionnaire (FIQ). **Rev Bras Reumato** 46(1): 24-31, 2006.

MARTINS, D.F.; VISEUX, F.J.F.; SALM, D.C. et al. The role of the vagus nerve in fibromyalgia syndrome. **Neurosci Biobehav Rev.** 131:1136-49, 2021.

MATTEOLI, G.; GOMEZ-PINILLA, P.J.; NEMETHOVA, A. et al. A distinct vagal anti-inflammatory pathway modulates intestinal muscularis resident macrophages independent of the spleen. **Gut**. 63:938-48, 2014.

MATTSSON, J.L.; JOHNSON, K.A.; ALBEE, R.R. Lack of neuropathologic consequences of repeated dermal exposure to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in rats. **Fundam Appl Toxicol**. 6: 175-81, 1986.

MCKENNA, J.T.; CORDEIRA, J.W.; CHRISTIE, M.A. et al. Assessing sleepiness in the rat: a multiple sleep latencies test compared to polysomnographic measures of sleepiness. **J Sleep Res**. 17(4): 365–375, 2008.

MEEUS, M.; GOUBERT D.; DE BACKER F. et al. Heart rate variability in patients with fibromyalgia and patients with chronic fatigue syndrome: a systematic review. **Semin Arthritis Rheum**. 43(2):279-87, 2013.

MERCANTE, B.; DERIU, F.; RANGON, C.M. Auricular Neuromodulation: The Emerging Concept beyond the Stimulation of Vagus and Trigeminal Nerves. **Medicines**. 5:10, 2018.

MERCANTE, B.; GINATEMPO, F.; MANCA, A. et al. Anatomic-Physiologic Basis for Auricular Stimulation. **Med Acupunct**. 30:141-50, 2018.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Manual de implementação de serviços de práticas integrativas e complementares no SUS. **Basic Care Department**. 2018.

MISAILIDOU, V.; MALLIOU, P.; BENEKA, A. et al. Assessment of patients with neck pain: a review of definitions, selection criteria, and measurement tools. **J Chiropr Med**. 9(2): 49-59, 2010.

MOORE, R.A.; FISHER, E.; HÄUSER, W. et al. Pharmacological therapies for fibromyalgia (fibromyalgia syndrome) in adults - an overview of Cochrane Reviews. **Cochrane Database Syst Rev.** 8:CD013151, 2021.

MORÉ, A.O.O.; HARRIS, R.E.; NAPADOW, V. et al. Acupuncture Research in Animal Models: Rationale, Needling Methods and the Urgent Need for a Standards for Reporting Interventions in Clinical Trials of Acupuncture-Standards for Reporting Interventions in Acupuncture Using Animal Models Adaptation. **J Altern Complement Med.** 27(3):193-197, 2021.

MOURA, C.C.; CHAVES, E.C.L.; ANA CARDOSO, A.C.L.R. et al. Auricular acupuncture for chronic back pain in adults: a systematic review and metanalysis. **Rev Esc Enferm USP.** 53:e03461, 2019.

MURAKAMI, M.; FOX, L.; DIJKERS, M.P. Ear Acupuncture for Immediate Pain Relief- A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. **Pain Med.** 18:551-64, 2017.

NAGAKURA, Y.; MIWA, M.; YOSHIDA, M. et al. Spontaneous pain-associated facial expression and efficacy of clinically used drugs in the reserpine-induced rat model of fibromyalgia. **Eur J Pharmacol.** 864:172716, 2019.

NAGAKURA, Y.; OE, T.; AOKI, T. et al. Biogenic amine depletion causes chronic muscular pain and tactile allodynia accompanied by depression: A putative animal model of fibromyalgia. **Pain.** 146(1-2):26-33, 2009.

NAMGUNG, U.; KIM, K.; JO, B.; et al. Vagus nerve stimulation modulates hippocampal inflammation caused by continuous stress in rats. **J Neuroinflamm.** 19: 33, 2022.

NAPADOW, V.; EDWARDS, R.R.; CAHALAN, C.M. et al. Evoked Pain Analgesia in Chronic Pelvic Pain Patients using Respiratory-gated Auricular Vagal Afferent Nerve Stimulation. **Pain Med.** 13(6): 777-789, 2012.

NEVES, M.L.; KARVAT, J.; SIMÕES, R.R.; et al. The antinociceptive effect of manual acupuncture in the auricular branch of the vagus nerve in visceral and somatic acute pain models and its laterality dependence. **Life Sci.** 15; 309:121000, 2022.

NG, L.K.; DOUTHITT, T.C.; THOA, N.B. et al. Modification of morphine-withdrawal syndrome in rats following transauricular electrostimulation: an experimental paradigm for auricular electroacupuncture. **Biol Psychiatry.** 10:575-80, 1975.

NG LK. Auricular acupuncture in animals: effects of opiate withdrawal and involvement of endorphins. **J Altern Complement Med.** 2:61-3; discussion 73-5, 1996.

NOGIER, P. From Auriculotherapy to Auricular Medicine. **Sainte-Ruffine: Maisonneuve**, 1981.

OLESON, T.D. Auriculotherapy Manual. 4th edition. Toronto: **Elsevier**, 2013.

OLESON, T.D.; KROENING, R.J.; BRESLER, D.E. An experimental evaluation of auricular diagnosis: the somatotopic mapping of musculoskeletal pain at ear acupuncture points. **Pain.** 8:217-29, 1980.

O'MAHONY, L.F.; SRIVASTAVA, A.; MEHTA, P. et al. Is fibromyalgia associated with a unique cytokine profile? A systematic review and meta-analysis. **Rheumatology.** 60: 2602-2614, 2021.

PERROT, S.; RUSSELL, I.J. More ubiquitous effects from non-pharmacologic than from pharmacologic treatments for fibromyalgia syndrome: a meta-analysis examining six core symptoms. **Eur J Pain.** 18:1067-80, 2014.

PEUKER, E.T.; FILLER, T.J. The nerve supply of the human auricle. **Clin Anat.** 15:35-7, 2002.

PORGES, S.W. The polyvagal theory: phylogenetic substrates of a social nervous system. **Int. J. Psychophysiol.** 42(2):123-46, 2001.

QUEIROZ, L. P. Worldwide epidemiology of fibromyalgia. **Curr Pain. Headache Rep.** 17: 356, 2013.

QI, R.; WANG, M.; ZHONG, Q. et al. Chronic vagus nerve stimulation (VNS) altered IL-6, IL-1 $\beta$ , CXCL-1 and IL-13 levels in the hippocampus of rats with LiCl-pilocarpine-induced epilepsy. **Brain Res.** 1780:147800, 2022.

QUINTÃO, S.; DELGADO, A.R.; PRIETO, G. Validity study of the Beck Anxiety Inventory (Portuguese version) by the Rasch Rating Scale model. **Psicol Reflex. Crit.** 26: 2, 2013.

RABISCHONG, P.; TERRAL, C. Scientific Basis of Auriculotherapy: State of the Art. **Med Acupunct.** 26:84-96, 2014.

RANG, H.P.; DALE, M.M. **Pharmacology.** 7ed. Rio de Janeiro: Elsevier.p.216. 2012.

REIS, M.M.; ARANTES, P.M.M. Assessment of hand grip strength - validity and reliability of the saehan dynamometer. **Fisioter Pesqui.** 18: 176-81, 2011.

REIS, M.S; DURIGAN, J.L.Q.; ARENA, R. et al. Effects of posteroanterior thoracic mobilization on heart rate variability and pain in women with fibromyalgia. **Rehabil Res Pract.** 2014:898763, 2014.

REN, K.; DUBNER, R. Interactions between the immune and nervous systems in pain. **Nat Med.** 16: 1267–1276, 2010.

RIAZ, M. S.; BOHLEN, M.O.; GUNTER, B.W. et al. Attenuation of social interaction-associated ultrasonic vocalizations and spatial working memory performance in rats exposed to chronic unpredictable stress. **Physiol Behav.** 152: 128–134, 2015.

ROMOLI, M. Ear acupuncture: historical abstract-differences of ear cartography between the east and the west. **Dt Ztschrf Akup.** 53:24-33, 2010.

ROMOLI, M.; ALLAIS, G.; AIROLA, G. et al. Ear acupuncture and fMRI: a pilot study for assessing the specificity of auricular points. **Neurol Sci.** 35:189-93, 2014.

ROMOLI, M.; MAZZONI, R. The Validation of Auricular Diagnosis. **Dt Ztschrf Akup.** 52:10-6, 2009.

RONG, P.J.; ZHAO, J.J.; LI, Y.Q. et al. Auricular acupuncture and biomedical research--A promising Sino-Austrian research cooperation. **Chin J Integr Med.** 21:887-94, 2015.

RONG, P.J.; ZHAO, J.J.; WANG, L. et al. Analysis of Advantages and Disadvantages of the Location Methods of International Auricular Acupuncture Points. **Evid Based Complement Alternat Med.** 2016:2806424, 2016.

ROOKS, D.S.; GAUTAM, S.; ROMELING, M. et al. Group exercise, education, and combination self-management in women with fibromyalgia a randomized trial. **Arch Intern Med.** 167(20): 2192-200, 2007.

ROSSO, P.; IANNITELLI, A.; PACITTI, F. et al. Vagus nerve stimulation and Neurotrophins: a biological psychiatric perspective. **Neurosci Biobehav. Rev.** 113: 338–53, 2020.

RUNNOVA, A.; ZHURAVLEV, M.; KISELEV, A. Automatic wavelet-based assessment of behavioral sleep using multichannel electrocorticography in rats. **Sleep Breath.** 25: 2251–58, 2021.

SALAFFI, F.; STANCATI, A.; SILVESTRI, C.A. et al. Minimal clinically important changes in chronic musculoskeletal pain intensity measured on a numerical rating scale. **Eur J Pain.** 8(4):283-9, 2004.

SARZI-PUTTINI, P.; GIORGI, V.; MAROTTO, D. et al. Fibromyalgia: an update on clinical characteristics, aetiopathogenesis and treatment. **Nat Rev Rheumatol**. 16(11): 645-660, 2020.

SAXE, P.A.; ARNOLD, L.M.; PALMER, R.H. et al. Short-term (2-week) effects of discontinuing milnacipran in patients with fibromyalgia. **Curr Med Res Opin**. 28:815-21, 2012.

SHERMAN, K.J.; HOGEBOOM, C.J.; CHERKIN, D.C.; et al. Description and validation of a noninvasive placebo acupuncture procedure. **J Altern Complement Med**. 8(1):11-9, 2002.

SHIBRYA, E.E.; RADWAN, R.R.; EL FATTAH, M.A.A. et al. Evidences for amelioration of reserpine-induced fibromyalgia in rat by low dose of gamma irradiation and duloxetine. **Int J Radiat Biol**. 93(5): 553-560, 2017.

SINGH, I. Reserpine in Hypertension. **Br Med J**. 1(4917):813-7, 1955.

SOTOCINAL, S.G.; SORGE, R.E.; ZALOUM, A. et al. The rat grimace scale: a partially automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expressions. **Mol Pain**. 7:55, 2011.

SPAETH, M. Epidemiology, costs, and the economic burden of fibromyalgia. **Arthritis Res Ther**. 11: 2–3, 2009.

STAUD, R. Heart rate variability as a biomarker of fibromyalgia syndrome. **Fut Rheumatol**. 3(5): 475-83, 2008.

SUBRAMANIAN, M.; EDWARDS, L.; MELTON, A. et al. Non-invasive vagus nerve stimulation attenuates proinflammatory cytokines and augments antioxidant levels in the brainstem and forebrain regions of Dahl salt sensitive rats. **Sci Rep**. 10:17576, 2020.

SÜDHOF, T.C.; STARKE, K. Pharmacology of Neurotransmitter Release. **Handb Exp Pharmacol**. Springer. v.184, p.83-87. 2008.

SUEN, L.K.; YEH, C.H.; LEE, W.K. et al. Association of auricular reflective points and the status of lower urinary tract symptoms in aging males. **Aging Male**. 18:149-56, 2015.

SUGERMAN, D.T. Fibromyalgia. **JAMA**. 311(15):1577, 2014.

TAGUCHI. T.; KATANOSAKA, K.; YASUI, M. et al. Peripheral and spinal mechanisms of nociception in a rat reserpine-induced pain model. **Pain**. 156(3):415-427, 2015.

TALOTTA R, BAZZICHI L, DI FRANCO M, et al. One year in review 2017: fibromyalgia. **Clin Exp Rheumatol**. 35: 6-12, 2017.

Technical Supervise Bureau of State, The Nomenclature and Location of Ear Acupuncture Points. Beijing: **Chinese Standard Publishing House**, 2008.

TESSER, C.D.; MORÉ, A.O.O.; SANTOS, M.C. et al. Auriculotherapy in primary health care: A large-scale educational experience in Brazil. **J Integr Med**. 17(4):302-309, 2019.

TRACEY, K.J. The inflammatory reflex. **Nature**. 420:853-9, 2002.

TREEDE, R.D.; RIEF, W.; BARKE, A. et al. Chronic pain as a symptom or a disease: the IASP Classification of Chronic Pain for the International Classification of Diseases (ICD-11). **Pain**. 160(1):19-27, 2019.

TSILIONI, I.; RUSSELL, I.J.; STEWART, J.M. et al. Neuropeptides CRH, SP, HK-1, and inflammatory cytokines IL-6 and TNF are increased in serum of patients with

fibromyalgia syndrome, implicating mast cells. **J Pharmacol Exp Ther.** 356: 664–72, 2016.

UĞURLU, F.G.; SEZER, N.; AKTEKIN, L. The effects of acupuncture versus sham acupuncture in the treatment of fibromyalgia: a randomized controlled clinical trial. **Acta Reumatol Port.** 42(1):32-7, 2017.

USICHENKO, T.I.; LYSENYUK, V.P.; GROTH, M.H. et al. Detection of ear acupuncture points by measuring the electrical skin resistance in patients before, during and after orthopedic surgery performed under general anesthesia. **Acupunct Electrother Res.** 28:167-73, 2003.

USICHENKO, T.; LAQUA, R.; LEUTZOW, B. et al. Preliminary findings of cerebral responses on transcutaneous vagal nerve stimulation on experimental heat pain. **Brain Imaging Behav.** 11(1): 30-37, 2017.

VALDÉS, M.; COLLADO, A.; BARGALLÓ, N. et al. Increased Glutamate/Glutamine Compounds in the Brains of Patients With Fibromyalgia. **Arthritis Rheum.** 62(6):1829-183, 2010.

VAL-LAILLET, D.; BIRABEN, A.; RANDUINEAU, G. et al. Chronic vagus nerve stimulation decreased weight gain, food consumption and sweet craving in adult obese minipigs. **Appetite.** 55:245-52, 2010.

VAN BETTERAY, J.N.; VOSSSEN, J.M.; COENEN, A.M. Behavioural characteristics of sleep in rats under different light/dark conditions. **Physiol Behav.** 50(1):79-82, 1991.

VANDERLEI, L.C.M.; PASTRE, C.M.; HOSHI, R.A. et al. Basic notions of heart rate variability and its clinical applicability. **Rev Bras Cir Cardiovasc.** 2: 205-217, 2009.

VAS, J.; MODESTO, M.; AGUILAR, I. et al. Effects of acupuncture on patients with fibromyalgia: study protocol of a multicentre randomized controlled trial. **Trials**. 12:59, 2011.

VEITH, I. *The Yellow Emperor's Classic of Internal Medicine*. Berkeley, CA, USA: **University of California Press**, 1972.

VILLAFAINA, S.; COLLADO-MATEO, D.; J DOMÍNGUEZ-MUÑOZ, F.J. et al. Effects of exergames on heart rate variability of women with fibromyalgia: A randomized controlled trial. **Sci Rep**. 10(1):5168, 2020.

WANG, J.; IRNATEN, M.; NEFF, R.A. et al. Synaptic and neurotransmitter activation of cardiac vagal neurons in the nucleus ambiguous. **Ann N Y Acad Sci**. 940:237-46, 2001.

WANG, J.Y.; ZHANG, Y.; CHEN, Y. et al. Mechanisms underlying antidepressant effect of transcutaneous auricular vagus nerve stimulation on CUMS model rats based on hippocampal  $\alpha 7nAChR/NF-Kb$  signal pathway. **J Neuroinflammation**. 18:291, 2021.

WANG, L.; WANG, Y.; WANG, Y. et al. Transcutaneous auricular vagus nerve stimulators: a review of past, present, and future devices. **Expert Rev Med Devices**. 19(1):43-61, 2022.

WANG, L.; YANGA, J.; ZHAO, B. et al. The similarities between the World Federation of Acupuncture Moxibustion Societies' standards for auricular acupuncture points and the European System of Auriculotherapy Points according to Nogier and Bahr. **Eur J Integr Med**. 8:817-34, 2016.

WELLS, J.A.; SHIBATA, S.; FUJIKAWA, A. et al. Functional MRI of the reserpine-induced putative rat model of fibromyalgia reveals discriminatory patterns of functional augmentation to acute nociceptive stimuli. **Sci Rep**. 7:38325, 2017.

WIFFEN, P.J.; DERRY, S.; MOORE, R.A. et al. Antiepileptic drugs for neuropathic pain and fibromyalgia - an overview of Cochrane reviews. **Cochrane Database of Syst Reviews**. 11:CD010567, 2012.

WIRZ-RIDOLFI, A. The History of Ear Acupuncture and Ear Cartography: Why Precise Mapping of Auricular Points Is Important. **Med Acupunct**. 31:145-56, 2019.

WHO. Report of the Working Group on Auricular Acupuncture Nomenclature. France: **World Health Organization**, 1991.

WOLFE, F.; CLAUW, D. J.; FITZCHARLES, M. et al. 2016 Revisions to the 2010/2011 fibromyalgia diagnostic criteria. **Semin Arthritis Rheum**. 46(3): 319-329, 2016.

WOLFE, F.; CLAUW, D.J.; FITZCHARLES, M. et al. The American College of Rheumatology Preliminary Diagnostic Criteria for Fibromyalgia and Measurement of Symptom Severity. **Arthritis Care Res**. 2: 600-10, 2010.

World Federation of Acupuncture-Moxibustion Societies (WFAS). Auricular acupuncture point (WFAS STANDARD-002: 2012). **World J Acupunct-Moxibustion**. 23:12-21, 2013.

YAMAMOTO, K.; TSUBOI, M.; KAMBE, T. et al. Oxaliplatin administration increases expression of the voltage-dependent calcium channel  $\alpha_2\delta$ -1 subunit in the rat spinal cord. **J Pharmacol Sci**. 130(2):117-22, 2016.

YILMAZ, E.; TAMAM, L. Attention-deficit hyperactivity disorder and impulsivity in female patients with fibromyalgia. **Neuropsychiatr Dis Treat**. 14:1883-1889, 2018.

YU, Y.; HE, X.; WANG, Y. et al. Transcutaneous auricular vagal nerve stimulation inhibits limbic-regional P2X7R expression and reverses depressive-like behaviors in Zucker diabetic fatty rats. **Neurosci Lett**. 775:136562, 2022.

ZANG, Z. Essential Techniques for Massage, Beijing: **People's Medical Publishing House**, 1955.

ZHAO, B.; MENG, X.; SUN, J. An Analysis of the Development of Auricular Acupuncture in China in the Past 10 Years. **Med Acupunct**. 30:133-7, 2018.

ZHAO, M.; HE, X.; BI, X.Y. et al. Vagal stimulation triggers peripheral vascular protection through the cholinergic anti-inflammatory pathway in a rat model of myocardial ischemia/reperfusion. **Basic Res Cardiol**. 108:345, 2013.

ZHAO, Y.X.; HE, W.; JING, X.H. et al. Transcutaneous auricular vagus nerve stimulation protects endotoxemic rat from lipopolysaccharide-induced inflammation. **Evid Based Complement Alternat Med**. 2012:627023, 2012.

ZIMERMANN, M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. **Pain**. 16(2):109-10, 1983.

ZUROWSKI, D.; NOWAK, Ł.; WORDLICZEK, J. et al. Effects of vagus nerve stimulation in visceral pain model. **Folia Med Cracov**. 52(1-2): 57-69, 2012.

## ANEXO A

## CEUA



Universidade Federal  
de Santa Catarina

Comissão de Ética no  
Uso de Animais



## CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "EFEITO DA ESTIMULAÇÃO DO RAMO AURICULAR DO NERVO VAGO NO MODELO DE FIBROMIALGIA INDUZIDA POR RESERPINA EM RATOS", protocolada sob o CEUA nº 9733250219 (ID 001195), sob a responsabilidade de **Adair Roberto Soares dos Santos e equipe; Marcos Lisboa Neves; Jhenifer Karvat** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina (CEUA/UFSC) na reunião de 11/04/2019.

We certify that the proposal "EFFECT OF STIMULATION OF THE AURICULAR BRANCH OF THE VAGUS NERVE THE MODEL OF FIBROMYALGIA INDUCED BY RESERPINA IN RATS", utilizing 120 Heterogenics rats (120 females), protocol number CEUA 9733250219 (ID 001195), under the responsibility of **Adair Roberto Soares dos Santos and team; Marcos Lisboa Neves; Jhenifer Karvat** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Santa Catarina (CEUA/UFSC) in the meeting of 04/11/2019.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa](#)

Vigência da Proposta: de [04/2019](#) a [11/2022](#) Área: [Farmacologia](#)

Origem:	<a href="#">Biotério Central</a>	sexo:	<a href="#">Fêmeas</a>	idade:	<a href="#">60 a 90 dias</a>	N:	<a href="#">120</a>
Espécie:	<a href="#">Ratos heterogênicos</a>			Peso:	<a href="#">200 a 300 g</a>		
Linhagem:	<a href="#">Wistar</a>						

Local do experimento: Laboratório de neurobiologia da dor e inflamação (LANDI)

Florianópolis, 11 de abril de 2019

Prof. Dr. Aderbal Silva Aguiar Junior  
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dra. Thereza Christina Monteiro de Lima  
Vice-Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal de Santa Catarina

## ANEXO B

## CEP / UFSC

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
SANTA CATARINA - UFSC



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DA EMENDA**

**Título da Pesquisa:** EFEITO DA ESTIMULAÇÃO DO RAMO AURICULAR DO NERVO VAGO NA FIBROMIALGIA

**Pesquisador:** Morgana Duarte da Silva

**Área Temática:**

**Versão:** 6

**CAAE:** 36783520.9.0000.0121

**Instituição Proponente:** Universidade Federal de Santa Catarina

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 5.981.851

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_2075554_E2.pdf	15/03/2023 14:52:49		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoDoutoradoPlataformaBrasil_eme nda_2023.pdf	15/03/2023 14:51:04	marcos lisboa neves	Aceito
Outros	CARTA_RESPOSTA_2023_assinado.pdf	15/03/2023 14:49:52	marcos lisboa neves	Aceito
Declaração de concordância	Alteracao_pesquisador_responsavel_AS SINADO.pdf	14/03/2023 07:56:19	GUSTAVO HENRIQUE MARQUARDT	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMOCONSENTIMENTOLIVREESCLARECIDO_final_2023.pdf	28/02/2023 15:28:23	marcos lisboa neves	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_Ass_Prof_Vander.jpg	29/09/2020 16:46:58	marcos lisboa neves	Aceito
Parecer Anterior	PB_PARECER_CONSUBSTANCIADO_CEP_4252542.pdf	05/09/2020 16:22:29	marcos lisboa neves	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRosto_assinado.pdf	05/09/2020 16:01:56	marcos lisboa neves	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

FLORIANOPOLIS, 03 de Abril de 2023

Assinado por:  
Nelson Canzian da Silva  
(Coordenador(a))

## ANEXO C

Registro no REBEC

**RBR-10d3crcf Effect of Vagus Nerve Stimulation on Fibromyalgia**Date of registration: 03/05/2021 (mm/dd/yyyy)Last approval date : 03/05/2021 (mm/dd/yyyy)**Study type:**

Interventional

## ANEXO D

## Edital FAPESC



**Edital de Chamada Pública Fapesc nº 16/2020**  
**Programa Pesquisa para o SUS: Gestão Compartilhada em Saúde – PPSUS**

**Resultado Final das Propostas Aprovadas**

Proponente/Coordenador	Título do Projeto	Instituição	Valor Aprovado
Adair Roberto Soares dos Santos	Avaliação da efetividade do uso da estimulação do ramo auricular do nervo vago por acupuntura para o cuidado do paciente com fibromialgia: Ensaio clínico randomizado, controlado e duplo-cego	UFSC	43.200,00

Informe Decreto Estadual nº 39, de 21 de fevereiro de 2019, 20 e o código Z4991TAQ.

## ANEXO E

## ARRIVE



## The ARRIVE guidelines 2.0: author checklist

## The ARRIVE Essential 10

These items are the basic minimum to include in a manuscript. Without this information, readers and reviewers cannot assess the reliability of the findings.

Item	Recommendation	Section/line number, or reason for not reporting
Study design	1 For each experiment, provide brief details of study design including:	Pg 31
	a. The groups being compared, including control groups. If no control group has been used, the rationale should be stated. b. The experimental unit (e.g. a single animal, litter, or cage of animals).	Pg 31
Sample size	2 a. Specify the exact number of experimental units allocated to each group, and the total number in each experiment. Also indicate the total number of animals used.	Pg 31
	b. Explain how the sample size was decided. Provide details of any <i>a priori</i> sample size calculation, if done.	Pg 31
Inclusion and exclusion criteria	3 a. Describe any criteria used for including and excluding animals (or experimental units) during the experiment, and data points during the analysis. Specify if these criteria were established <i>a priori</i> . If no criteria were set, state this explicitly.	Pg 30
	b. For each experimental group, report any animals, experimental units or data points not included in the analysis and explain why. If there were no exclusions, state so.	Pg 30
	c. For each analysis, report the exact value of <i>n</i> in each experimental group.	Pg 30
Randomisation	4 a. State whether randomisation was used to allocate experimental units to control and treatment groups. If done, provide the method used to generate the randomisation sequence.	Pg 31
	b. Describe the strategy used to minimise potential confounders such as the order of treatments and measurements, or animal/cage location. If confounders were not controlled, state this explicitly.	Pg 31
Blinding	5 Describe who was aware of the group allocation at the different stages of the experiment (during the allocation, the conduct of the experiment, the outcome assessment, and the data analysis).	Pg 31
Outcome measures	6 a. Clearly define all outcome measures assessed (e.g. cell death, molecular markers, or behavioural changes).	Pgs 34-40
	b. For hypothesis-testing studies, specify the primary outcome measure, i.e. the outcome measure that was used to determine the sample size.	Pgs 34-40
Statistical methods	7 a. Provide details of the statistical methods used for each analysis, including software used.	Pg 40
	b. Describe any methods used to assess whether the data met the assumptions of the statistical approach, and what was done if the assumptions were not met.	Pg 40
Experimental animals	8 a. Provide species-appropriate details of the animals used, including species, strain and substrain, sex, age or developmental stage, and, if relevant, weight.	Pg 30
	b. Provide further relevant information on the provenance of animals, health/immune status, genetic modification status, genotype, and any previous procedures.	Pg 30
Experimental procedures	9 For each experimental group, including controls, describe the procedures in enough detail to allow others to replicate them, including:	Pgs 34-40
	a. What was done, how it was done and what was used.	Pgs 34-40
	b. When and how often.	Pgs 34-40
	c. Where (including detail of any acclimatisation periods).	Pgs 34-40
	d. Why (provide rationale for procedures).	Pgs 34-40
Results	10 For each experiment conducted, including independent replications, report:	Pgs 40-50
	a. Summary/descriptive statistics for each experimental group, with a measure of variability where applicable (e.g. mean and SD, or median and range). b. If applicable, the effect size with a confidence interval.	Pgs 40-50

## ANEXO F

## STRIAAM

## STRIAAM

## Standards for Reporting Interventions in Acupuncture Using Animal Models

Section/ item	Description	Reported on <del>page</del> No
1. Acupuncture rationale	1a) Main epistemological background of the selected intervention (e.g., Traditional Chinese Medicine, Japanese, Korean, Western medical, Five Element, and ear acupuncture);	Pg 30
	1b) Reasoning for treatment <del>provided</del>	Pg 30
	1b.1: "East-West Acupuncture" approach: (e.g., selecting classic points based on TEAM indications and correlating with western anatomy, physiology, and mechanisms);	<del>Pg</del> 33-34
	1b.2: Western medicine: selecting regions of stimulations based on neurophysiological mechanisms;	<del>Pg</del> 33-34
	1b.3: TEAM: (e.g., treating animal model of kidney yang deficiency with specific acupuncture point(s) for this condition).	None
2. Details of needling	2a) Names (or anatomical location if no standard name) of points used ( <del>unilateral</del> /bilateral) and provide the original reference that describes the validated transpositional acupoint system from humans to animals selected for the study.	<del>Pg</del> 33-34
	2b) Number of needle insertions per animal per session	<del>Pg</del> 33-34
	2c) Depth of insertion, based on a specified unit of measurement, or on a particular tissue level.	<del>Pg</del> 33-34
	2d) Response sought (e.g., muscle twitch response, animal vocalization).	<del>Pg</del> 33-34
	2e) Needle stimulation (e.g., manual acupuncture, electroacupuncture with detailed electrostimulation parameters, including frequency, intensity, type of stimuli, current modulation, waveform, wavelength, polarization, needle location, and electrode position under EA parameters).	<del>Pg</del> 33-34
	2f) Needle retention time.	<del>Pg</del> 33-34
	2g) Needle type (diameter, length, material, and manufacturer).	<del>Pg</del> 33-34
	2h) Neuroanatomical details of needling (what nerve(s), spinal segment(s), and peripheral	Pg 34

	anatomic/histologic structure(s) are mostly being stimulated).	
3. Treatment regimen	3a) Number of treatment sessions.	Pg 34
	3b) Frequency and duration of treatment sessions.	Pg 34
4. Other components of treatment	4a) Details of animal manipulations prior and/or during acupuncture needling.	<del>Pg</del> 33-34
	4a1: Non-sedated models: animals can freely move or are restricted by specific devices.	None
	4a2: Sedated animal models: use of pharmacologic sedatives (e.g., isoflurane) and/or an <u>anesthetic</u> (e.g., ketamine and xylazine).	Pg 33
	4b) Setting and context of treatment, including description if the animals were individually treated or many animals were treated at the same time.	<del>Pg</del> 33-34
5. Background of the technician performing the experiment	5) Description of participating technicians performing acupuncture needling (how many technicians performed acupuncture needling, qualification or participation of the technician in validated needling methods training, years acupuncture needling practice in laboratory animals, and other relevant experience).	Pg 34
6. Control or comparator interventions	6a) Rationale for the control or comparator in the context of the research question, with sources that justify this choice.	<del>Pg</del> 31-40
	6b) Precise description of the control or comparator. If sham acupuncture or any other type of acupuncture-like control is used, provide details as for items 1-3 earlier.	<del>Pg</del> 31-40
	6c) Blinding method: description on how the investigator/technician is blinded to the treatment group assignment.	<del>Pg</del> 31-40
	6a) Rationale for the control or comparator in the context of the research question, with sources that justify this choice.	<del>Pg</del> 31-40
	6b) Precise description of the control or comparator. If sham acupuncture or any other type of acupuncture-like control is used, provide details as for items 1-3 earlier.	<del>Pg</del> 31-40
	6c) Blinding method: description on how the investigator/technician is blinded to the treatment.	<del>Pg</del> 31-40

## ANEXO G

## CONSORT

 <b>CONSORT 2010 checklist of information to include when reporting a randomised trial*</b>			
Section/Topic	Item No	Checklist item	Reported on page No
<b>Title and abstract</b>			
	1a	Identification as a randomised trial in the title	Pg 79
	1b	Structured summary of trial design, methods, results, and conclusions (for specific guidance see CONSORT for abstracts)	Pg 80
<b>Introduction</b>			
Background and objectives	2a	Scientific background and explanation of rationale	Pgs 81-82
	2b	Specific objectives or hypotheses	Pg 82
<b>Methods</b>			
Trial design	3a	Description of trial design (such as parallel, factorial) including allocation ratio	Pg 82
	3b	Important changes to methods after trial commencement (such as eligibility criteria), with reasons	Pgs 82-83
Participants	4a	Eligibility criteria for participants	Pg 83
	4b	Settings and locations where the data were collected	Pg 82
Interventions	5	The interventions for each group with sufficient details to allow replication, including how and when they were actually administered	Pgs 83-85
Outcomes	6a	Completely defined pre-specified primary and secondary outcome measures, including how and when they were assessed	Pgs 86-89
	6b	Any changes to trial outcomes after the trial commenced, with reasons	None
Sample size	7a	How sample size was determined	Pgs 89-90
	7b	When applicable, explanation of any interim analyses and stopping guidelines	None
<b>Randomisation:</b>			
Sequence generation	8a	Method used to generate the random allocation sequence	Pg 90
	8b	Type of randomisation; details of any restriction (such as blocking and block size)	Pg 90
Allocation concealment mechanism	9	Mechanism used to implement the random allocation sequence (such as sequentially numbered containers), describing any steps taken to conceal the sequence until interventions were assigned	Pg 90
Implementation	10	Who generated the random allocation sequence, who enrolled participants, and who assigned participants to interventions	Pg 90
Blinding	11a	If done, who was blinded after assignment to interventions (for example, participants, care providers, those	Pg 90
<i>CONSORT 2010 checklist</i> <span style="float: right;"><i>Page 1</i></span>			
		assessing outcomes) and how	Pg 90
	11b	If relevant, description of the similarity of interventions	Pgs 83-85
Statistical methods	12a	Statistical methods used to compare groups for primary and secondary outcomes	Pgs 90-91
	12b	Methods for additional analyses, such as subgroup analyses and adjusted analyses	Pgs 90-91
<b>Results</b>			
Participant flow (a diagram is strongly recommended)	13a	For each group, the numbers of participants who were randomly assigned, received intended treatment, and were analysed for the primary outcome	Pgs 91-92
	13b	For each group, losses and exclusions after randomisation, together with reasons	Pgs 91-92
Recruitment	14a	Dates defining the periods of recruitment and follow-up	Pgs 91-92
	14b	Why the trial ended or was stopped	None
Baseline data	15	A table showing baseline demographic and clinical characteristics for each group	Pg 93
Numbers analysed	16	For each group, number of participants (denominator) included in each analysis and whether the analysis was by original assigned groups	Pg 93
Outcomes and estimation	17a	For each primary and secondary outcome, results for each group, and the estimated effect size and its precision (such as 95% confidence interval)	Pgs 93-115
	17b	For binary outcomes, presentation of both absolute and relative effect sizes is recommended	Pgs 93-115
Ancillary analyses	18	Results of any other analyses performed, including subgroup analyses and adjusted analyses, distinguishing pre-specified from exploratory	Pgs 93-115
Harms	19	All important harms or unintended effects in each group (for specific guidance see CONSORT for harms)	Pg 116
<b>Discussion</b>			
Limitations	20	Trial limitations, addressing sources of potential bias, imprecision, and, if relevant, multiplicity of analyses	Pg 118
Generalisability	21	Generalisability (external validity, applicability) of the trial findings	Pg 118
Interpretation	22	Interpretation consistent with results, balancing benefits and harms, and considering other relevant evidence	Pgs 114-118
<b>Other information</b>			
Registration	23	Registration number and name of trial registry	Pg 120
Protocol	24	Where the full trial protocol can be accessed, if available	Pg 120
Funding	25	Sources of funding and other support (such as supply of drugs), role of funders	

\*We strongly recommend reading this statement in conjunction with the CONSORT 2010 Explanation and Elaboration for important clarifications on all the items. If relevant, we also recommend reading CONSORT extensions for cluster randomised trials, non-inferiority and equivalence trials, non-pharmacological treatments, herbal interventions, and pragmatic trials. Additional extensions are forthcoming: for those and for up to date references relevant to this checklist, see [www.consort-statement.org](http://www.consort-statement.org).

## ANEXO H

## STRICTA

**Standards for Reporting Interventions in Clinical Trials of Acupuncture (STRICTA):  
extending the CONSORT Statement**

*Citation: MacPherson H, Altman DG, Hammerschlag R, Youping L, Taixiang W, White A, Moher D; STRICTA Revision Group. Revised Standards for Reporting Interventions in Clinical Trials of Acupuncture (STRICTA): extending the CONSORT statement. PLoS Med. 2010 Jun 8;7(6):e1000261*

**Table 1: STRICTA 2010 checklist of information to include when reporting interventions in a clinical trial of acupuncture (Expansion of Item 5 from CONSORT 2010 checklist)**



Item	Detail	Page
<b>1. Acupuncture rationale</b>	1a) Style of acupuncture (e.g. Traditional Chinese Medicine, Japanese, Korean, Western medical, Five Element, ear acupuncture, etc)	79
	1b) Reasoning for treatment provided, based on historical context, literature sources, and/or consensus methods, with references where appropriate	81-82
	1c) Extent to which treatment was varied	81-82
<b>2. Details of needling</b>	2a) Number of needle insertions per subject per session (mean and range where relevant)	83-84
	2b) Names (or location if no standard name) of points used (uni/bilateral)	84
	2c) Depth of insertion, based on a specified unit of measurement, or on a particular tissue level	84
	2d) Response sought (e.g. de qi or muscle twitch response)	84
	2e) Needle stimulation (e.g. manual, electrical)	84
	2f) Needle retention time	84
	2g) Needle type (diameter, length, and manufacturer or material)	84
<b>3. Treatment regimen</b>	3a) Number of treatment sessions	84
	3b) Frequency and duration of treatment sessions	84
<b>4. Other components of treatment</b>	4a) Details of other interventions administered to the acupuncture group (e.g. moxibustion, cupping, herbs, exercises, lifestyle advice)	84
	4b) Setting and context of treatment, including instructions to practitioners, and information and explanations to patients	84
<b>5. Practitioner background</b>	5) Description of participating acupuncturists (qualification or professional affiliation, years in acupuncture practice, other relevant experience)	83
<b>6. Control or comparator interventions</b>	6a) Rationale for the control or comparator in the context of the research question, with sources that justify this choice	85
	6b) Precise description of the control or comparator. If sham acupuncture or any other type of acupuncture-like control is used, provide details as for Items 1 to 3 above.	85

Note: This checklist, which should be read in conjunction with the explanations of the STRICTA items provided in the main text, is designed to replace CONSORT 2010's item 5 when reporting an acupuncture trial.

## ANEXO I

## Submissão protocolo

22/05/2023, 09:14

#8983 Summary - Longhua Chinese Medicine

# LCM LONGHUA CHINESE MEDICINE

AN OPEN ACCESS JOURNAL TO BRIDGE CHINESE MEDICINE TO THE WORLD

Summary

Review

## Submission

Edit Metadata

**Manuscript ID** LCM-23-8

**Status** Under Review (Step 1)

**Title** Stimulation of the auricular branch of the vagus nerve by acupuncture in the individual with fibromyalgia: Randomized, controlled, double-blind clinical trial.

**Submitter** Marcos Neves 

**Abstract** Background: Fibromyalgia (FM) affects 2–4% of the world's population and is characterized by complex polysymptomatology, including widespread chronic pain, fatigue, and unrefreshing sleep. There is currently evidence of auricular acupuncture being used for pain conditions, especially through stimulation of the auricular branch of the vagus nerve (ABVN). The purpose of this study is to evaluate the effect of ABVN stimulation by acupuncture in women with FM while observing pain indices and comparing the treatment performed on the left and right ears. In addition, we will analyze associated disorders such as depression, anxiety, catastrophic thinking, sleep quality, and functionality, as well as determine the blood concentration of inflammatory mediators and anti-inflammatory cytokines.

**Methods:** A randomized controlled trial will be conducted with assessors, statisticians, and participants — all blinded. The participants will be 90 adult women, aged between 18 - 65 years, and diagnosis of FM according to the American College of Rheumatology (ACR) criteria. Participants will be randomly allocated to: (1) ABVN-Right group; (2) ABVN-Left group; or (3) Sham group. The intervention will be carried out once a week, for four consecutive weeks. ABVN stimulation will be performed using two acupuncture needles in the superior and inferior regions of the concha of the right or left pavilion. After removing the needles, two vaccaria seed spheres will be fixed in the same place. The primary outcome will be the pain assessed by a numerical pain scale (NPRS). Other forms of assessing pain will be used as secondary outcome measures, such as algometry and generalized pain index questionnaires, fibromyalgia impact questionnaire, and catastrophic thoughts about pain scale. Other assessments will

22/05/2023, 09:14

#8983 Summary - Longhua Chinese Medicine

be conducted as: Beck Depression Inventory (BDI); Beck Anxiety Inventory (BAI); Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI); Specific Functional Scale; Heart rate variability (HRV); Pressure pain threshold (algometer); strength of the upper limbs (digital dynamometer); Blood pressure; blood oxygen saturation; blood glucose level; and cytokines analyses.

**Conclusions:** The findings will help provide evidence on ABVN stimulation. In addition, this study would also clarify data on symptoms and biological markers found in individuals with FM.

**Authors** **Corresponding to** Marcos Lisboa Neves / marcoslisboaneves@gmail.com  ,Brazil  
Federal University of Santa Catarina / **ORCID:** 0000-0001-8358-3229

Jeane Bachi Ferreira / bachijeane@gmail.com  ,Brazil ,Federal University of Santa Catarina / **ORCID:** 0000-0003-0559-9043

Scheila Iria Kraus / scheilaks@gmail.com  ,Brazil ,Federal University of Santa Catarina / **ORCID:** 0000-0001-6037-4184

Guilherme Fleury Fina Speretta / guilherme.speretta@ufsc.br  ,Brazil ,Federal University of Santa Catarina / **ORCID:** 0000-0003-3474-1264

Pedro Andre Hermes Amara / PedroAndreHermesAmara1997@gmail.com  ,Brazil  
Federal University of Santa Catarina / **ORCID:** 0000-0003-4863-2173

Luiza Borges Gentil / luzagentil@gmail.com  ,Brazil ,Federal University of Santa Catarina / **ORCID:** 0000-0001-6265-9386

Igor Kunze Rodrigues / igorkunzerodrigues@hotmail.com  ,Brazil ,Hospital Regional de São José Dr. Homero de Miranda Gomes / **ORCID:** 0000-0002-3949-594X

Morgana Duarte Da Silva / morganaduartesilva@gmail.com  ,Brazil ,Federal University of Santa Catarina / **ORCID:** 0000-0002-2487-236X

**Suggest Reviewers** Rafael Vercelino / contato@rafaelvercelino.com.br, /Faculdade Anhanguera, / Professor at Faculdade Anhanguera, / The researcher is a Member of the International Association for the Study of Pain® and works with pain, as well as treatment with different acupuncture techniques.

Zhen Zheng / zhen.zheng@rmit.edu.au /RMIT University / Traditional & Complementary Medicine Research Program / Traditional & Complementary Medicine Research Program, Health Innovations Research Institute and Discipline of Chinese Medicine, School of Health Sciences, RMIT University

Bernardo Diniz Coutinho / bdc.ufc@gmail.com /Universidade Federal do Ceará / Professor do Departamento de Fisioterapia / Responsible for the outpatient clinic of integrative practices and auricular acupuncture at the Federal University of Ceará

22/05/2023, 09:14

#8983 Summary - Longhua Chinese Medicine

**Keywords** acupuncture, fibromyalgia, pain, vagus nerve**Funding** The project was funded by the Foundation for Research Support and Innovation of the State of Santa Catarina (FAPESC), through the Public Call Notice Fapesc n° 16/2020 – Research Program for SUS: shared management in health.**Peer Review File** Agree to publish the peer review file.**Language** —**Article Type** Study Protocol**Article Category****Files**

submission/original	LCM-23-8-MS-7037.docx	0,0MB	
	Manuscript_marcos.docx		
submission/fig	LCM-23-8-FIG1-5985.jpg	0.1MB	Figure 1.jpg
submission/other	LCM-23-8-OTHER1-9789.pdf	0.6MB	Anexo 2 - TIDieR.pdf
	LCM-23-8-OTHER2-8535.doc	0.1MB	Anexo 3 - Spirit.doc
	LCM-23-8-OTHER3-3053.doc	0.2MB	Anexo 4 - CONSORT.doc
	LCM-23-8-OTHER4-7207.docx	0.0MB	Highlights.docx
	LCM-23-8-OTHER5-9733.docx	0.0MB	Title page.docx

**Time** Date submitted : 2023-02-17

Initiated : 2023-02-17

Last modified : 2023-03-20

## ANEXO J

## SPIRIT anexado na submissão do protocolo



SPIRIT 2013 Checklist: Recommended items to address in a clinical trial protocol and related documents\*

Section/item	Item No	Description	Reported on page No
<b>Administrative information</b>			
Title	1	Descriptive title identifying the study design, population, interventions, and, if applicable, trial acronym	1
Trial registration	2a	Trial identifier and registry name. If not yet registered, name of intended registry	10
	2b	All items from the World Health Organization Trial Registration Data Set	10
Protocol version	3	Date and version identifier	10
Funding	4	Sources and types of financial, material, and other support	11
Roles and responsibilities	5a	Names, affiliations, and roles of protocol contributors	11
	5b	Name and contact information for the trial sponsor	11
	5c	Role of study sponsor and funders, if any, in study design; collection, management, analysis, and interpretation of data; writing of the report; and the decision to submit the report for publication, including whether they will have ultimate authority over any of these activities	None
	5d	Composition, roles, and responsibilities of the coordinating centre, steering committee, endpoint adjudication committee, data management team, and other individuals or groups overseeing the trial, if applicable (see Item 21a for data monitoring committee)	10
<b>Introduction</b>			
Background and rationale	6a	Description of research question and justification for undertaking the trial, including summary of relevant studies (published and unpublished) examining benefits and harms for each intervention	3-4
	6b	Explanation for choice of comparators	5-6
Objectives	7	Specific objectives or hypotheses	4
Trial design	8	Description of trial design including type of trial (eg, parallel group, crossover, factorial, single group), allocation ratio, and framework (eg, superiority, equivalence, noninferiority, exploratory)	4
<b>Methods: Participants, interventions, and outcomes</b>			
Study setting	9	Description of study settings (eg, community clinic, academic hospital) and list of countries where data will be collected. Reference to where list of study sites can be obtained	4
Eligibility criteria	10	Inclusion and exclusion criteria for participants. If applicable, eligibility criteria for study centres and individuals who will perform the interventions (eg, surgeons, psychotherapists)	4
Interventions	11a	Interventions for each group with sufficient detail to allow replication, including how and when they will be administered	5-6

	11b	Criteria for discontinuing or modifying allocated interventions for a given trial participant (eg, drug dose change in response to harms, participant request, or improving/worsening disease)	7
	11c	Strategies to improve adherence to intervention protocols, and any procedures for monitoring adherence (eg, drug tablet return, laboratory tests)	7
	11d	Relevant concomitant care and interventions that are permitted or prohibited during the trial	None
Outcomes	12	Primary, secondary, and other outcomes, including the specific measurement variable (eg, systolic blood pressure), analysis metric (eg, change from baseline, final value, time to event), method of aggregation (eg, median, proportion), and time point for each outcome. Explanation of the clinical relevance of chosen efficacy and harm outcomes is strongly recommended	6-9
Participant timeline	13	Time schedule of enrolment, interventions (including any run-ins and washouts), assessments, and visits for participants. A schematic diagram is highly recommended (see Figure)	4
Sample size	14	Estimated number of participants needed to achieve study objectives and how it was determined, including clinical and statistical assumptions supporting any sample size calculations	9
Recruitment	15	Strategies for achieving adequate participant enrolment to reach target sample size	7

#### Methods: Assignment of interventions (for controlled trials)

##### Allocation:

Sequence generation	16a	Method of generating the allocation sequence (eg, computer-generated random numbers), and list of any factors for stratification. To reduce predictability of a random sequence, details of any planned restriction (eg, blocking) should be provided in a separate document that is unavailable to those who enrol participants or assign interventions	5
Allocation concealment mechanism	16b	Mechanism of implementing the allocation sequence (eg, central telephone; sequentially numbered, opaque, sealed envelopes), describing any steps to conceal the sequence until interventions are assigned	5
Implementation	16c	Who will generate the allocation sequence, who will enrol participants, and who will assign participants to interventions	5
Blinding (masking)	17a	Who will be blinded after assignment to interventions (eg, trial participants, care providers, outcome assessors, data analysts), and how	5
	17b	If blinded, circumstances under which unblinding is permissible, and procedure for revealing a participant's allocated intervention during the trial	5

#### Methods: Data collection, management, and analysis

Data collection methods	18a	Plans for assessment and collection of outcome, baseline, and other trial data, including any related processes to promote data quality (eg, duplicate measurements, training of assessors) and a description of study instruments (eg, questionnaires, laboratory tests) along with their reliability and validity, if known. Reference to where data collection forms can be found, if not in the protocol	6-10
	18b	Plans to promote participant retention and complete follow-up, including list of any outcome data to be collected for participants who discontinue or deviate from intervention protocols	7

Data management	19	Plans for data entry, coding, security, and storage, including any related processes to promote data quality (eg, double data entry; range checks for data values). Reference to where details of data management procedures can be found, if not in the protocol	5
Statistical methods	20a	Statistical methods for analysing primary and secondary outcomes. Reference to where other details of the statistical analysis plan can be found, if not in the protocol	9
	20b	Methods for any additional analyses (eg, subgroup and adjusted analyses)	9
	20c	Definition of analysis population relating to protocol non-adherence (eg, as randomised analysis), and any statistical methods to handle missing data (eg, multiple imputation)	9
<b>Methods: Monitoring</b>			
Data monitoring	21a	Composition of data monitoring committee (DMC); summary of its role and reporting structure; statement of whether it is independent from the sponsor and competing interests; and reference to where further details about its charter can be found, if not in the protocol. Alternatively, an explanation of why a DMC is not needed	10
	21b	Description of any interim analyses and stopping guidelines, including who will have access to these interim results and make the final decision to terminate the trial	None
Harms	22	Plans for collecting, assessing, reporting, and managing solicited and spontaneously reported adverse events and other unintended effects of trial interventions or trial conduct	10
Auditing	23	Frequency and procedures for auditing trial conduct, if any, and whether the process will be independent from investigators and the sponsor	10
<b>Ethics and dissemination</b>			
Research ethics approval	24	Plans for seeking research ethics committee/institutional review board (REC/IRB) approval	10
Protocol amendments	25	Plans for communicating important protocol modifications (eg, changes to eligibility criteria, outcomes, analyses) to relevant parties (eg, investigators, REC/IRBs, trial participants, trial registries, journals, regulators)	10
Consent or assent	26a	Who will obtain informed consent or assent from potential trial participants or authorised surrogates, and how (see Item 32)	4
	26b	Additional consent provisions for collection and use of participant data and biological specimens in ancillary studies, if applicable	4
Confidentiality	27	How personal information about potential and enrolled participants will be collected, shared, and maintained in order to protect confidentiality before, during, and after the trial	9
Declaration of interests	28	Financial and other competing interests for principal investigators for the overall trial and each study site	11
Access to data	29	Statement of who will have access to the final trial dataset, and disclosure of contractual agreements that limit such access for investigators	5
Ancillary and post-trial care	30	Provisions, if any, for ancillary and post-trial care, and for compensation to those who suffer harm from trial participation	11

Dissemination policy	31a	Plans for investigators and sponsor to communicate trial results to participants, healthcare professionals, the public, and other relevant groups (eg, via publication, reporting in results databases, or other data sharing arrangements), including any publication restrictions	10
	31b	Authorship eligibility guidelines and any intended use of professional writers	None
	31c	Plans, if any, for granting public access to the full protocol, participant-level dataset, and statistical code	10
<b>Appendices</b>			
Informed consent materials	32	Model consent form and other related documentation given to participants and authorised surrogates	None
Biological specimens	33	Plans for collection, laboratory evaluation, and storage of biological specimens for genetic or molecular analysis in the current trial and for future use in ancillary studies, if applicable	None

---

\*It is strongly recommended that this checklist be read in conjunction with the SPIRIT 2013 Explanation & Elaboration for important clarification on the items. Amendments to the protocol should be tracked and dated. The SPIRIT checklist is copyrighted by the SPIRIT Group under the Creative Commons "[Attribution-NonCommercial-NoDerivs 3.0 Unported](#)" license.

## ANEXO K

## TIDieR



## The TIDieR (Template for Intervention Description and Replication) Checklist\*:

Information to include when describing an intervention and the location of the information

Item number	Item	Where located **	
		Primary paper (page or appendix number)	Other † (details)
1.	<b>BRIEF NAME</b> Provide the name or a phrase that describes the intervention.	83-84	
2.	<b>WHY</b> Describe any rationale, theory, or goal of the elements essential to the intervention.	81-82	
3.	<b>WHAT</b> Materials: Describe any physical or informational materials used in the intervention, including those provided to participants or used in intervention delivery or in training of intervention providers. Provide information on where the materials can be accessed (e.g. online appendix, URL).	83-85	
4.	Procedures: Describe each of the procedures, activities, and/or processes used in the intervention, including any enabling or support activities.	83-85	
5.	<b>WHO PROVIDED</b> For each category of intervention provider (e.g. psychologist, nursing assistant), describe their expertise, background and any specific training given.	83	
6.	<b>HOW</b> Describe the modes of delivery (e.g. face-to-face or by some other mechanism, such as internet or telephone) of the intervention and whether it was provided individually or in a group.	83-85	
7.	<b>WHERE</b> Describe the type(s) of location(s) where the intervention occurred, including any necessary infrastructure or relevant features.	82	

TIDieR checklist

8.	<b>WHEN and HOW MUCH</b> Describe the number of times the intervention was delivered and over what period of time including the number of sessions, their schedule, and their duration, intensity or dose.	84-85	
9.	<b>TAILORING</b> If the intervention was planned to be personalised, titrated or adapted, then describe what, why, when, and how.	84-85	
10.‡	<b>MODIFICATIONS</b> If the intervention was modified during the course of the study, describe the changes (what, why, when, and how).	None	
11.	<b>HOW WELL</b> Planned: If intervention adherence or fidelity was assessed, describe how and by whom, and if any strategies were used to maintain or improve fidelity, describe them.	None	
12.‡	Actual: If intervention adherence or fidelity was assessed, describe the extent to which the intervention was delivered as planned.	None	

\*\* **Authors** - use N/A if an item is not applicable for the intervention being described. **Reviewers** – use '?' if information about the element is not reported/not sufficiently reported.

† If the information is not provided in the primary paper, give details of where this information is available. This may include locations such as a published protocol or other published papers (provide citation details) or a website (provide the URL).

‡ If completing the TIDieR checklist for a protocol, these items are not relevant to the protocol and cannot be described until the study is complete.

\* We strongly recommend using this checklist in conjunction with the TIDieR guide (see *BMJ* 2014;348:g1687) which contains an explanation and elaboration for each item.

\* The focus of TIDieR is on reporting details of the intervention elements (and where relevant, comparison elements) of a study. Other elements and methodological features of studies are covered by other reporting statements and checklists and have not been duplicated as part of the TIDieR checklist. When a randomised trial is being reported, the TIDieR checklist should be used in conjunction with the CONSORT statement (see [www.consort-statement.org](http://www.consort-statement.org)) as an extension of Item 5 of the CONSORT 2010 Statement. When a clinical trial protocol is being reported, the TIDieR checklist should be used in conjunction with the SPIRIT statement as an extension of Item 11 of the SPIRIT 2013 Statement (see [www.spirit-statement.org](http://www.spirit-statement.org)). For alternate study designs, TIDieR can be used in conjunction with the appropriate checklist for that study design (see [www.equator-network.org](http://www.equator-network.org)).

TIDieR checklist

## ANEXO L

## TCLE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO  
(TCLE)

Título do Projeto: “Efeito da estimulação do ramo auricular do nervo vago (RANV) na fibromialgia”.

A senhora está sendo convidada a participar de um projeto de doutorado, conduzido pelo doutorando Marcos Lisboa Neves, matriculado no PPG de Neurociências/ UFSC pelo número 201805892, que consiste na avaliação e no tratamento da fibromialgia. Todos os procedimentos serão executados por profissionais habilitados para a realização das técnicas terapêuticas empregadas neste estudo. Durante as consultas serão colhidas informações sobre os seus sintomas, incluindo o preenchimento de questionários e escalas sobre dor, função, qualidade de vida, catastrofização, depressão, ansiedade e sono, todos relacionados ao seu problema, bem como duas coletas de sangue para quantificação da concentração de marcadores inflamatórios. A senhora realizará o tratamento que consiste de uma terapia que estimula regiões específicas do pavilhão auricular (orelha) por meio da inserção de 3 mm de duas agulhas descartáveis, com espessura de 0,20 mm e comprimento de 15 mm, lembrando que a inserção (profundidade) será de 3 mm. Serão previamente marcadas as datas e horários para as consultas e tratamentos. O estudo será realizado no ambulatório do Laboratório de Neurobiologia da Dor e Inflamação (LANDI), situado junto do Centro de Ciências Biológicas (CCB) e localizado nas dependências da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), na cidade de Florianópolis – SC.

Após avaliação inicial e sorteio, os participantes do estudo serão alocados em 3 grupos, para receber o tratamento por meio do pavilhão auricular direito (grupo 1), esquerdo (grupo 2) ou tratamento falso (grupo 3). O processo de sorteio será gerado por meio de um programa de computador específico e um desses grupos, conforme descrito acima, representa o emprego de um tratamento placebo (grupo 3), ou seja,

uma intervenção que comprovadamente não tem efeito terapêutico algum. Sendo assim, qualquer participante, mediante sorteio, pode ser incluído nesse grupo denominado “grupo controle”, no qual o tratamento é inerte. Contudo, será assegurado a todos os participantes, ao final do estudo, por parte do patrocinador, acesso gratuito e por tempo indeterminado aos melhores métodos terapêuticos que se serão evidenciados neste estudo.

No grupo 1 a técnica de estimulação auricular será aplicada através de duas agulhas de acupuntura com tamanho 0,20 mm (espessura) X 15 mm (comprimento), da marca Qi Zhou, implantadas a uma profundidade de 2-3 mm da superfície da pele auricular, nas regiões superior (centro da cimba da concha) e inferior (centro da cava da concha) da concha do pavilhão direito, e estimuladas por 30 segundo com semi-giros manuais de 1Hz de frequência nas duas direções (direita e esquerda). Após a estimulação as mesmas serão mantidas por 10 minutos e então removidas. Em seguida, sobre os dois pontos estimulados, serão colocadas e fixadas com fita microporosa (Micropore – 3M) duas esferes de semente de vaccaria que ficarão nesses dois pontos durante 4 dias. Cada um desses dois pontos deverão ser estimulados por 10 segundos, 3 vezes ao dia (1 X por turno), retirando os pontos no final do quarto dia e retornando para próxima sessão, no sétimo dia, onde o mesmo procedimento será repetido.

No grupo 2 a técnica de estimulação do RANV será aplicada através de duas agulhas de acupuntura com tamanho 0,20 mm (espessura) X 15 mm (comprimento), da marca Qi Zhou, implantadas a uma profundidade de 2-3 mm da superfície da pele auricular, nas regiões superior (centro da cimba da concha) e inferior (centro da cava da concha) da concha do pavilhão esquerdo, e estimuladas por 30 segundo com semigiros manuais de 1Hz de frequência nas duas direções (direita e esquerda). Após a estimulação as mesmas serão mantidas por 10 minutos e então removidas. Em seguida, sobre os dois pontos estimulados, serão colocadas e fixadas com fita microporosa (Micropore – 3M) duas esferes de semente de vaccaria que ficarão nesses dois pontos durante 4 dias. Cada um desses dois pontos deverão ser estimulados por 10 segundos, 3 vezes ao dia (1 X por turno), retirando os pontos no final do quarto dia e retornando para próxima sessão, no sétimo dia, onde o mesmo procedimento será repetido.

No grupo 3 o tratamento será feito da mesma forma que os 2 primeiros grupos, seguindo as mesmas orientações. Porém a forma que o material utilizado não produz efeito terapêutico.

Após a alocação nos devidos grupos, os participantes serão encaminhados ao profissional que irá intervir de acordo com as abordagens propostas. Os atendimentos serão realizados no Laboratório de Neurobiologia da Dor e Inflamação – LANDI, no endereço: Centro de Ciências Biológicas – CCB, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Rua Eng. Agrônomo Andrei Cristian Ferreira, Bloco C, sala 04, Bairro Trindade, Florianópolis-SC, CEP: 88040-380. Em caso de dúvida, ou necessidade, qualquer participante poderá entrar em contato pelo telefone (48) 98818 9596, 24 horas dia, durante os 7 dias da semana.

Um quarto grupo (Grupo 4) será formado por 10 pessoas saudáveis. Esse grupo não realizará nenhum tipo de tratamento, apenas serão coletados dados basais por meio dos mesmos instrumentos de avaliação que os demais grupos passarão, como questionários, exame físico e uma coleta de sangue.

Questionários: Será solicitado que a senhora responda alguns questionários e escalas, sobre intensidade da dor, funcionalidade, qualidade de vida, catastrofização, depressão, ansiedade e sono. Durante o preenchimento dos questionários e escalas, você poderá se sentir constrangida, pois contém questões pessoais, dados pessoais e informações a cerca da sua rotina e queixas. Contudo, você não será obrigada a responder caso não queira.

Coleta de sangue: Uma mostra de sangue será coletada na primeira avaliação e após a última sessão de tratamento, com o objetivo de mensurar a concentração dos marcadores inflamatórios, chamados citocinas. Esta coleta tem como objetivo quantificar o possível processo inflamatório associado ao seu quadro de fibromialgia e sua resposta ao tratamento. Sendo que o custeio das coletas de sangue e da análise dos marcadores inflamatórios será de inteira responsabilidade dos pesquisadores do projeto. Para minimizar o desconforto provocado pela punção, será utilizada uma agulha descartável de baixo calibre e será retirado somente o mínimo de sangue necessário para a realização da análise. Poderá ocorrer algum desconforto ou a presença de hematoma no local em que será coletado, porém estes sinais e sintomas desaparecerão naturalmente. Os materiais utilizados para este procedimento serão

de uso individual, único, esterilizados e descartáveis. As coletas serão realizadas em nosso ambulatório e por profissionais treinados e capacitados que trabalham no local, ou seja, especializados para este procedimento. Os mesmos esclarecerão qualquer dúvida a respeito e darão a total assistência necessária a senhora.

Tratamento: Conforme já descrito, a senhora poderá participar em um dos grupos acima, de acordo com um sorteio prévio. Este tipo de abordagem terapêutica, independente do grupo, será composta por 4 etapas, onde a primeira etapa compreende a higienização do pavilhão auricular com um algodão embebido em álcool 70%, seguido da secagem do pavilhão com algodão seco (segunda etapa) e, na terceira etapa, a estimulação do pavilhão auricular por duas agulhas esterilizadas e descartáveis, com espessura de 0,20 mm e comprimento de 15 mm, sendo que elas serão inseridas na pele do pavilhão auricular a uma profundidade de apenas 3 mm e mantidas por 10 minutos. Em seguida, na quarta e última etapa, sobre os dois pontos estimulados, serão colocadas e fixadas com fita microporosa duas esferas de semente de vaccaria que ficarão nesses dois pontos durante 4 dias. A senhora será orientada a estimular cada ponto por 10 segundos, 3 vezes ao dia (1 X por turno), retirando os pontos no final do quarto dia e retornando para próxima sessão, no sétimo dia, onde o mesmo procedimento será repetido.

Os indivíduos alocados nos grupos receberão um tratamento semanal por 4 semanas. A duração média de cada sessão será de 15 minutos. Sendo que os participantes da pesquisa passarão por avaliação inicial (antes do tratamento), reavaliação ao término do tratamento e após 12 semanas do início do tratamento, procedimentos que duram em média 60 minutos. Caso durante o tratamento a senhora sinta algum desconforto no pavilhão auricular, poderá entrar em contato por telefone, ou WhatsApp, diretamente com o profissional que lhe atender, para receber instruções, conforme o número que está ao final deste documento.

Não é obrigatório participar de todas as atividades ou responder todas as perguntas. A senhora possui a liberdade de desistir ou retirar seu consentimento do estudo a qualquer momento.

Riscos:

A participação neste estudo causará riscos mínimos aos indivíduos que dele participarem, por envolver avaliações e tratamentos minimamente invasivos.

Os riscos mínimos compreendem em: insatisfação com o tratamento por parte do participante, da mesma maneira que a percepção de melhora seja reduzida ou não satisfatória, bem como aborrecimento e cansaço com a quantidade de dados necessários a serem respondidos na avaliação e subseqüentes reavaliações. O participante também pode notar desconforto de leve à moderado no pavilhão auricular por causa da estimulação (agulhas).

Reforçamos que todos os cuidados serão tomados para minimizar qualquer desconforto e para que não haja nenhum contratempo durante as avaliações e tratamento. Havendo contra-indicação para a realização de qualquer um dos procedimentos descritos aqui, a senhora será informada e poderá abandonar ou se recusar a receber o tratamento a qualquer momento.

Ademais, outros riscos para a pesquisa e participantes compreendem na quebra de sigilo, ainda que involuntária e não intencional por parte do participante.

#### Benefícios:

A senhora terá como benefício à avaliação inicial e subseqüente informações enquanto ao seu quadro atual, desde os sintomas álgicos (dor), estado emocional (depressão e ansiedade), qualidade de vida e incapacidade (função).

#### Justificativa da pesquisa:

Dada à alta incidência de mulheres com fibromialgia e as limitações no tratamento dessa condição, assim como as lacunas no entendimento dos resultados e mecanismos de atuação da terapia auricular por meio da estimulação do ramo auricular do nervo vago, justifica-se a necessidade de estudos clínicos randomizados e controlados, que avaliem estes desfechos (dor, função, estado emocional, sono e qualidade de vida) e os mediadores dos desfechos, isto é, os fatores que influenciam na dor e na incapacidade.

Desta forma, os resultados deste estudo contribuirão para a compreensão da eficácia da terapia auricular por estimulação vagal em mulheres com fibromialgia.

Ademais, os resultados de um estudo randomizado e controlado de alta qualidade metodológica ajudarão os profissionais que trabalham com este tipo de terapia na tomada de decisões clínicas.

#### Objetivo da pesquisa:

A presente pesquisa tem como objetivo investigar os efeitos da estimulação do ramo auricular do nervo vago em mulheres diagnosticadas com fibromialgia, por meio de índices de dor, depressão, ansiedade, sono, pensamento catastrófico, qualidade de vida e funcionalidade, a curto (4 semanas) e médio (12 semanas) prazo, comparando estímulos realizados no pavilhão auricular esquerdo e direito.

Informações gerais:

- A sua participação nesse estudo será totalmente voluntária. Ao aceitar participar desta pesquisa você não terá nenhuma despesa com a mesma, bem como não será pago por sua participação, exceto se houver gastos eventuais, comprovadamente vinculados ao estudo em questão. Sendo assim, os participantes que virem ao Laboratório exclusivamente para participar da pesquisa, se assim desejar, poderão pedir ressarcimento de despesas com transporte (e eventualmente alimentação) durante o período de sua participação e mediante a comprovação de tais despesas.
- Em caso de danos eventuais decorrentes da pesquisa lhe será garantido o direito a solicitação de indenização, bem como será prestada assistência para tratamento das complicações decorrentes do tratamento. A assistência, quando necessária, será prestada mediante reavaliação dos profissionais envolvidos na pesquisa, quando julgando imprescindível, por meio de suporte presencial no local onde o participante foi acompanhado no decorrer dos seus atendimentos na pesquisa;
- A senhora poderá se retirar do estudo a qualquer momento e no caso da sua desistência a senhora não sofrerá nenhum tipo de prejuízo;
- Havendo contraindicação para a realização de qualquer um dos procedimentos descritos, a senhora será informada e poderá se recusar a receber o tratamento a qualquer momento;
- A sua identidade será preservada durante e após o estudo, pois cada indivíduo será identificado por um número e/ou código. Além disso, os dados obtidos neste estudo serão utilizados exclusivamente para a finalidade prevista no seu protocolo ou conforme o consentimento dado pela participante;
- Sendo assim, solicitamos a vossa autorização para o uso de seus dados para a produção de artigos técnicos e científicos;

- Os pesquisadores responsáveis pela condução da pesquisa seguem a Resolução 466/12;

- Este termo de consentimento está escrito em duas vias, sendo que uma delas será fornecida a senhora e outra ficará sob a responsabilidade dos pesquisadores. Dito isso, está garantido que todo participante receberá uma via do TCLE rubricada e assinada pelo pesquisador responsável.

Em caso de alguma intercorrência entre em contato com os pesquisadores por meio dos seguintes telefones:

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Profa Dra. Morgana Duarte da Silva

NÚMERO DO TELEFONE: (48) 3721-4685

ENDEREÇO: Programa de Pós-Graduação em Neurociências, Centro de Ciências Biológicas – CCB, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, CEP: 88040-900, Florianópolis, SC.

FISIOTERAPEUTA/DOCTORANDO: Marcos Lisboa Neves. Telefone: (48) 98818-9596

ENDEREÇO: Programa de Pós-Graduação em Neurociências, Centro de Ciências Biológicas – CCB, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, CEP: 88040-900, Florianópolis, SC.

CEPSH-UFSC, Comitê de Ética e Pesquisa da UFSC: Endereço físico: Rua Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401, Trindade, Florianópolis, CEP: 88.040-400. Telefone: (48)3721-6094, e atende as Resoluções 466/2012 e 510/2016 da CNS MS e suas complementares. O CEPSH é um órgão colegiado interdisciplinar, deliberativo, consultivo e educativo, vinculado à Universidade Federal de Santa Catarina, mas independente na tomada de decisões, criado para defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos.

As pessoas que estarão lhe acompanhando serão: MSc. Marcos Lisboa Neves (graduado em fisioterapia e Doutorando em Neurociências – UFSC), responsável pelas sessões de acupuntura; MSc. Jhenifer Karvat (graduada em fisioterapia e Doutoranda em Neurociências – UFSC), responsável pela triagem das pacientes e coleta de dados; Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup>. Morgana Duarte da Silva (graduada em fisioterapia e professora da UFSC), responsável pela orientação e coleta de dados; e pelo Dr. Igor

Kunze Rodrigues (médico neurologista e doutor em clínica médica – HU-UFSC), responsável pela avaliação e diagnóstico de fibromialgia das participantes.

### TERMO DE CONSENTIMENTO

Declaro que fui informado sobre todos os procedimentos da pesquisa e, que recebi de forma clara e objetiva todas as explicações pertinentes ao projeto e, que todos os dados a meu respeito serão sigilosos. Eu compreendo que neste estudo, as medições dos experimentos/procedimentos de tratamento serão feitas em mim.

Declaro que fui informado que posso me retirar do estudo a qualquer momento.

Florianópolis \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_.

---

Nome por extenso

---

Assinatura

---

Profa Dra. Morgana Duarte da Silva  
PESQUISADOR RESPONSÁVEL

## ANEXO M

Instrumentos de avaliação (questionários)

**FICHA DE AVALIAÇÃO**

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_  
 Idade: \_\_\_\_\_ Nasc. \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_ Contato: \_\_\_\_\_

Quais locais do corpo você sente dor?

- ( ) Cabeça                      ( ) Superior esquerda                      ( ) Superior direita  
 ( ) Inferior esquerda                      ( ) Inferior direita

Há quanto tempo sente essas dores?

\_\_\_\_\_ ( ) Semanas    ( ) Meses    ( ) Anos

Uso de medicação ( ) analgésico    ( ) antidepressivo    ( ) anticonvulsivo

Qual a nota da sua dor nesse momento? Onde 0 (zero) é absolutamente sem dor e 10 (dez) a pior dor imaginável. \_\_\_\_\_

Possui alguma doença prévia?    ( ) Sim    ( ) Não                      Qual(is)?

\_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

Possui alguma das condições abaixo?

( ) Gravidez    ( ) Câncer    ( ) Cardiopatia instável    ( ) Lesões auriculares

Já fez acupuntura? ( ) Não    ( ) Sim

( ) no corpo    ( ) na orelha    ( ) ambos

Escore na EIS \_\_\_\_\_ e no IDG \_\_\_\_\_.

Inclusão ( ) Sim    ( ) Não    Motivo: \_\_\_\_\_

## ÍNDICE DE DOR GENERALIZADA

Nome: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_ Avaliação: [ ] Basal [ ] Final [ ] Follow up

Avaiador: \_\_\_\_\_

Cervical	
Tórax	
Abdome	
Dorso	
Lombar	
Mandíbula D	Mandíbula E
Ombro D	Ombro E
Braço D	Braço E
Antebraço D	Antebraço E
Quadril D	Quadril E
Coxa D	Coxa E
Perna D	Perna E

O Índice de Dor Generalizada (0 a 19) com ponto de corte > 8 permite o diagnóstico de FM com sensibilidade, especificidade e acurácia de 83,2%, 87,6% e 85,4%, respectivamente. Partindo de prevalência (probabilidade pré-teste) de FM de 49%, a presença do Índice de Dor Generalizada > 8 eleva a probabilidade diagnóstica para 86%<sup>21</sup>.

## ESCALA DE GRAVIDADE DOS SINTOMAS

Nome: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_ Avaliação: [ ] Basal [ ] Final [ ] Follow up

Avaliador: \_\_\_\_\_

Intensidade dos sintomas apresentados, nos últimos sete dias.	0	1	2	3
Fadiga (Cansaço ao realizar atividades)				
Sono não reparador (Acorda cansado)				
Sintomas cognitivos (Dificuldade de memória, concentração, etc.)				
Sintomas somáticos (Dores: abdominal, de cabeça, muscular, nas articulações, etc.)				

0 = nenhum problema

1 = problema ligeiro, geralmente leve ou intermitente

2 = problema moderado, considerável, muitas vezes presente e / ou em um nível moderado

3 = problema grave: problemas difusos, contínuos e inquietantes e que perturbam a vida.

Diagnosticadas de fibromialgia conforme os critérios do American College of Rheumatology (ACR): (1) dor generalizada, definida com presente em pelo menos 4 de 5 regiões (superior esquerda, superior direita, inferior esquerda, inferior direita e cabeça); (2) os sintomas estarem presentes em um nível semelhante por pelo menos três meses; (3) Índice de Dor Generalizada (IDG) > 7 e Escala de Intensidade dos Sintomas (EIS) > 5 ou IDG 4-6 com escore da EIS > 9; (4) diagnóstico de fibromialgia não necessitando excluir a presença de outras doenças clinicamente importantes (WOLFE et al., 2016).

**ESCALA NUMÉRICA DE DOR**  
**(END)**

Nome: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_ Avaliação: [ ] Basal [ ] Final [ ] Follow up

Avaliador: \_\_\_\_\_

Eu gostaria que você desse uma nota para sua dor numa escala de 0 a 10, onde 0 seria nenhuma dor e 10 seria a pior dor possível. Por favor, dê um número para descrever sua média de dor nesse momento.

0      1      2      3      4      5      6      7      8      9      10

Nenhuma dor

Pior dor  
possível

## QUESTIONÁRIO SOBRE O IMPACTO DA FIBROMIALGIA (QIF)

Nome: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_ Avaliação: [ ] Basal [ ] Final [ ] Follow up

Avaliador: \_\_\_\_\_ Escore: \_\_\_\_\_

1- Com que freqüência você consegue: 0- Sempre 1- Quase sempre 2- De vez em quando 3- Nunca

2-

- |   |         |
|---|---------|
| a) Fazer compras .....                            | 0 1 2 3 |
| b) Lavar roupa .....                              | 0 1 2 3 |
| c) Cozinhar .....                                 | 0 1 2 3 |
| d) Lavar louça .....                              | 0 1 2 3 |
| e) Limpar a casa (varrer, passar pano etc.) ..... | 0 1 2 3 |
| f) Arrumar a cama .....                           | 0 1 2 3 |
| g) Andar vários quarteirões .....                 | 0 1 2 3 |
| h) Visitar parentes ou amigos .....               | 0 1 2 3 |
| i) Cuidar do quintal ou jardim .....              | 0 1 2 3 |
| j) Dirigir carro ou andar de ônibus .....         | 0 1 2 3 |

Nos últimos sete dias:

2- Nos últimos sete dias, em quantos dias você se sentiu bem?

0 1 2 3 4 5 6 7

3- Por causa da fibromialgia, quantos dias você faltou ao trabalho (ou deixou de trabalhar, se você trabalha em casa)?

0 1 2 3 4 5 6 7

4- Quanto a fibromialgia interferiu na capacidade de fazer seu serviço:

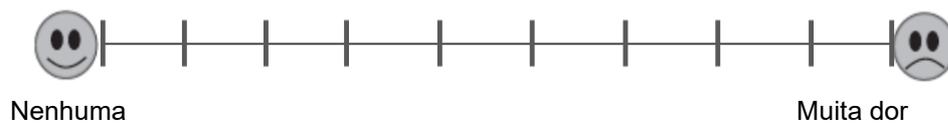


Não interferiu

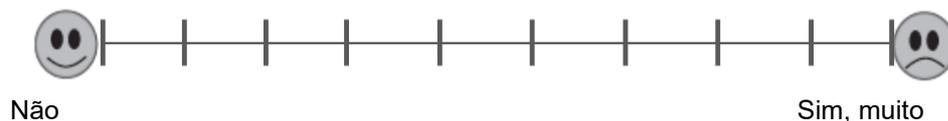


Atrapalhou muito

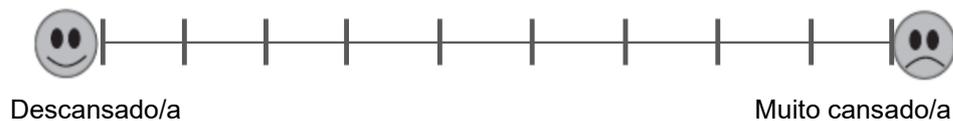
5- Quanta dor você sentiu?



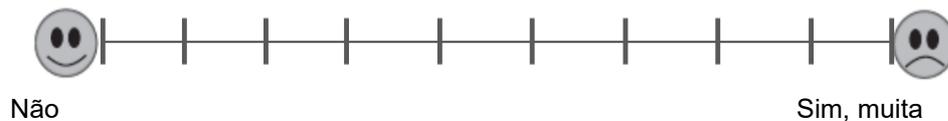
6- Você sentiu cansaço?



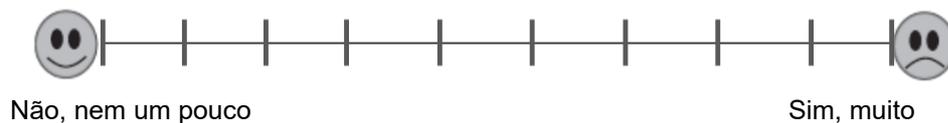
7- Como você se sentiu ao se levantar de manhã?



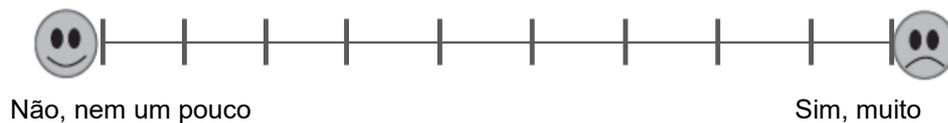
8- Você sentiu rigidez (ou o corpo travado)?



9- Você se sentiu nervoso/a ou ansioso/a?



10- Você se sentiu deprimido/a ou desanimado/a?



O instrumento avalia a qualidade de vida especificamente em pacientes com FM, envolvendo questões relacionadas à capacidade funcional, situação profissional, distúrbios psicológicos e sintomas físicos. É composto por 19 questões, organizadas em 10 itens. Quanto maior o escore, maior é o impacto da fibromialgia na qualidade de vida, sendo que a pontuação máxima é 100.

## INVENTÁRIO DE DEPRESSÃO DE BECK (IDB)

Nome: \_\_\_\_\_ Avaliador: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ ( ) Basal ( ) Reavaliação ( ) Follow-up

Selecione a afirmativa que melhor descreve como você se sentiu na SEMANA QUE PASSOU, INCLUINDO O DIA DE HOJE.

Marque um X ao lado da afirmativa que você selecionou.

Certifique-se de ter lido todas as afirmativas antes de fazer sua escolha.

0 = não me sinto triste

1 = sinto-me triste

2 = sinto-me triste o tempo todo e não consigo sair disto

3 = estou tão triste e infeliz que não posso aguentar

0 = não estou particularmente desencorajado(a) frente ao futuro

1 = sinto-me desencorajado(a) frente ao futuro

2 = sinto que não tenho nada por que esperar

3 = sinto que o futuro é sem esperança e que as coisas não vão melhorar

0 = não me sinto fracassado(a)

1 = sinto que falhei mais do que um indivíduo médio

2 = quando olho para trás em minha vida, só vejo uma porção de fracassos

3 = sinto que sou um fracasso completo como pessoa

0 = não obtenho tanta satisfação com as coisas como costumava fazer

1 = não gosto das coisas da maneira como costumava gostar

2 = não consigo mais sentir satisfação real com coisa alguma

3 = estou insatisfeito(a) ou entediado(a) com tudo

0 = não me sinto particularmente culpado(a)

1 = sinto-me culpado(a) boa parte do tempo

2 = sinto-me muito culpado(a) a maior parte do tempo

3 = sinto-me culpado(a) o tempo todo

0 = não sinto que esteja sendo punido(a)

1 = sinto que posso ser punido(a)

2 = espero ser punido(a)

3 = sinto que estou sendo punido(a)

0 = não me sinto desapontado(a) comigo mesmo(a)

1 = sinto-me desapontado(a) comigo mesmo(a)

2 = sinto-me aborrecido(a) comigo mesmo(a)

3 = eu me odeio

0 = não sinto que seja pior que qualquer pessoa  
1 = critico minhas fraquezas ou erros  
2 = responsabilizo-me o tempo todo por minhas falhas  
3 = culpo-me por todas as coisas ruins que acontecem

0 = não tenho nenhum pensamento a respeito de me matar  
1 = tenho pensamentos a respeito de me matar mas não os levaria adiante  
2 = gostaria de me matar  
3 = eu me mataria se tivesse uma oportunidade

0 = não costumo chorar mais do que o habitual  
1 = choro mais agora do que costumava chorar antes  
2 = atualmente choro o tempo todo  
3 = eu costumava chorar, mas agora não consigo mesmo que queira

0 = não me irrita mais agora do que em qualquer outra época  
1 = fico molesto(a) ou irritado(a) mais facilmente do que costumava  
2 = atualmente sinto-me irritado(a) o tempo todo  
3 = absolutamente não me irrita com as coisas que costumam irritar-me

0 = não perdi o interesse nas outras pessoas  
1 = interesse-me menos do que costumava pelas outras pessoas  
2 = perdi a maior parte do meu interesse pelas outras pessoas  
3 = perdi todo o meu interesse nas outras pessoas

0 = tomo as decisões quase tão bem como em qualquer outra época  
1 = adio minhas decisões mais do que costumava  
2 = tenho maior dificuldade em tomar decisões do que antes  
3 = não consigo mais tomar decisões

0 = não sinto que minha aparência seja pior do que costumava ser  
1 = preocupo-me por estar parecendo velho(a) ou sem atrativos  
2 = sinto que há mudanças em minha aparência que me fazem parecer sem atrativos  
3 = considero-me feio(a)

0 = posso trabalhar mais ou menos tão bem quanto antes  
1 = preciso de um esforço extra para começar qualquer coisa  
2 = tenho que me esforçar muito até fazer qualquer coisa  
3 = não consigo fazer trabalho nenhum

0 = durmo tão bem quanto de hábito  
1 = não durmo tão bem quanto costumava  
2 = acordo 1 ou 2 horas mais cedo do que de hábito e tenho dificuldade de voltar a dormir  
3 = acordo várias horas mais cedo do que costumava e tenho dificuldade de voltar a dormir

0 = não fico mais cansado(a) do que de hábito  
1 = fico cansado(a) com mais facilidade do que costumava  
2 = sinto-me cansado(a) ao fazer qualquer coisa  
3 = estou cansado(a) demais para fazer qualquer coisa

- 0 = o meu apetite não está pior do que de hábito
- 1 = meu apetite não é tão bom como costumava ser
- 2 = meu apetite está muito pior agora
- 3 = não tenho mais nenhum apetite

- 0 = não perdi muito peso se é que perdi algum ultimamente
- 1 = perdi mais de 2,5 kg estou deliberadamente
- 2 = perdi mais de 5,0 kg tentando perder peso
- 3 = perdi mais de 7,0 kg comendo menos: ( ) sim ( ) não

- 0 = não me preocupo mais do que de hábito com minha saúde
- 1 = preocupo-me com problemas físicos como dores e aflições, ou perturbações no estômago, ou prisões de ventre
- 2 = estou preocupado(a) com problemas físicos e é difícil pensar em muito mais do que isso
- 3 = estou tão preocupado(a) em ter problemas físicos que não consigo pensar em outra coisa

- 0 = não tenho observado qualquer mudança recente em meu interesse sexual
- 1 = estou menos interessado(a) por sexo do que acostumava
- 2 = estou bem menos interessado(a) por sexo atualmente
- 3 = perdi completamente o interesse por sexo

A escala consiste de 21 itens, incluindo sintomas e atitudes, cuja intensidade varia de 0 a 3. Para amostras de pacientes não diagnosticados recomenda-se como ponto de corte escores acima de 15 para detectar disforia e o termo "depressão" deve ser apenas utilizado para os indivíduos com escores acima de 20, preferencialmente com diagnóstico clínico concomitante.

Escore: \_\_\_\_\_

## INVENTÁRIO DE ANSIEDADE DE BECK (IAB)

Nome: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

Avaliador: \_\_\_\_\_ ( ) Basal ( ) Reavaliação ( ) Follow-up

Abaixo está uma lista de sintomas comuns de ansiedade. Por favor, leia cuidadosamente cada item da lista. Identifique o quanto você tem sido incomodado por cada sintoma durante a última semana, incluindo hoje, colocando um "x" no espaço correspondente, na mesma linha de cada sintoma.

	Absolutamente não	Levemente (Não me incomodou muito)	Moderadamente (Foi muito desagradável mas pude suportar)	Gravemente (Difícilmente pude suportar)
1. Dormência ou formigamento				
2. Sensação de calor				
3. Tremores nas pernas				
4. Incapaz de relaxar				
5. Medo que aconteça o pior				
6. Atordoado ou tonto				
7. Palpitação ou aceleração do				
8. Sem equilíbrio				
9. Aterrorizado				
10. Nervoso				
11. Sensação de sufocação				
12. Tremores nas mãos				
13. Trêmulo				
14. Medo de perder o controle				
15. Dificuldade de respirar				
16. Medo de morrer				
17. Assustado				
18. Indigestão ou desconforto no				
19. Sensação de desmaio				
20. Rosto afogueado				
21. Suor (não devido ao calor)				

ESCALA DE PENSAMENTOS CATASTRÓFICOS SOBRE DOR (EPCD)

Nome: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_ Avaliação: [ ] Basal [ ] Final [ ] Follow-up

Avaliador: \_\_\_\_\_ Escore: \_\_\_\_\_

Quase Nunca

Quase sempre

1 2 3 4 5

- 1 – Não posso mais suportar a minha dor ..... 1 2 3 4 5
- 2 – Não importa o que fizer minhas dores não mudarão .....1 2 3 4 5
- 3 – Preciso tomar remédio para dor .....1 2 3 4 5
- 4 – Isso nunca vai acabar .....1 2 3 4 5
- 5 – Sou um caso sem esperança .....1 2 3 4 5
- 6 – Quando ficarei pior novamente .....1 2 3 4 5
- 7 – Essa dor está me matando .....1 2 3 4 5
- 8 – Eu não consigo mais continuar .....1 2 3 4 5
- 9 – Essa dor está me deixando maluca .....1 2 3 4 5

O escore total é a soma dos itens divididos pelo número de itens respondidos, sendo que o escore mínimo pode ser 0 e o máximo 5, não existindo pontos de corte. Sendo assim, escores mais elevados indicam maior presença de pensamentos catastróficos.

## ÍNDICE DA QUALIDADE DO SONO DE PITTSBURGH (IQSP)

Nome: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_ Avaliação: [ ] Basal [ ] Final [ ] Follow up

Avaliador: \_\_\_\_\_ Escore: \_\_\_\_\_

As seguintes perguntas são relativas aos seus hábitos de sono durante o último mês somente. Suas respostas devem indicar a lembrança mais exata da maioria dos dias e noites do último mês. Por favor, responda a todas as perguntas.

1. Durante o último mês, quando você geralmente foi para a cama a noite?

Hora usual de deitar:

2. Durante o último mês, quanto tempo (em minutos) você geralmente levou para dormir a noite?

Número de minutos:

3. Durante o último mês, quando você geralmente levantou de manhã?

Hora usual de levantar?

4. Durante o último mês, quantas horas de sono você teve por noite? (Esta pode ser diferente do número de horas que você ficou na cama)

Horas de sono por noite:

5. Durante o último mês, com que frequência você teve dificuldade para dormir porque você:

A) não conseguiu adormecer em até 30 minutos

1 = nenhuma no último mês  
semana3 = uma ou duas vezes por semana  
semana

2 = menos de uma vez por

4 = três ou mais vezes na

## B) acordou no meio da noite ou de manhã cedo

1 = nenhuma no último mês  
semana

3 = uma ou duas vezes por semana  
semana

2 = menos de uma vez por

4 = três ou mais vezes na

## C) precisou levantar para ir ao banheiro

1 = nenhuma no último mês  
semana

3 = uma ou duas vezes por semana  
semana

2 = menos de uma vez por

4 = três ou mais vezes na

## D) não conseguiu respirar confortavelmente

1 = nenhuma no último mês  
semana

3 = uma ou duas vezes por semana  
semana

2 = menos de uma vez por

4 = três ou mais vezes na

## E) tossiu ou roncou forte

1 = nenhuma no último mês  
semana

3 = uma ou duas vezes por semana  
semana

2 = menos de uma vez por

4 = três ou mais vezes na

## F) Sentiu muito frio

1 = nenhuma no último mês  
semana

3 = uma ou duas vezes por semana  
semana

2 = menos de uma vez por

4 = três ou mais vezes na

## G) sentiu muito calor

1 = nenhuma no último mês  
semana

3 = uma ou duas vezes por semana  
semana

2 = menos de uma vez por

4 = três ou mais vezes na

## H) teve sonhos ruins

1 = nenhuma no último mês  
semana

3 = uma ou duas vezes por semana  
semana

2 = menos de uma vez por

4 = três ou mais vezes na

I) teve dor

1 = nenhuma no último mês  
semana

3 = uma ou duas vezes por semana  
semana

2 = menos de uma vez por

4 = três ou mais vezes na

J) outras razões, por favor

descreva: \_\_\_\_\_

1 = nenhuma no último mês  
semana

3 = uma ou duas vezes por semana  
semana

2 = menos de uma vez por

4 = três ou mais vezes na

6. Durante o último mês como você classificaria a qualidade do seu sono de uma maneira geral:

Muito boa

Boa

Ruim

Muito ruim

7. Durante o último mês, com que frequência você tomou medicamento (prescrito ou por conta própria) para lhe ajudar.

1 = nenhuma no último mês  
por semana

3 = uma ou duas vezes por semana  
na semana

2 = menos de uma vez

4 = três ou mais vezes

8. No último mês, que frequência você teve dificuldade para ficar acordado enquanto dirigia, comia ou participava de uma atividade social (festa, reunião de amigos).

1 = nenhuma no último mês  
por semana

3 = uma ou duas vezes por semana  
na semana

2 = menos de uma vez

4 = três ou mais vezes

9. Durante o último mês, quão problemático foi pra você manter o entusiasmo (ânimo) para fazer as coisas (suas atividades habituais)?

Nenhuma dificuldade  
Um problema razoável

Um problema leve  
Um grande problema

10. Você tem um parceiro (a), esposo (a) ou colega de quarto?

- A) Não
- B) Parceiro ou colega, mas em outro quarto
- C) Parceiro no mesmo quarto, mas em outra cama
- D) Parceiro na mesma cama

Se você tem um parceiro ou colega de quarto pergunte a ele com que frequência, no último mês você apresentou:

A) Ronco forte

1 = nenhuma no último mês  
por semana

3 = uma ou duas vezes por semana  
na semana

2 = menos de uma vez

4 = três ou mais vezes

B) Longas paradas de respiração enquanto dormia

1 = nenhuma no último mês  
por semana

3 = uma ou duas vezes por semana  
na semana

2 = menos de uma vez

4 = três ou mais vezes

C) contrações ou puxões de pernas enquanto dormia

1 = nenhuma no último mês  
por semana

3 = uma ou duas vezes por semana  
na semana

2 = menos de uma vez

4 = três ou mais vezes

D) episódios de desorientação ou confusão durante o sono

1 = nenhuma no último mês  
por semana

3 = uma ou duas vezes por semana  
na semana

2 = menos de uma vez

4 = três ou mais vezes

E) Outras alterações (inquietações) enquanto você dorme, descreva: \_\_\_\_\_

1 = nenhuma no último mês  
por semana

3 = uma ou duas vezes por semana  
na semana

2 = menos de uma vez

4 = três ou mais vezes

## DINAMOMETRIA (força)

Nome: \_\_\_\_\_

Avaliador: \_\_\_\_\_ ( ) Destro ( ) Canhoto

Basal \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

	REP.1	REP.2	REP.3
DIREITO			
ESQUERDO			

Reavaliação \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

	REP.1	REP.2	REP.3
DIREITO			
ESQUERDO			

Follow-up \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

	REP.1	REP.2	REP.3
DIREITO			
ESQUERDO			

## ALGOMETRIA (limiar de dor a pressão)

Nome: \_\_\_\_\_ Avaliador: \_\_\_\_\_

## LADO DIREITO

Basal \_\_/\_\_/

	REP.1	REP.2	REP.3	AVG	%CV	TIME	PL
TRAPÉZIO							
TIBIAL A							

## LADO ESQUERDO

	REP.1	REP.2	REP.3	AVG	%CV	TIME	PL
TRAPÉZIO							
TIBIAL A							

## LADO DIREITO

Reav. \_\_/\_\_/

	REP.1	REP.2	REP.3	AVG	%CV	TIME	PL
TRAPÉZIO							
TIBIAL A							

## LADO ESQUERDO

	REP.1	REP.2	REP.3	AVG	%CV	TIME	PL
TRAPÉZIO							
TIBIAL A							

## LADO DIREITO

FW \_\_/\_\_/

	REP.1	REP.2	REP.3	AVG	%CV	TIME	PL
TRAPÉZIO							
TIBIAL A							

## LADO ESQUERDO

	REP.1	REP.2	REP.3	AVG	%CV	TIME	PL
TRAPÉZIO							
TIBIAL A							